



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y
QUIMIOLUMINISCENCIA PARA ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE
DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el título de Especialista en Hemoterapia y Banco de Sangre

Autora:

Salirrosas Rodríguez, María Isabel

Asesor:

Suárez Obregón, Evert Segundo
(ORCID: 0000-0002-0179-2463)

Jurado:

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

Lagos Castillo, Moraima Angelica

Lazon Mansilla, David Felix

Lima - Perú

2023



Reporte de Análisis de Similitud

Archivo:	1A_SALIRROSAS_RODRIGUEZ_MARIA_ISABEL_TITULO_ESPECIALISTA_2022
Fecha del Análisis:	22/11/2022
Operador del Programa Informático:	MEDINA VILCHEZ MIRTHA VANESSA
Correo del Operador del Programa Informático:	mmedina@unfv.edu.pe
Porcentaje:	10%
Asesor:	Mg. EVERT SEGUNDO SUAREZ OBREGON
Título:	"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN – TRUJILLO, 2019"
Enlace:	https://cutt.ly/K1QXiQN



Mg. Zoila Santos Chero Pisfil
Jefa (e)
Oficina de Grados y Gestión del Egresado



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y
QUIMIOLUMINISCENCIA PARA ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL
HOSPITAL BELÉN – TRUJILLO, 2019**

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN HEMOTERAPIA Y

BANCO DE SANGRE

AUTOR:

Salirrosas Rodríguez, María Isabel

ASESOR

Suárez Obregón, Evert Segundo

(ORCID: 0000-0002-0179-2463)

JURADO

Cesar Enrique Guerrero Barrantes

Moraima Angelica Lagos Castillo

David Felix Lazon Mansilla

Lima – Perú

2023

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios todopoderoso con respeto y humildad, por permitirme desarrollar mis metas dándome salud, su infinita bondad y amor, guiándome por el buen camino, dándome fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los momentos difíciles que se presentan, enseñándome a desafiar las adversidades sin perder nunca la nobleza ni flaquear en el intento.

A mi familia, por su apoyo incondicional y aliento constante para lograr mis objetivos, de manera especial a mi esposo Homero y a mi hijo Anghelo, por ser mi motor y fuerza para seguir adelante en el camino a conseguir mis metas y sueños, siendo mi inspiración para seguir superándome.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor de tesis, Mg. Evert Segundo Suárez Obregón por la dedicación, tiempo y paciencia de manera incondicional en el asesoramiento para la elaboración de la presente tesis.

Al jefe del Banco de Sangre tipo II del Hospital Belén de Trujillo Dr. Keene Araujo Paredes, por permitir hacer uso de los registros del servicio.

ÍNDICE

Carátula

Título

Autor

Asesor

Índice

Resumen (palabras clave)

Abstract (keywords)

I.	Introducción	07
	1.1 Descripción y formulación del problema	08
	1.2 Antecedentes	09
	1.3 Objetivos	12
	1.4 Justificación	13
II.	Marco Teórico	14
	2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	14
III.	Método	41
	3.1 Tipo de investigación	41
	3.2 Ámbito temporal y espacial	41
	3.3 Variables	41
	3.4 Población y muestra	42
	3.5 Instrumentos	42
	3.6 Procedimientos	42
	3.7 Análisis de datos	43
	3.8 Consideraciones éticas	43
IV.	Resultados	44
V.	Discusión de resultados	56
VI.	Conclusiones	57
VII.	Recomendaciones	58
VIII.	Referencias	59
IX.	Anexos	

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo comparar los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia para la detección de anticore en predonantes de sangre del Hospital Belén – Trujillo en el año 2019, con el fin de determinar cuál es el más confiable por sensibilidad y especificidad; el estudio de esta investigación fue de enfoque cuantitativo, de diseño no experimental, retrospectivo, de corte transversal – descriptivo en 5985 predonantes de sangre del Hospital Belén de Trujillo durante el periodo enero – diciembre del 2019; para lo cual se realizó el test de anticore total mediante los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia; realizándose el análisis para determinar el método con mayor sensibilidad y especificidad para la detección de anticore; se pudo identificar que los dos métodos para la determinación de anticore total son estadísticamente significativos permitiendo determinar que el método de quimioluminiscencia presenta mayor sensibilidad con un 100% frente al de 89.6% para enzima inmunoensayo y con la misma especificidad del 100% al determinar anticore total en predonantes de sangre; de lo cual se demuestra que el método de quimioluminiscencia presenta mayor sensibilidad frente al método de enzima inmunoensayo, corroborando los conocimientos actuales sobre esta metodología que sugieren que esta técnica, es mejor frente al método de enzima inmunoensayo y por lo tanto más adecuada para el tamizaje de muestras de sangre de los predonantes en los bancos de sangre.

Palabras Clave: confiable, sensibilidad, especificidad y tamizaje.

ABSTRACT

The objective of this study is to compare the enzyme-linked immunosorbent assay and chemiluminescence methods for the detection of anticore in blood pre-donors at Hospital Belén - Trujillo in 2019, in order to determine which is the most reliable for sensitivity and specificity; the study of this research had a quantitative approach, a non-experimental, retrospective, cross-sectional design - descriptive in 5985 blood pre-donors from the Hospital Belén of Trujillo during the period January - December 2019; for which the total anticore test was performed by enzyme-linked immunosorbent assay and chemiluminescence methods; performing the analysis to determine the method with the highest sensitivity and specificity for the detection of anticore; it was possible to identify that the two methods for the determination of total anticore are statistically significant, allowing to determine that the chemiluminescence method has greater sensitivity with 100% compared to 89.6% for enzyme-immunoassay and with the same specificity of 100% when determining total anticore in blood donors; from which it is proven that the chemiluminescence method has greater sensitivity compared to the enzyme-linked immunosorbent assay method, corroborating the current knowledge about this methodology that suggests that this technique is better compared to the enzyme-linked immunosorbent assay method and therefore more suitable for screening samples of blood from pre-donors in blood banks.

Keywords: reliable, sensitivity, specificity and screening.

I. INTRODUCCIÓN

La infección de la hepatitis B es una enfermedad hepática potencialmente mortal causada por el virus de la hepatitis B (VHB) de la familia Hepadnaviridae. Lo cual representa un problema de salud a nivel mundial, generando un alto riesgo de muerte por cirrosis y cáncer de hígado.

Esta enfermedad se presenta en diferentes etapas iniciando desde el momento del primer contacto con el virus donde se inicia la infección hasta el primer mes donde aparece el ácido desoxirribonucleico viral (HBV DNA), luego de esto aparece, el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y el antígeno e de envoltura de la hepatitis B (HBeAg). Pasado este periodo el organismo genera una respuesta inmune, siendo el marcador el anticuerpo contra la cápside del virus de la hepatitis B (Anti-HBc) o anticore; en etapa aguda el anticore IgM y en etapa crónica anticore IgG. Siendo una de las vías de transmisión de esta enfermedad las transfusiones sanguíneas, generando complicaciones importantes en la morbimortalidad en receptores de sangre, esto debido a que los donantes aparentemente sanos podrían tener infecciones virales siendo algunas de ellas totalmente asintomáticas o estando en periodos de ventana, es por esto que los bancos de sangre deben analizar las muestras de los predonantes para realizar confirmación diagnóstica por medio de una prueba de alta sensibilidad y especificidad, de esta manera prevenir la transmisión del virus de donantes a receptores de sangre.

En nuestra institución se realizan exámenes de tamizaje para anticore total (IgM e IgG), usando dos metodologías.

En la presente investigación se tiene como objetivo hacer la comparación de dos métodos inmunológicos (enzimainmunoensayo y quimioluminiscencia) para anticore (anti-HBc) en predonantes de sangre en el Banco de Sangre tipo II del Hospital Belén de Trujillo durante el año 2019, y definir cual tiene una mayor sensibilidad y especificidad, deseando implementar un solo

método de trabajo con el propósito de evitar transmisión de la enfermedad de donantes hacia receptores de sangre, es que se decide realizar el presente estudio.

1.1 Descripción y formulación del problema.

La confiabilidad de los resultados en un Banco de Sangre es de alta importancia para obtener un servicio de calidad y garantía. Ante la necesidad de brindar esta calidad de nuevas metodologías y equipos automatizados que van apareciendo en el mercado, los bancos de sangre deben tener en cuenta que antes de integrarse a un cambio, deberán lograr un alto grado de confiabilidad entre los métodos a emplear y determinar los más útiles para mejorar el desempeño analítico.

En el Banco de Sangre tipo II del Hospital Belén de Trujillo se realizan los exámenes de tamizaje de enfermedades infecciosas que puedan transmitirse por vía transfusional, con la finalidad de evitar riesgos de contagio a los receptores de sangre o hemocomponentes, usando dos metodologías (enzimainmunoensayo y quimioluminiscencia) lo cual demanda un mayor presupuesto económico para la institución así también una incertidumbre para el personal que ejecuta el análisis al obtener algunos resultados discordantes significativos entre ambos métodos, deseando implementar un solo método de trabajo que nos de mayor calidad en los resultados, se requiere evaluar la aplicabilidad de estos métodos, para hallar el mejor e implementarlo como único.

La mejor manera para evaluar la aplicabilidad de un método es realizar la comparación entre metodologías; esto consiste en analizar para una misma muestra de un mismo predonante con los diferentes métodos que se tengan a la mano; con los cuales podríamos determinar cuál de ellos tienen una mayor sensibilidad y especificidad determinando de esta manera cuál es el más confiable a utilizar.

1.1.1 Problema General:

¿Cuál es el más sensible y específico al comparar los métodos de enzaimunoensayo y quimioluminiscencia para anticore (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén – Trujillo, 2019?

1.1.2 Problema Específico:

- a) ¿Cuál es la sensibilidad de los métodos de enzaimunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019?
- b) ¿Cuál es la especificidad de los métodos de enzaimunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019?

1.2 Antecedentes.

1.2.1 Antecedentes internacionales.

Beltrán et al. (2019) presentaron un estudio denominado “Perfiles serológicos de hepatitis B en donantes de sangre con anti-HBc reactivos”. Con el objetivo de determinar los perfiles serológicos para el virus de hepatitis B, en donantes de sangre anti-HBc reactivo y antígeno de superficie no reactivo, provenientes de cuatro ciudades de Colombia, para ello realizaron un estudio prospectivo transversal, durante un período de 17 meses, aplicando el perfil serológico completo de la hepatitis B, en muestras de donantes con anti-HBc reactivo y antígeno de superficie de hepatitis B no reactivo. Los resultados fueron analizados utilizando Microsoft® Excel y Epiinfo V 3.5.1. Finalmente, se encontró que el 75 % de los donantes reactivos para anti-HBc en los bancos de sangre, presentaban algún marcador adicional de exposición para el VHB; el 1,3 % de los donantes presentaban marcadores serológicos de infección crónica por hepatitis B y un caso que

resultó reactivo solamente para antígeno de superficie de hepatitis B. Se halló perfil de vacunación en el 6,1 % de donantes, que fueron reactivos solamente para anticuerpo contra antígeno de superficie. En conclusión, se ratifica la importancia de la tamización de anti-HBc, a los donantes de sangre.

Espinosa et al. (2018) en su investigación “Comparación de dos métodos para la cuantificación en suero de subclases de inmunoglobulinas” busco, como objetivo de este estudio comparar los resultados obtenidos mediante dos analizadores diferentes para la concentración de IgG y de subclases de IgG, en el Hospital de Córdoba – España, para ello empleo un diseño experimental. Siendo la población el análisis de un total de 116 muestras de suero, independientemente del diagnóstico clínico de los pacientes a los que pertenecían dichas muestras. Usando como instrumento las plataformas BNII[®] System (Siemens Healthcare GmbH, Alemania) y Otilite. Se obtuvo que la correlación entre la concentración de IgG total (mg/dl) y la sumatoria de las concentraciones de subclases de IgG detectadas de manera individual fue mayor usando el analizador Otilite (0,976 vs. 0,866). Se concluyó al diferenciar ambos métodos que no podrían ser intercambiados. Si no al contrario cada laboratorio debe usar un solo analizador y tener un estándar de los valores de referencia de acuerdo a sus resultados.

Alvarado et al. (2017), realizaron un trabajo de investigación titulado “Comparación de métodos analíticos en el laboratorio clínico” con el objetivo de comparar métodos; para realizar un análisis más preciso y determinar la confiabilidad de un método con respecto a otro, realizado en la Clínica Hospital ISSSTE Guanajuato - México, mediante la utilización de un análisis estadístico. La población estuvo compuesta por todos los pacientes atendidos de forma ambulatoria en el laboratorio de análisis clínico siendo la muestra definitiva 99 pacientes. Finalmente, Se obtiene como resultado valores del coeficiente de variación menores a 1 por lo que

la variabilidad es mínima y confiable, el análisis estadístico mediante la prueba TStudent; con confianza del 95%, encontró diferencias en el proceso de colesterol HDL dando un valor de $p < 0.0001$; debido al proceso pre analítico del analizador VITROS 4600. Concluyendo que no se detectaron diferencias significativas en los resultados de los análisis de colesterol y triglicéridos al usar métodos automatizado y semiautomatizado.

Ortiz y Herrera (2017) en su investigación “Comparación de dos métodos de control de calidad de leucorreducción en hemocomponentes del banco de sangre del hospital general de accidentes “ceibal” del instituto guatemalteco de seguridad social durante el año 2016” buscaron aplicar el estudio por comparación de métodos para control de calidad de Leucorreducción en hemocomponentes Sanguíneos en el Hospital General de Accidentes – Guatemala. Realizando un estudio observacional descriptivo. Para ello tomo como población los hemocomponentes del Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes, siendo su muestra 115 concentrados eritrocitarios seleccionados aleatoriamente dentro de 24 horas post donación, a los cuales se le aplico como instrumento el análisis estadístico. Al concluir el estudio se determinó que el recuento de glóbulos blancos por el método estándar de Cámara de Nageotte donde se obtuvo una media de 4.56×10^6 leucocitos residuales mientras tanto en el recuento automatizado con el equipo Cell Dyn Ruby se obtuvo una media de 2.98×10^6 . Por lo tanto, se demostró un alto grado de concordancia entre ambos métodos, dando validez al recuento manual y no siendo necesaria la automatización.

1.2.2 Antecedentes nacionales.

Jaimes Huamán (2017), presentó el trabajo “Estudio comparativo de tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes del servicio de banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati” con el objetivo de comparar tres ensayos inmunoserológicos para determinación de anti-*Trypanosoma cruzi*, en el Hospital

Edgardo Rebagliati Lima, Perú. Empleando un método descriptivo retrospectivo transversal. La población estuvo compuesta por donantes del Hospital Rebagliati, usando como muestra 63 muestras reactivas, analizados por quimioluminiscencia, western blot e inmunofluorescencia. Usando como instrumento un análisis descriptivo a través del análisis estadístico. Obteniendo como resultados que la concordancia entre quimioluminiscencia e inmunofluorescencia fue de 0.78, Wester blot e inmunofluorescencia fue de 0.88, quimioluminiscencia y Wester blot de 0.88. La prueba de quimioluminiscencia dio una sensibilidad de 80% y especificidad de 98% respectivamente, por otro lado, el Western blot tuvo una sensibilidad de 80% con especificidad de 100% de donde se concluye que la concordancia entre los métodos fue buena, con buena correlación entre ellas.

Pereira Alagón (2013), presentó su trabajo “Comparación de los métodos de ELISA e IFI para la detección de la enfermedad de chagas en muestras seropositivas del banco de sangre del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen en el 2010” el cual tuvo como objetivo comparar los métodos de ELISA e IFI, empleando un estudio descriptivo retrospectivo; La población estuvo compuesta por 22,589 donantes y una muestra de 183 resultados reactivos a Chagas del Banco de Sangre del Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, Lima – Perú, obteniendo como resultado que la tasa de concordancia entre el ELISA e IFI fue del 31.1% por lo que se concluye que la prueba de ELISA permite realizar un screening masivo con alta sensibilidad pero baja especificidad.

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo general:

Comparar los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia para la detección de anticore (HbC) en predonantes de sangre del Hospital Belén – Trujillo, 2019, con el fin de determinar cuál es el más confiable por sensibilidad y especificidad.

1.3.2 Objetivos específicos:

a) Determinar la sensibilidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019, estableciendo cual es el más confiable por sensibilidad.

b) Determinar la especificidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019, estableciendo cual es el más confiable por especificidad.

1.4 Justificación e importancia de la investigación.

Con la finalidad de atender a tiempo y tener un resultado confiable para evitar contagios a nivel de donaciones de sangre en nuestra institución “Hospital Belén de Trujillo” se realizó este estudio a fin de determinar cuál de los dos métodos usados para la detección de anticore (HBc) es el que presenta mayor sensibilidad y especificidad, por ser este marcador el que presenta mayor porcentaje de casos con resultados reactivos encontrados por tamizaje en los predonantes de sangre durante el periodo del año 2019.

Para este estudio se analizaron dos métodos (enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia) encontrando algunas discordancias de resultados como reactivos y no reactivos para una misma muestra, lo cual nos podría generar falsos positivos o falsos negativos al momento de validar los resultados en los predonantes.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas

2.1.1 Hepatitis B.

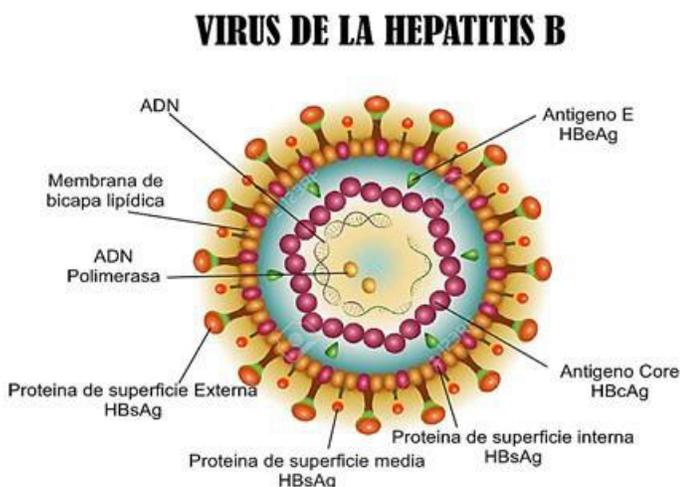
La hepatitis es una inflamación del hígado siendo la hepatitis B un tipo de hepatitis viral. Puede causar desde una infección aguda hasta una crónica (Medline Plus, 2021).

El virus se transmite a través del contacto con sangre, semen u otros fluidos corporales de una persona que tiene el virus por ello cualquier persona puede contraer hepatitis B, a menudo, las personas con hepatitis B no presentan sintomatología sin embargo algunas presentan síntomas de 2 a 5 meses después de la infección. Entre estos: Orina de color amarillo oscuro, diarrea, fatiga, fiebre, heces de color gris o arcilla, dolor en las articulaciones, pérdida del apetito, náuseas y vómitos, dolor abdominal, ojos y piel amarillentos, conocido como ictericia. (Medline Plus, 2021)

El espectro clínico de la infección por el virus de la hepatitis B (VHB) incluye hepatitis aguda (HBA), hepatitis crónica (HBC) e infección oculta. Así mismo, puede producir cirrosis, hepatocarcinoma y compromiso de órganos extrahepáticos (Medline Plus, 2021).

Figura 1:

Virus de la Hepatitis B.



En la figura se muestra las diferentes partes del virus de la hepatitis B, siendo un virus de la familia

Hepadnaviridae, cuyos miembros son virus de ácido desoxirribonucleico (ADN) pequeños (3200 pares de bases), hepatótrofos, con envoltura externa (shutterstock, s.f.).

2.1.2 Epidemiología de la infección por virus de la hepatitis B

La hepatitis B es una enfermedad infecciosa de origen viral cuyo responsable es el virus de la hepatitis B (VHB) de la familia de los hepadnavirus y pueden transmitir la enfermedad a lo largo de varios años.

Según los datos más recientes, cada año hay 10 000 nuevas infecciones por el virus de la hepatitis B, y 23 000 muertes; solo en 18% de las personas con hepatitis B la infección llega a diagnosticarse; de ellas, apenas 3% reciben tratamiento (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2021).

2.1.2.1 Prevalencia de la Hepatitis B.

En el mundo se distinguen tres zonas bien diferenciadas en lo que se refiere a prevalencia del virus de la hepatitis B (Balanzó, 2007).

Tabla 01

Prevalencia del virus de la hepatitis B según patrón geográfico y vía de transmisión.

HBV Endemicidad	Distribución geográfica	Edad de la infección	Trasmisión	Cronificación	Riesgo de carcinoma hepatocelular
Alta > 8%	SE Asia, China, islas Pacífico, África subsahariana, Alaska	Nacimiento e infancia	Perinatal Horizontal	Frecuente	Alto
Intermedia 2-7%	Europa del este, Cuenca mediterránea, Asia Central, Japón, América del Sur	Infancia	Percutánea y sexual	< Frecuente	Intermedio

Baja < 2%	América del Norte, Europa Occidental, Escandinavia, Australia	Adulta temprana	Percutánea y sexual	Rara	Bajo
-----------	---	-----------------	---------------------	------	------

Fuente: Libro de Avance de patología digestiva (Balanzó, 2007).

2.1.2.2 Mecanismos de transmisión de la Hepatitis B.

El reservorio natural del virus de la hepatitis B es el ser humano y se considera principalmente una enfermedad de transmisión sexual o se contagia entre pacientes usuarios de drogas, distinguiremos en esta oportunidad 4 vías principales.

A. Vía Parenteral: Normalmente sólo ocurre en personas que comparten jeringuillas o agujas, entre ellos se incluyen la acupuntura, los tatuajes o la colocación de *piercings* en condiciones higiénico-sanitarias deficientes (Moreno, 2004).

B. Vía Sexual: Ésta es la principal forma de transmisión en los países desarrollados. Calculándose que más del 50% de los casos de hepatitis aguda por VHB se contagian por vía sexual (Moreno, 2004).

C. Vía Perinatal o vertical: La tasa de infección en recién nacidos de madres HbeAg (+) alcanza el 90%. El contagio puede ocurrir intraútero, durante el parto o después del nacimiento. Sin embargo, la eficacia protectora de la vacunación neonatal es tan alta (95%) que obliga a pensar que el contagio ocurre, sobre todo, durante el parto o después del nacimiento (Moreno, 2004).

D. Vía Horizontal: El VHB es capaz de sobrevivir fuera del cuerpo humano durante períodos de tiempo prolongados. Como consecuencia, se puede transmitir a través de diversos artículos del hogar, como cepillos de dientes, cuchillas de afeitar o, incluso, juguetes. Por tanto, los niños pueden contagiarse por el VHB a través de pequeñas heridas en la piel o de las mucosas o por contacto corporal estrecho con otros niños. No puede descartarse que el VHB se transmita a

través de los fluidos corporales, ya que se ha detectado DNA del virus en diversas secreciones corporales de los pacientes infectados (Moreno, 2004).

2.1.3 Biología molecular del virus de la hepatitis B.

La hepatitis B es una enfermedad con una prevalencia elevada a nivel mundial, con un promedio de 2 billones de personas con evidencia de contagio. Por este motivo su adecuado diagnóstico y seguimiento han sido de continua importancia para el área de la salud. Para el año 1965 fueron descritos los primeros métodos serológicos para el diagnóstico y detección de este virus, manteniéndose hasta ahora como el estándar de oro. Sin embargo, ha surgido la necesidad de presentar nuevos métodos que no sólo sean capaces de diagnosticar variantes serológicamente negativas sino también más económicos, sensibles, específicos y reproducibles en zonas de escasos recursos y de difícil acceso (Restrepo, 2018).

Para esto la biología molecular ha tenido un papel vital, ha desarrollado y estudiado diversos métodos moleculares tales como la PCR, biosensores y pruebas rápidas, quedando como precedente que la biología molecular debe seguir generando y estudiando este tipo de pruebas, para que en un futuro sean evitables las complicaciones crónicas de esta enfermedad gracias a un diagnóstico precoz, sensible y sobre todo con una cobertura significativa (Restrepo, 2018).

Según la Taxonomía del virus es un virus hepatótrofo, perteneciente a la familia Hepadnaviridae, género Orthohepadnavirus cuyo material genómico es ADN circular de doble cadena parcial, de aproximadamente 3,2 Kb, el cual se replica a través de la transcripción inversa de un ARN pregenómico. Este genoma cuenta con siete proteínas virales, las cuales provienen de cuatro marcos de lectura abierta (ORFs), estas son: la polimerasa (ORF P), la proteína core o HBcAg y el antígeno e o HBeAg (ORF C), la proteína HBx (ORF X) y el antígeno de superficie (HBsAg) en sus tres formas (ORF S) (Restrepo, 2018).

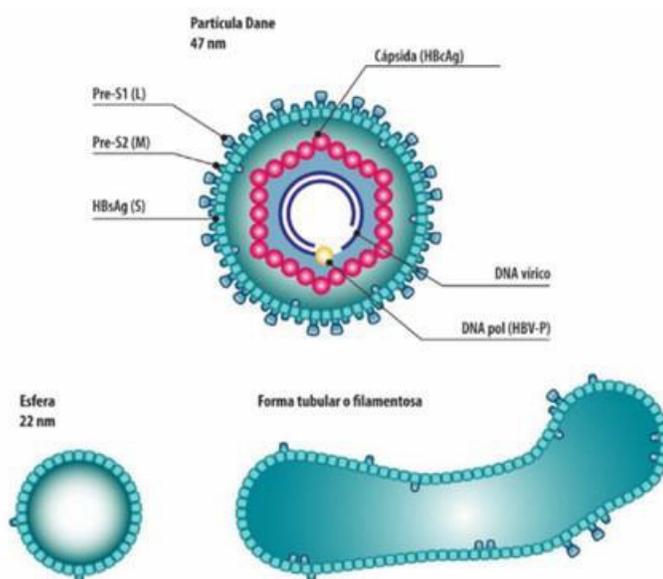
2.1.3.1. Estructura del Virión.

El virión completo, también llamado partícula de Dane, tiene un diámetro aproximado de 42 nm. Se compone de: una envoltura o cubierta formada por proteínas sintetizadas por el genoma viral (antígenos de superficie) y moléculas lipídicas derivadas del huésped, y una partícula central o core, compuesta por las proteínas de la nucleocápside, el genoma viral y un complejo polimerasa.

El VHB también genera partículas esféricas (20-22 nm) o filamentosas, que sólo contienen proteínas de la envoltura y que, por tanto, no son infecciosas al no contener genoma viral. Curiosamente, estas partículas son mucho más numerosas que los viriones, normalmente en una proporción que varía entre 1000/1 y 10.000/1 (Moreno, 2004).

Figura 2

Representación esquemática del virus.



Representación esquemática de la partícula de Dane y de las partículas subvirales no infecciosas, las formas esféricas y las formas tubulares o filamentosas (Balanzó, 2007).

2.1.3.2. Genoma del virus de la hepatitis B.

El genoma del VHB es una cadena circular incompleta de DNA de doble hélice, de

aproximadamente 3.200 pares de bases. Contiene 4 secuencias de lectura parcialmente solapadas que codifican las proteínas de la envoltura (región preS-S), del core (región precore-core; preC-C), de la polimerasa y de las proteínas X. La región preS-S codifica los tres antígenos de superficie (S, preS1, preS2) a través de tres codones de inicio diferentes. La proteína más abundante es la proteína S de 24 kD, conocida como HBsAg. La proteína pre-S1 ha sido implicada en la unión del virión al hepatocito y en su liberación de la célula infectada. La secuencia preC-C se traduce finalmente en dos proteínas, dependiendo del codón de inicio: el antígeno e (HBeAg), que se secreta a la sangre, y la proteína del core (HBcAg). Todavía no se sabe cuál es la función del HBeAg ya que no forma parte de la estructura del virión y no parece necesario para la replicación viral, tal y como se demuestra al cultivar con éxito en el laboratorio cepas mutantes que no producen HBeAg³. Además, la aparición de estas cepas mutantes, llamados *pre-core*, es frecuente en las personas con enfermedad por VHB. La proteína X es un potente activador transcripcional de muchos promotores, entre los que se incluyen diversos oncogenes de las células infectadas o del propio VHB. La proteína X es imprescindible para la replicación y diseminación in vivo del VHB, y ha sido implicada en la patogenia del hepatocarcinoma (Salazar, 2016).

2.1.4 Ciclo replicativo del virus de la hepatitis B.

El VHB infecta principalmente los hepatocitos, sin embargo, otras células no escapan de este ataque, como las epiteliales biliares, páncreas, riñón, piel, bazo y células mononucleares en sangre periférica. Todas éstas, constituyen un reservorio extrahepático para partículas HBV infecciosas. La partícula viral HBV se fusiona con la membrana del hepatocito, liberando su nucleocápside en el citoplasma. Las proteínas virales de envoltura son mudadas a otro sitio y la nucleocápside migra hacia el núcleo del hepatocito. El DNA viral penetra hacia el núcleo donde es transformado en una molécula proviral circular covalentemente cerrada (ccc DNA). El ccc DNA

sirve como template para la subsecuente replicación viral y traslación hacia la proteína viral vía pregenómica y RNA mensajero, para ser exportadas hacia el citoplasma donde el ensamblaje viral tiene lugar. El DNA viral se integra al cromosoma de la célula huésped, proceso que parece jugar un papel en la hepatocarcinogénesis. Este ciclo de vida viral es complejo y se realiza gracias a la función de transcriptasa reversa de su polimerasa (Romero, 2008).

En los últimos años se han efectuado dos importantes descubrimientos:

2.1.4.1 Entrada del virus de la hepatitis B.

La entrada del VHB al hepatocito se realiza por la unión de las proteínas de superficie con algún receptor de la célula aún desconocido.

2.1.4.2 Replicación y expresión génica del virus.

El estudio de los mecanismos mediante los cuales el virus infecta los hepatocitos ha sido difícil debido a que no se dispone de líneas celulares susceptibles a la infección por el virus de la hepatitis B. la infección comienza con el virus dirigiéndose a la superficie celular por un receptor que aún no ha sido plenamente identificado. La envoltura del virus se fusiona con la membrana celular, liberando el core al citoplasma de la célula. Posteriormente, las proteínas del core se separan de la cadena parcialmente doble de DNA y el genoma viral se desplaza hacia el interior del núcleo. Luego la enzima polimerasa viral completa los fragmentos que hacen falta, hasta generarse la cadena doble de DNA genómico viral y para los RNAm, que darán origen a las proteínas virales. Estos RNA salen del núcleo y son traducidos como proteínas virales estructurales y como una cadena RNA pregenómica, la cual es encapsidada por las proteínas core. Posteriormente, dentro del core, la cadena de RNA viral es transcrita a una cadena de DNA por la misma enzima polimerasa viral que completo la cadena doble de DNA inicialmente. Las proteínas que constituyen el HBsAg son sintetizadas en el retículo endoplasmático rugoso de donde saldrán

posteriormente las cápsides con ellas en su superficie, finalmente, el virus es secretado fuera de la célula (Toro, 2011).

2.1.5 Inmunopatogénesis de la infección por el virus de la hepatitis B.

La respuesta inmunológica celular es la principal defensa frente a una infección por virus y en el caso de la hepatitis B no es la excepción teniendo varias formas de respuesta inmunológica:

2.1.5.1 La respuesta innata, natural o respuesta inmune inespecífica.

Es el sistema de defensa con el que cada persona nace y que lo protege contra todos los antígenos, considerándolos la primera línea de defensa en la respuesta inmunitaria, la inmunidad, pueden ser células, químicos proteicos e interferones, entre estos:

- a) Células naturales killer (NK) y células NKT.
- b) Células del sistema mononuclear fagocítico (monocitos y macrófagos).
- c) Sistemas de los interferones (IFNs) y del complemento; los IFNs tipo I (α y β) inhiben la replicación del virus de hepatitis B.

2.1.5.2 La respuesta inmune adaptativa, adquirida o respuesta inmune específica.

Es la inmunidad que se desarrolla con la exposición a diversos antígenos. El sistema inmunitario de la persona construye una defensa contra ese antígeno específico. Existen dos tipos de respuesta inmune específica antiviral:

A. Respuesta Inmune humoral, mediada por linfocitos B: Los linfocitos B se convierten en células que producen anticuerpos. Los anticuerpos se adhieren a un antígeno específico y facilitan la destrucción del antígeno por parte de las células inmunitarias (Medline Plus, 2021).

B. Respuesta inmune celular, mediada por linfocitos T: Los linfocitos T atacan los antígenos directamente y ayudan a controlar la respuesta inmunitaria. También liberan químicos,

conocidos como citoquinas, los cuales controlan toda la respuesta inmunitaria (Medline Plus, 2021).

2.1.5.3 Antígenos diana de virus de la hepatitis B.

El virus de la hepatitis B tiene un genoma bicatenario de ADN organizado en cuatro unidades de transcripción que codifican los antígenos implicados en la respuesta inmune: cubierta (codifica los Ags pre-S y Ag-HBs), core (codifica HBcAg y HBeAg), polimerasa y proteína X (Ag HBx). El HBcAg expresado en la membrana de los hepatocitos infectados actúan como diana en el fenómeno de citotoxicidad específica mediada por las células T activadas (Balanzó, 2007).

2.1.6 Historia natural de la infección por el virus de la hepatitis B.

La probabilidad de desarrollar infección aguda con la sintomatología característica (ictericia, dolor abdominal, orina oscura, fiebre) y la eliminación posterior del VHB está relacionada con la edad; en niños menores de cuatro años se presenta en sólo 10% de los casos, aproximadamente, mientras que, en los adultos jóvenes, la proporción es mayor (aproximadamente, 90%). En cambio, la probabilidad de evolucionar a una hepatitis crónica por el VHB es elevada en los individuos infectados por vía perinatal (90%) o durante la infancia (20 a 30%), comparada con la que se adquiere cuando se infecta un adulto inmunocompetente (< 10%). Se han descrito tres fases de la hepatitis crónica según lo observado durante el seguimiento de los individuos infectados a edad temprana (Sánchez, 2016).

Estas fases son:

a) Inmunotolerancia, con biopsia hepática normal o con cambios mínimos de inflamación sin fibrosis.

b) Fase inmunoactiva, que se subdivide en HBeAg positivo y HBeAg negativo, con inflamación hepática con o sin presencia de fibrosis determinada mediante biopsia hepática.

c) Fase de hepatitis B inactiva, en la que la inflamación hepática con o sin fibrosis puede mejorar con el tiempo y, en algunas, ocasiones puede no detectarse el HBsAg (Sánchez, 2016).

2.1.6.1 Hepatitis aguda VHB.

La hepatitis vírica aguda aparece generalmente tras un período de incubación que oscila entre los 30 y 180 días. Esta variación es debida tanto a factores del huésped como a factores propios del virus, cantidad de inóculo y modo de transmisión, La forma aguda se resuelve generalmente de forma espontánea en 4-8 semanas. En muchos casos es silente, recuperándose la mayoría de los pacientes de forma completa sin secuelas y sin recidiva de la enfermedad. Los infantes rara vez presentan enfermedad aguda por VHB, siendo habitual en ellos el desarrollo de estado de portador crónico del virus (Moreno, 2004).

2.1.6.2 Hepatitis crónica VHB.

La hepatitis B crónica es la inflamación del hígado causada por el virus de la hepatitis B y que ha durado más de 6 meses.

La hepatitis B crónica tiende a empeorar, a veces rápidamente, pero en ocasiones a lo largo de décadas, dando lugar a una cirrosis. La hepatitis B crónica también aumenta el riesgo de cáncer de hígado. Alrededor del 20% de las personas con hepatitis B crónica desarrollan cirrosis o cáncer de hígado y pueden morir prematuramente.

Algunas personas con hepatitis B crónica también tienen hepatitis D crónica. Sin tratamiento, la combinación causa cirrosis en el 70% de las personas afectadas como máximo (Kumar, 2021).

En la práctica clínica, los pacientes con hepatitis B crónica se dividen en dos tipos:

A. Hepatitis crónica B HBeAg positivo.

La hepatitis crónica HBeAg positivo puede dividirse en cuatro fases secuenciales.

- 1) Fase de inmunotolerancia.
- 2) Fase de inmunoeeliminación o seroconversión.
- 3) Fase de baja replicación o portador inactivo.
- 4) Fase de eliminación o aparición del anti-HBs.

B. Hepatitis crónica B HBeAg negativo La hepatitis crónica HBeAg negativo actualmente, se reconoce no sólo su distribución mundial, sino también el aumento de su incidencia (Balanzó, 2007).

2.1.6.3 Cirrosis.

Cirrosis hepática se refiere a la cicatrización del hígado que da como resultado una función hepática anormal como consecuencia de una lesión hepática crónica (de largo plazo o crónico por hepatitis B), en cual las lesiones conllevan a una cicatrización del tejido, llegando a un proceso denominado fibrosis (American College of Gastroenterology [ACG], 2012).

2.1.6.4 Carcinoma hepatocelular.

El carcinoma hepatocelular es el tipo más común de cáncer del hígado. Es más frecuente en los hombres que en las mujeres. Se diagnostica más frecuentemente en personas mayores de 50 años.

En la mayoría de los casos, la causa del cáncer hepatocelular es el daño prolongado y la cicatrización del hígado más conocida como cirrosis (Medline Plus, 2021).

2.1.7 Diagnóstico serológico y molecular de la infección por el virus de la hepatitis B.

En los últimos años, se han desarrollado nuevas versiones, más sensibles y específicas, de los métodos serológicos. Se han mejorado y automatizado métodos moleculares.

2.1.7.1 Métodos de laboratorio

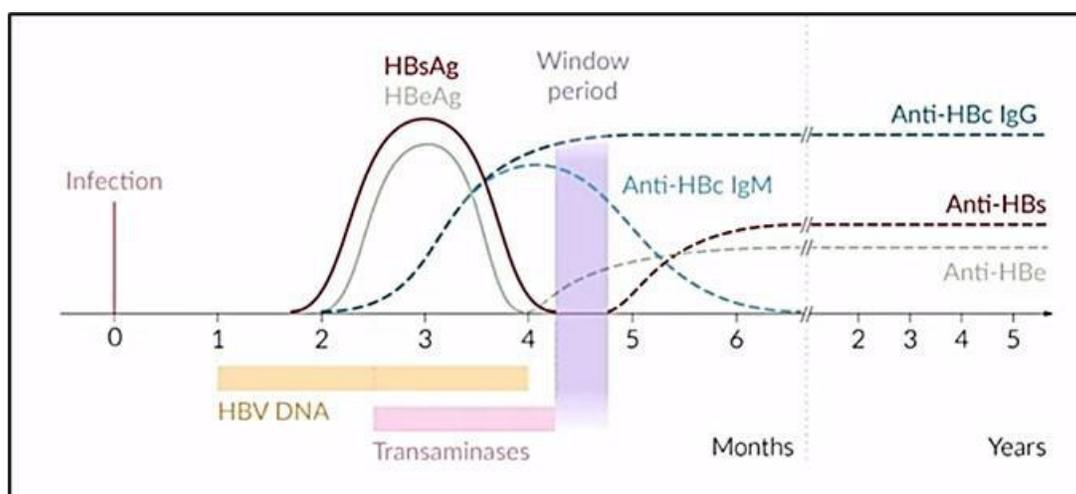
A. Pruebas serológicas.

Los marcadores séricos más importantes en la práctica clínica para el diagnóstico de la hepatitis B son: el antígeno de superficie (HBsAg), los anticuerpos frente a este antígeno (anti-HBs), el antígeno e (HBeAg), los anticuerpos frente a este antígeno (anti-HBe) y los anticuerpos frente a las proteínas del core (anti-HBc).

Los métodos que se emplean para determinar estos marcadores se basan en la tecnología del enzaimmunoensayo o quimioluminiscente (Asociación catalana de Pacientes Hepáticos, [asscat], 2019).

Figura 3

Proceso de infección por el virus de Hepatitis B y la aparición de los anticuerpos.



En la figura se muestra el proceso de infección desde el momento del primer contacto con el virus, seguido por la aparición de los antígenos de superficie (HBsAg) y antígeno e (HBeAg) al iniciar la replicación del virus, asimismo el proceso de generación de anticore (HBc), y antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y su permanencia en el tiempo (Serología de hepatitis B s.f.).

A.1 Antígeno de superficie del VHB (HBsAg).

El Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, es el marcador de tamizaje en la

infección aguda, debido a que aparece 1 a 3 meses después de la exposición, por tal razón es el estudio inicial en la detección del virus por medio de técnicas de inmunoensayos como ELISA o por pruebas rápidas basadas en ensayos de inmunoadherencia por inmunocromatografía, aunque su resultado resulta luego de pocos minutos y su especificidad es buena, la sensibilidad es baja respecto a los inmunoensayos enzimáticos, fluorescentes o quimioluminiscentes su persistencia durante más de seis meses indica infección crónica (Restrepo, 2018).

A.2 Anticuerpos frente al antígeno de superficie (anti-HBsAg).

Es el último marcador en aparecer, es un anticuerpo que confiere inmunidad frente al virus, es provocado por la aparición del HBsAg, donde estos actúan. La detección de este marcador podría tener distintas funciones, tales como: inmunidad de larga duración frente a la reinfección gracias a la infección previa. En los vacunados es el único marcador de VHB presente y se considera que un individuo está protegido si la concentración de este anticuerpo supera las 10 – 20 mUI/ml. y la monitorización del tratamiento, todo esto es logrado por las pruebas serológicas comerciales (Restrepo, 2018).

En todos los enfermos y personas vacunadas, el anticuerpo predominante es el anticuerpo dirigido frente al determinante común "a" del HBsAg (anti-HBs) en estos dos casos expuestos existe una diferencia en las personas vacunadas, la respuesta no es tan intensa como la que ocurre tras la infección y, los anticuerpos inducidos mediante la vacuna disminuyen a mayor velocidad hasta su posible total desaparición (Restrepo, 2018).

A.3 Antígeno de la cápside:

Antígeno de la cápside, antígeno del núcleo cápside o antígeno del "core". El "core" del VHB lo conforman: ácido nucleico, ADN polimerasa y una nucleoproteína antigénica. Se sintetiza en el núcleo de los hepatocitos infectados formando un núcleo cápside. Seguidamente se recubre

con el HBsAg en el citoplasma.

Este antígeno, es muy difícil de identificar, se halla en el suero del enfermo junto con la partícula de Dane. Las técnicas utilizadas requieren del tratamiento previo de la sangre para eliminar el HbsAg que lo oculta (Restrepo, 2018).

A.4 Anticuerpos frente al antígeno de la cápside (anti-HBc).

Existen dos tipos de anticuerpos dependientes de la respuesta de la inmunoglobulina, IgM o IgG. En general, son marcadores de infección aguda junto con el HBsAg; sin embargo, existen casos donde el anti-HBc es el único marcador visible.

Anti- HBcAg tipo IgM: Los anti-HBc producidos inicialmente son predominantemente de clase IgM y va declinando hasta desaparecer alrededor del sexto mes; es decir, al término del periodo de incubación del virus, por esto se puede concluir que el anti-HBc IgM es un marcador de actividad inflamatoria causado por la infección. Solo en el caso del establecimiento de la infección crónica o reactivación es posible nuevamente su detección de forma intermitente y en concentraciones más bajas (Restrepo, 2018).

Anti- HBcAg tipo IgG: El anti-HBc IgG es ya detectable con los síntomas iniciales de la infección y persiste en el suero durante toda la enfermedad y más allá de la curación clínica. Al contrario de lo que sucede con la IgM, la concentración de los anticuerpos de clase IgG continúa en ascenso hasta la recuperación y permanecen detectables de por vida presentando gran utilidad en estudios epidemiológicos sobre inmunidad adquirida. Su positividad indica contacto con el virus y aunque se encuentra a títulos muy elevados en las fases agudas y convalecientes, no es un anticuerpo protector (Restrepo, 2018).

A.5 Antígeno «e» (HBeAg).

Se detecta en la primera fase de la infección aguda y también de la infección crónica. Se

libera como una proteína soluble en la sangre de algunos pacientes, pero no forma parte del virión. Aparece habitualmente en el período de incubación, poco después del HBsAg, pero antes del anti-HBc. Su presencia indica siempre una infección activa y se asocia con una replicación e infectividad elevadas (Balanzó, 2007).

A.6 Anticuerpos frente al antígeno «e» (anti-HBe).

En la infección aguda, la seroconversión de HBeAg a anti-HBe indica resolución espontánea y es, por tanto, un signo de buen pronóstico. En la infección primaria autolimitada, los anticuerpos anti-HBe aparecen por lo general un poco antes de la desaparición del HBsAg y suelen persistir durante años (Balanzó, 2007).

Tabla 2

Interpretación de los resultados serológicos.

<i>HBsAg</i>	<i>Anti-HBs</i>	<i>Anti-HBc IgM</i>	<i>Anti-HBc total</i>	<i>Interpretación</i>
+	-	-	-	<i>Periodo de incubación</i>
+	-	+	+	<i>Hepatitis aguda</i>
-	-	+	+	<i>Hepatitis aguda en fase de resolución.</i>
-	+	+	+	<i>Periodo de ventana</i>
-	+	-	+	<i>Hepatitis aguda tardía</i>
-	+	-	+	<i>Fase de convalecencia</i>
-	+	-	+	<i>Infección pasada y resuelta</i>
-	+	-	+	<i>Inmunización</i>
+	-	-	+	<i>Infección crónica</i>

En la tabla se aprecia la interpretación de los perfiles serológicos de infección por virus de la hepatitis B (Balanzó, 2007).

B. Pruebas moleculares

B.1 ADN del virus de la hepatitis B (DNA-VHB).

Los ensayos moleculares que investigan ADN VHB circulante o la llamada carga viral, son

tecnologías que miden precisamente el nivel de genomas del VHB siendo este, el mismo material genético que codifica para las diferentes proteínas antigénicas de este virus. Actualmente, la recomendación es la medida cuantitativa de esta carga que se realiza mediante ensayos con diferentes rangos de detección y diferentes límites de sensibilidad. Por ejemplo, en nuestra experiencia hemos observado que, efectivamente, las cargas virales de los portadores activos con hepatitis crónica B antígeno e positivo son muy superiores a las de aquellos portadores activos con hepatitis crónica B antígeno e negativo (Machado, 2008).

En un estudio realizado por Kania et al. demostraron que al comparar dos técnicas de PCR en tiempo real (qPCR) con el método comercial COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®, que está basado en la amplificación de ácidos nucleicos, ambas dieron como resultado un rendimiento elevado para cuantificar el ADN del VHB en suero. Sin embargo, se encontraron resultados similares entre las dos pruebas para detectar niveles por encima de 10^7 Log₁₀ UI/ml de ADN. Los autores concluyeron que las dos qPCR presentadas son aptas para el manejo y detección rutinaria de ADN viral no solo por ser efectivo a partir de 2'000UI/ml sino también por su bajo costo y fácil reproducción; sin embargo, aclaran que podría resultar insuficiente ante la presencia de infección con VHB oculto (Restrepo, 2018).

Tabla 03

Grupos a los que es recomendable realizar screening de virus de la hepatitis B.

Personas a realizarse pruebas para hepatitis B

A todas las mujeres embarazadas en la primera visita prenatal, mediante la determinación de HBs Ag.

A todas las personas que necesiten recibir vacunación de la hepatitis B, excepto a los recién nacidos, Se realiza la determinación de HBsAg y anti HBs IgG en los 6 primeros previos a la primera dosis.

Las personas nacidas en áreas de elevada prevalencia.

Personas con promiscuidad sexual.

Personas adictas a drogas por vía parenteral.

Pacientes en tratamiento con hemodiálisis.

Pacientes con infección por VIH.

Miembros de la familia, cuidadores y parejas sexuales de personas infectadas por el virus de hepatitis B.

Postulantes a donación de sangre previos a donación.

B.2 Anti-HBc aislado (perfil serológico atípico).

El hallazgo de anticuerpos anticore (HBc), sin antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y sin anticuerpos anti antígeno de superficie (Anti-HBsAg), se denomina anticore aislado, el cual ocurre principalmente en grupos de riesgo: usuarios de drogas recreativas endovenosas, virus de la hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hemodiálisis, receptor de trasplante de órgano sólido y embarazadas. La prevalencia del anticore varía de 1 % - 32 % (Balanzó, 2007).

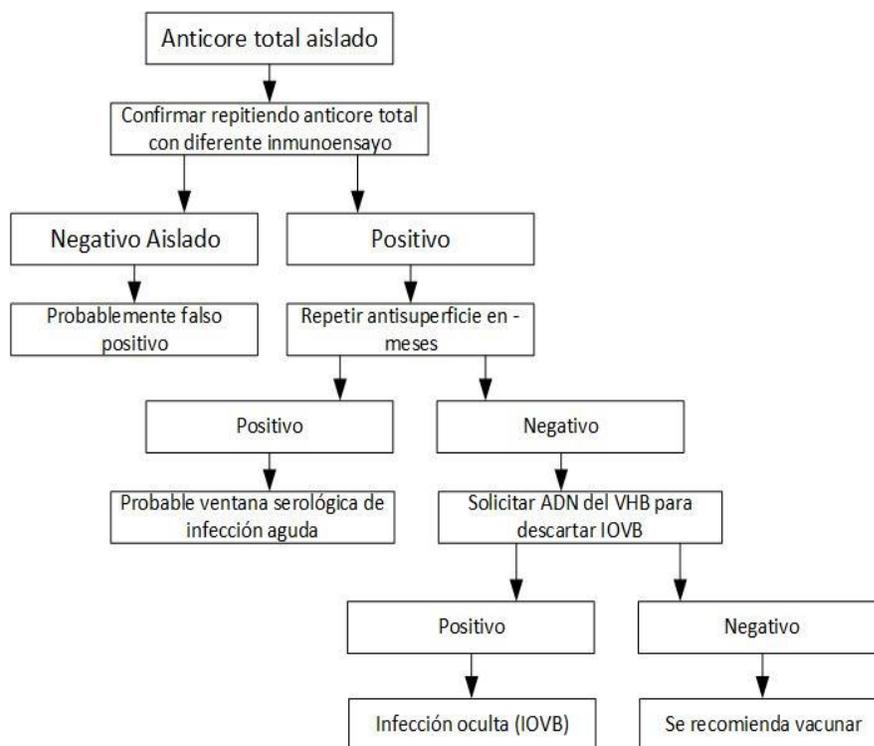
Tabla 4

Interpretación clínica de los marcadores en un anticore aislado.

Anticore aislado	
Infección aguda resuelta Clase IgG	El antígeno anti superficie puede ser positivo o negativo. En este último caso, los niveles del anti superficie ha disminuido a niveles indetectables.
Periodo de ventana inmunológica clase IgM	Ha ocurrido un aclaramiento muy rápido del HBsAg y aún no ha aparecido el anticuerpo anti superficie.
Infección crónica clase IgM	El HBsAg será positivo y el anti superficie negativo.
Coinfección con VHC o con VIH	El VHC inhibe la replicación del VHB y la producción del HBsAg. En la infección por VIH sucede algo similar.
Infección oculta	HBsAg negativo, ADN positivo, antisuperficie (+) o (-). Errores en la ejecución del inmunoensayo enzimático. El radio-inmunoensayo es más específico, pero no está disponible en los laboratorios
Falso positivo	

Figura 8

Síntesis del significado del anticore total aislado se muestra en la tabla adjunta (Modificado de: Pondé RA et al. Arch Virol. 2010;155(2):149-58.).



2.1.8 Métodos de detección de anticore total (HBe).

2.1.8.1 Método inmunoenzimático o Enzaimmunoensayo (ELISA).

Es una técnica de laboratorio para detectar anticuerpos en la sangre, usa anticuerpos ligados a enzimas a fin de detectar y medir la cantidad de una sustancia en una solución, como el suero o plasma. La prueba se realiza usando una superficie sólida a la que los anticuerpos y otras moléculas se adhieren. En la etapa final, se produce una reacción enzimática que causa un cambio de color que puede leerse mediante el uso de un equipo lector de microplacas.

a. Tipos de Enzaimmunoensayo (ELISA):

a.1 Directo.

El elisa directo es el ensayo más simple y rápido de todos, el antígeno se une al fondo del

pocillo de la microplaca, donde un anticuerpo primario marcado con una enzima se unirá directamente al antígeno permitiendo la detección y/o cuantificación del mismo (Abyntek, 2019).

a.2 Indirecto.

Es un ensayo parecido al elisa directo, pero en dos pasos, lo que permite amplificar la señal obtenida. En este caso se utilizan dos anticuerpos, uno primario y otro secundario, y es este último el que irá conjugado a una enzima (Abyntek, 2019).

a.3 Tipo sándwich.

El antígeno queda inmovilizado entre dos anticuerpos, uno de captura y otro de detección también conocidos como pares de anticuerpos, que se unirán a dos epítomos distintos de un mismo antígeno (Abyntek, 2019).

a.4 Competitivo.

Es una variante más compleja de la técnica elisa, también conocido como elisa de inhibición debido al uso de un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo primario, se utiliza generalmente para detectar y/o cuantificar antígenos presentes en muy bajas cantidades (Abyntek,2019).

2.1.8.2 Método de Quimioluminiscencia.

Es un inmunoensayo que se basa en la emisión de luz asociada con la energía.

La quimioluminiscencia es definida también como la emisión de fotones de luz asociada con la disipación de energía con una sustancia electrónicamente excitada esto se da a través de una reacción enzima sustrato.

a. Tipos de quimioluminiscencia:

a.1 Quimioluminiscencia directa: emplea como fase sólida, micropartículas recubiertas de anticuerpos específicos contra la sustancia a analizar y como marca el éster de acridina, además

el sustrato es oxidante utiliza catalizadores y es necesario la existencia de cofactores (López, 2022).

a.2 Quimioluminiscencia amplificada indirecta: reacciona con enzimas (fosfatasa alcalina) o iones utiliza también catalizadores y puede necesitar o no cofactores y el sustrato es el éster de fosfato (López, 2022).

a.3 Marcadores de reacción luminiscente: Ester de acridina, hidróxido de sodio, peróxido ácido, fosfatasa alcalina.

b. Ventajas de la quimioluminiscencia:

Alta sensibilidad (fentogramos 10^{15} g).No emplea radiactividad.

No genera riesgo contaminante ni ruido de fondo a la hora de efectuar el proceso del análisis de una muestra, control o calibrador. (López, 2022).

Los resultados son rápidos.

Autoanalizadores de fácil manejo.

Tabla 5

Interpretación de la serología de la hepatitis B en los predonantes de sangre.

Determinación	Resultado en Enzimainmunoensayo	Resultado en Quimioluminiscencia	Criterio para donación
Anticore Total (anti-HBc)	Negativo	Negativo	Apto
Anticore Total (anti-HBc)	Negativo	Positivo	No apto
Anticore Total (anti-HBc)	Positivo	Negativo	No apto
Anticore Total (anti-HBc)	Positivo	Positivo	No Apto

En la tabla se aprecian las diversas conjugaciones de resultados que se pueden obtener al realizar

el tamizaje de las muestras tanto por método de enzima inmunoensayo, así como en quimioluminiscencia, del mismo modo los criterios de donación por lo cual un predonante puede ser excluido o aceptado como donante.

Para el presente estudio se emplearon los resultados de los métodos de enzima inmunoensayo (Elisa) mediante proceso manual y quimioluminiscencia mediante autoanizador

2.1.9 Métodos de detección de anticore total (HBc) usados en Hospital Belén de Trujillo.

En el Hospital Belén de Trujillo contamos con un Banco de Sangre Tipo II encargado de realizar la identificación y entrevista del postulante; la selección, examen físico y la realización de las pruebas inmunohematológicas del donante; la extracción, fraccionamiento, tamizaje, control, conservación, transfusión y transferencia de unidades de sangre y hemocomponentes; atendiendo donantes voluntarios y de reposición, a los cuales se les realiza las pruebas de tamizaje para Sífilis, hepatitis C, HIV 1 - 2, HTLV I - II, chagas, hepatitis B, anticore total (IgM e IgG). Siendo precisamente esta última prueba el tema de investigación del presente estudio, en el cual se analizó la comparación entre dos métodos de detección de anticore total (HBc) que son los siguientes:

2.1.9.1 Método de enzima inmunoensayo “Equipo infinite F50 tecan” / reactivo: dia. Pro diagnostic bioprobes 3ra generación para Elisa para uso diagnóstico in vitro.

El ensayo es de tipo competitivo, donde los anticuerpos de la muestra compiten con un anticuerpo monoclonal por el antígeno de la fase sólida.

Los pocillos de la placa están recubiertos con antígeno core del virus de la hepatitis B, obtenido por vía recombinante y purificado. El suero o plasma de los predonantes de sangre se añade a los pocillos junto a una solución capaz de bloquear interferencias que puedan deberse a la naturaleza de la muestra (Instructivo de Reactivo, 2019).

A continuación, previo lavado que elimina los componentes no fijados de la muestra, se adiciona un anticuerpo monoclonal anti-HBcAg conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRP), el cual se une a cualquier traza de antígeno remanente en la placa.

Después de una segunda incubación, los pocillos son lavados para eliminar el conjugado en exceso, luego se agrega el cromógeno/substrato, que en presencia de la enzima peroxidasa, es hidrolizado a un producto final con color (Instructivo de Reactivo, 2019).

La interpretación de los resultados lo realiza el lector automático con una densidad óptica (DO) 450 nm.

La intensidad del color es inversamente proporcional a la presencia de anticuerpos al HBcAg presentes en la muestra (Instructivo de Reactivo, 2019).

2.1.9.2 Método de Quimioluminiscencia “Equipo VITROS ECI” 3ra Generación para Quimioluminiscencia

La prueba VITROS Anti-HBc se realiza utilizando el VITROS Anti-HBc Reagent Pack y VITROS Immunodiagnostic Products Anti-HBc Calibrator en VITROS ECI/ECiQ Immunodiagnostic Systems y VITROS Immunodiagnostic System.

Es una técnica de inmunoensayo competitivo. Esto implica la reacción del anticore total (HBc) en la muestra con pocillos recubiertos de antígeno core de hepatitis B (HBcAg). La muestra no unida se elimina mediante lavado. El conjugado de anticuerpo marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (anti core de hepatitis B (anti-HBc) monoclonal de ratón) reaccione con el antígeno core de la hepatitis B (HBcAg) presente en la superficie del pocillo. El conjugado no unido se elimina mediante lavado (Instructivo de Reactivo, 2019).

El conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRP) unido se mide mediante una reacción luminiscente. Se añade a los pocillos un reactivo que contiene sustratos luminogénicos (un

derivado de luminol y una sal de perácido) y un agente de transferencia de electrones. La peroxidasa de rábano picante (HRP) en el conjugado unido cataliza la oxidación del derivado de luminol, produciendo luz. El agente de transferencia de electrones (una acetanilida sustituida) aumenta el nivel de luz producido y prolonga su emisión. Las señales luminosas son leídas por el sistema. La cantidad de conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRP) unido es indicativa de la concentración de anticore total (HBc) presente en la muestra (Instructivo de Reactivo, 2019).

2.1.10 Indicadores estadísticos básicos para evaluar el desempeño de un procedimiento diagnóstico.

La evaluación del desempeño de una prueba diagnóstica comienza por la estimación de la magnitud de los errores o aciertos que se cometen al intentar dar un diagnóstico a partir de los resultados que brinde dicho procedimiento (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad y la especificidad son las medidas tradicionales y básicas del valor diagnóstico de una prueba. Miden la discriminación diagnóstica de una prueba en relación a un criterio de referencia, que se considera la verdad.

Estos indicadores en principio permiten comparar directamente la eficacia de una prueba con el de otras y esperar resultados similares cuando son aplicadas en diferentes países, regiones o ámbitos (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

2.1.10.1. La sensibilidad (S) indica la capacidad de la prueba para detectar a un sujeto enfermo, es decir, expresa cuan "sensible" es la prueba a la presencia de la enfermedad. Para cuantificar su expresión se utilizan términos probabilísticos: si la enfermedad está presente, ¿cuál es la probabilidad de que el resultado sea positivo?

La respuesta es una expresión en términos de probabilidad condicional:

$$S = P (T+/Enf.)$$

O sea, la sensibilidad es la probabilidad de que la prueba identifique como enfermo a aquél que efectivamente lo está (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

2.1.10.2. La especificidad (E) indica la capacidad que tiene la prueba de identificar como sanos (no enfermos) a los que efectivamente no lo son. Se define entonces también como la probabilidad condicional:

$$E = P (T-/no Enf)$$

Es decir, la especificidad es la probabilidad de que la prueba identifique como no enfermo a aquél que efectivamente no lo está (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

T+ y T- indican, un resultado reactivo o no reactivo de la prueba o test diagnóstico.

2.1.10.3. Estimación de Sensibilidad (S) y Especificidad (E).

Para ilustrar el significado de estos conceptos a través de sus estimaciones, supóngase que se tienen N sujetos de los que se conoce su estatus verdadero (enfermo o no) y se les ha practicado el test o prueba que se está evaluando y cuyo resultado puede ser inequívocamente positivo o negativo (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

Estas características pueden entonces estimarse fácilmente a partir de una tabla de 2x2 como se muestra a continuación:

		Criterios de verdad		
		Enfermos	No enfermos	Total
Prueba diagnóstica	Positivos	a	b	a + b
	Negativos	c	d	c + d
	Total	a + c	b + d	N

Donde:

$$VP (+) = P (\text{Enf}/T+)$$

2.1.11.2. El valor predictivo de una prueba negativa

Es la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba negativa no tengan realmente la enfermedad.

$$VP (-) = P (\text{No Enf}/T-)$$

Mediante la tabla de 2x2 que se introdujo antes se puede ilustrar también cómo se estiman los valores predictivos, suponiendo que esta tabla se conforme seleccionando una muestra al azar de tamaño N de la población, y luego se clasifiquen los sujetos de la muestra en los cuatro grupos posibles según la prueba diagnóstica y el criterio de verdad (Servizo Galego de Saúde [sergasa], 2022).

$$\text{Valor predictivo positivo} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total de positivos}} = \frac{VP}{VP + FP} = \frac{a}{a + b}$$

$$\text{Valor predictivo negativo} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total de negativos}} = \frac{VN}{VN + FN} = \frac{d}{c + d}$$

2.1.12 Reproducibilidad y repetibilidad de un ensayo clínico.

Reproducibilidad y repetibilidad son principios básicos del método científico; por medio de ambas es posible confirmar experimentos, así como establecer estándares internacionales y nacionales de medición. La reproducibilidad tiene que ver con la réplica de una prueba en manos de la comunidad científica de una rama determinada siendo el objetivo principal la obtención de resultados bajo las mismas condiciones, para así comprobar la veracidad de un experimento. Según expertos, esta cualidad debe ser evaluada a largo plazo. Por otro lado, la repetibilidad indica el porcentaje de variabilidad presente en los instrumentos de medición usados en una determinada prueba (Lifeder, 2018).

2.1.12.1 Reproducibilidad: Esta señala la variación debida a los equipos de medición que fueron empleados durante la prueba, la cual debe preservar las mismas condiciones y los mismos operadores o miembros del equipo de investigación. El cambio estará dado por las condiciones de medición, para ello se deberá tener en cuenta lo siguiente:

-Es importante señalar cuáles son las variaciones durante el proceso, entre las cuales destacan el principio de medición, el método, el operador, el instrumento empleado, el lugar, el tiempo y las condiciones generales del laboratorio.

-Los resultados deben estar expresados cuantitativamente.

-Dentro de la comunidad científica se considera un proceso relativamente sencillo y fácil de replicar, aunque implica la constante revisión de los resultados (Lifeder, 2018).

2.1.12.2. Repetibilidad: Indica la desviación que puede presentarse a causa de un instrumento de medición empleado durante el experimento. Por tanto, se evalúa su precisión al momento de repetirse la prueba en las mismas condiciones y en un periodo determinado de tiempo. Consideraciones que deben tomarse en cuenta al momento de realizar el estudio:

-Se debe intentar reducir las variaciones que puedan ser provocadas por el operador.

-Debe emplearse el mismo sistema de medición y el mismo operador.

-Debe considerarse el mismo lugar en el que se realizó el experimento.

-Es necesario hacer varias repeticiones en un periodo determinado de tiempo.

-Los resultados deben reflejarse de manera cuantitativa (Lifeder, 2018).

2.1.13 Validez y fiabilidad de un test clínico

Se dice que una prueba de tamizaje es válida, si ésta identifica correctamente el problema de interés. En lo que respecta a fiabilidad, se dice que una prueba lo es, si ésta es capaz de producir resultados similares bajo distintas condiciones (Galván, 2009).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación.

Esta investigación fue de enfoque cuantitativo, de diseño no experimental, retrospectivo, de corte transversal – descriptivo.

3.2. Ámbito temporal y espacial.

El presente trabajo se realizó en el Banco de Sangre tipo II del Hospital Belén de Trujillo, Jr. Bolívar 350, Trujillo - La Libertad, en el periodo de enero a febrero del 2022.

3.3. Variables.

Variable 1: marcadores serológicos anticore (HBc) con método enzima inmunoensayo anti HBc y método de quimioluminiscencia anti HBc.

Variable 2: Predonantes de sangre.

Tabla 6

Operacionalización de las variables.

V1: Marcadores serológicos anticore (HBc): Son pruebas de laboratorio que sirven para identificar infecciones transmisibles, por transfusión sanguínea en donantes de sangre.

V2: Predonantes de sangre: Son las personas que se presentan a un banco de sangre con la intención de llegar a donar sangre o algún componente sanguíneo.

Variable	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala
Variable 1: Marcadores serológicos anticore (HBc)	Comparación de los marcadores serológicos anticore total (HBc) con método enzima inmunoensayo y método de quimioluminiscencia.	Resultado de tamizaje método enzima inmunoensayo para anticore total (anti HBc)	Lector de Microplacas ELISA	Reactivo Indeterminado No Reactivo
		Resultado de tamizaje método de quimioluminiscencia para anticore total (anti HBc)	Autoanalizador CLIA	Reactivo Indeterminado No Reactivo

Variable 2: Predonantes de sangre	Ciudadanos que acudieron a donar sangre quienes superaron la etapa de pre selección	Genero	Masculino Femenino	
		Tipo de donante	Voluntario Reposición	- Apto - No apto
		Frecuencia	Nuevo Repetitivo	

3.4. Población y muestra.

Población:

Este estudio estuvo conformado por un total de 5985 predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo que acudieron a realizarse el examen de tamizaje total durante el periodo enero – diciembre del 2019.

Muestra:

El presente estudio involucró a toda la base de datos de los predonantes de sangre con análisis para anticore (HBc) durante el año 2019. Se realizó muestreo censal igual que la población, no probabilístico por conveniencia a un total de 5985 predonantes de sangre.

3.5. Instrumento.

Para la presente investigación se utilizó como instrumento, una ficha Ad Hoc para realizar recolección y tratamiento de valores obtenidos de toda la base de datos de los resultados de predonantes de sangre para análisis de anticore (HBc) por métodos de quimioluminiscencia y enzima inmunoensayo, que se usaron en el Banco de Sangre tipo II del Hospital Belén de Trujillo, de la cual se recopilaron los datos de la investigación y se determinó el método con mayor sensibilidad y especificidad para la detección de anticore (HBc).

3.6. Procedimientos.

Se obtuvieron los permisos necesarios para la obtención de la base de datos a través de la

Dirección del hospital, jefe de Servicio del Banco de Sangre tipo II y el Área de Capacitación, Docencia e Investigación del Hospital Belén de Trujillo con relación a las fichas de los predonantes de sangre y además los resultados de las pruebas serológicas para anticore (HBc) de los predonantes de sangre que acudieron durante el año 2019. Una vez obtenida la información necesaria se seleccionó todas las fichas que cumplan con los criterios de inclusión, previamente descritos en la sección de muestra. Después estas fichas fueron transcritas al Microsoft Excel versión 2021 y finalmente analizados en el software estadístico SPSS 21.

3.7. Análisis de datos: definir o explicar que estadístico vas usar para el estudio.

El análisis de datos se realizó con el programa SPSS 21.

3.8. Consideraciones éticas.

El desarrollo de la tesis tuvo en cuenta las siguientes consideraciones éticas:

En esta tesis, se basó en los valores de honestidad, respeto, objetividad, y veracidad, respetando el anonimato de los predonantes de sangre potenciales.

Para la presente tesis se envió una solicitud a la Unidad de Capacitación del Hospital Belén de Trujillo; explicándole la finalidad y el propósito de la investigación y la importancia del estudio en el que se aseguró la confidencialidad de los datos obtenidos de los resultados de las pruebas de tamizaje para anticore (HBc) de los métodos enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia de los predonantes de sangre potenciales. Obteniéndose posteriormente la autorización para uso por parte del jefe del servicio de Banco de Sangre.

IV. RESULTADOS

Se analizó un total de 5985 resultados de pruebas de tamizaje para anticore total (anti-HBcAg) a predonantes de sangre durante el año 2019, de las cuales se obtuvieron como reactivos 126, siendo 13 de ellos resultados discordantes para las dos pruebas con las que fueron evaluados (enzimainmunoensayo y quimioluminiscencia). Estos datos fueron obtenidas a través de una ficha *Ad hoc* de recolección en la que se tomaron los resultados numéricos obtenidos motivo de la observación a analizar. Los resultados fueron registrados y procesados en programa SPSS 21.

Tabla 7

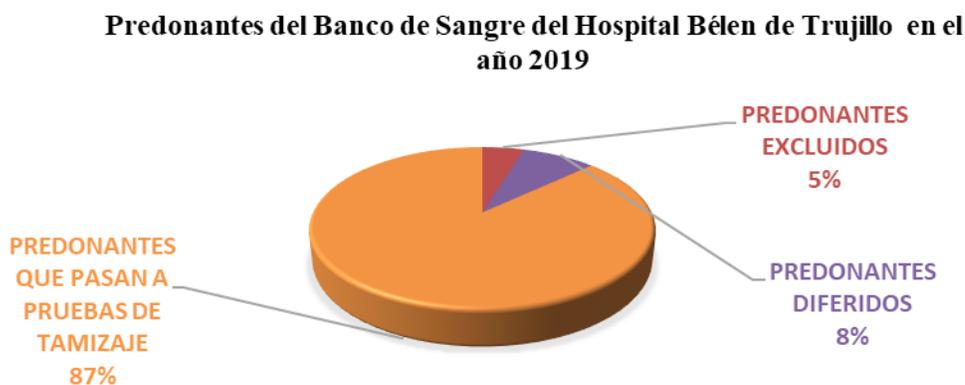
Estadística de predonantes de sangre atendidos durante el año 2019.

Categoría	Predonantes excluidos	Predonantes diferidos	Predonantes que pasan a pruebas de tamizaje	Total de predonantes atendidos
Voluntarios	68	63	777	908
Reposición	254	511	5208	5973
Total	322	574	5985	6881

Esta tabla se muestra la cantidad de predonantes de sangre atendidos (6881) de los cuales tan solo llegan a pasar a pruebas de tamizaje 5985 entre predonantes voluntarios y de reposición así mismo los excluidos y/o diferidos en el proceso de selección por diversos motivos.

Figura 4

Porcentaje de predonantes de sangre que fueron excluidos, diferidos y tamizaje para Anticore total (HBc)



En la figura se muestra que de un total de 6881 predonantes de sangre como se aprecia en la tabla 3, 5985 predonantes llegaron a pasar a la etapa de tamizaje de sangre para anticore total (HBc) representado esto el 87% del total de predonantes de sangre.

Tabla 8

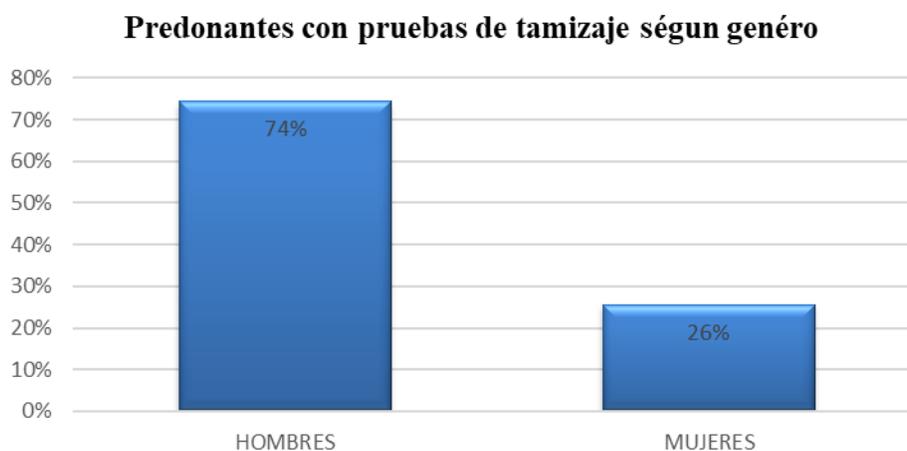
Predonantes de sangre que pasan pruebas de tamizaje para anticore total (HBc) según género.

Predonantes de sangre con pruebas de tamizaje según género		
Hombres	Mujeres	Total de predonantes
4453	1532	5985

En la tabla se muestra que de los 5985 predonantes de sangre entre voluntarios y de reposición 4453 fueron hombres y 1532 fueron mujeres.

Figura 5

Porcentaje de predonantes de sangre que pasaron tamizaje para anticore total (HBc) según género.



En la figura se muestra que de los 5985 predonantes de sangre entre voluntarios y de reposición el 74% (4453) fueron hombres y 26% (1532) fueron mujeres.

Tabla 9

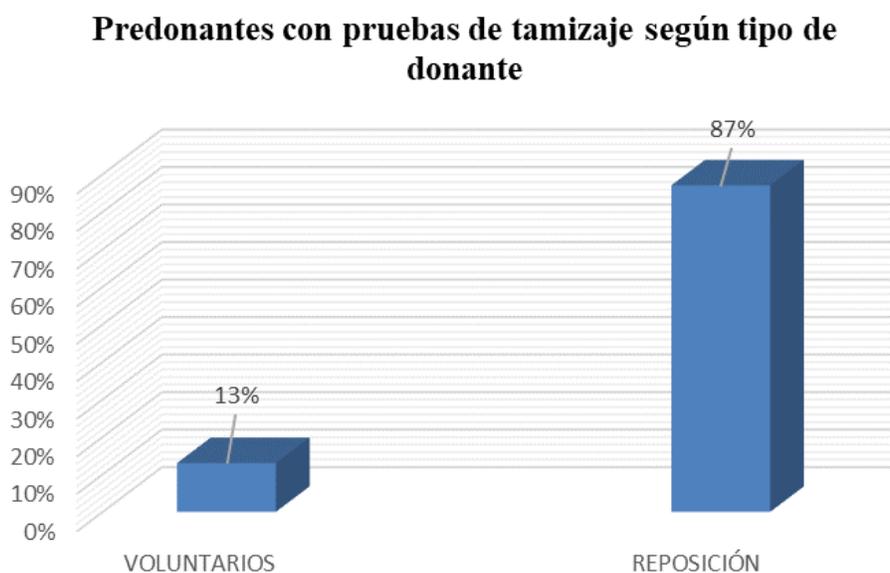
Predonantes de sangre con pruebas de tamizaje según tipo de donante.

Predonantes de sangre con pruebas de tamizaje según tipo de donante		
Voluntarios	Reposición	Total de predonantes
777	5208	5985

En la tabla se muestra que de los 5985 predonantes de sangre entre hombres y mujeres 777 fueron voluntarios y 5208 fueron por reposición.

Figura 6

Porcentaje de predonantes de sangre que pasaron la prueba de tamizaje para anticore total (HbC) según tipo de donante



En la figura se muestra que de los 5985 predonantes de sangre entre hombres y mujeres el 13% fueron voluntarios y el 87% fueron de reposición.

Tabla 10

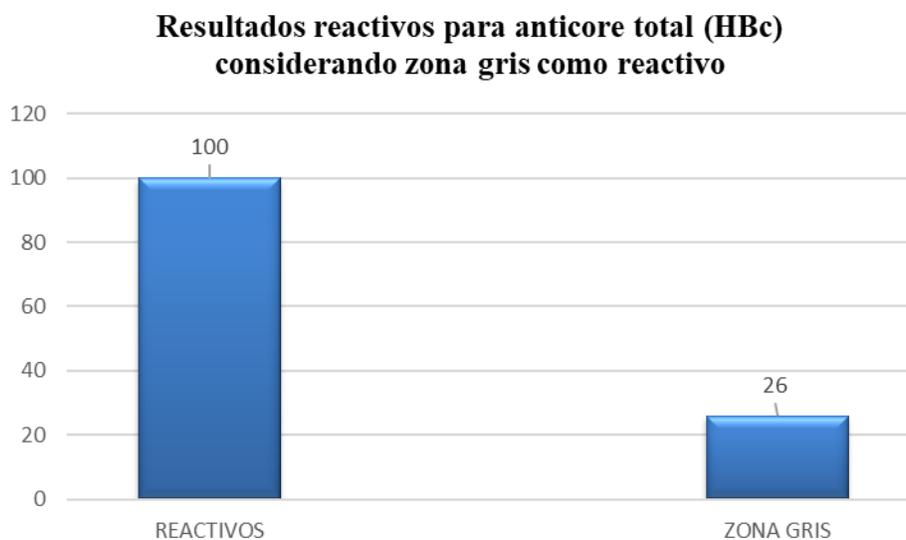
Resultados cuantitativos según escala (reactivos, zona gris)

Tipo de donante	Resultados reactivos para anticore total (HBc) considerando zona gris como reactivo		
	Reactivos	Zona gris	Total
Voluntario	5	3	8
Reposición	95	23	118
Total	100	26	126

En la tabla se muestra la cantidad de resultados según escala tanto para predonantes de sangre voluntarios como para predonantes de sangre por reposición.

Figura 7

Cantidad de resultados reactivos, zona gris.



En la figura se aprecia que de las 5985 muestras tamizadas tenemos que el 1.7% (100) resultaron reactivas para anticore total (HBc); 0.4% (26) se encontraron en zona gris.

Tabla 11

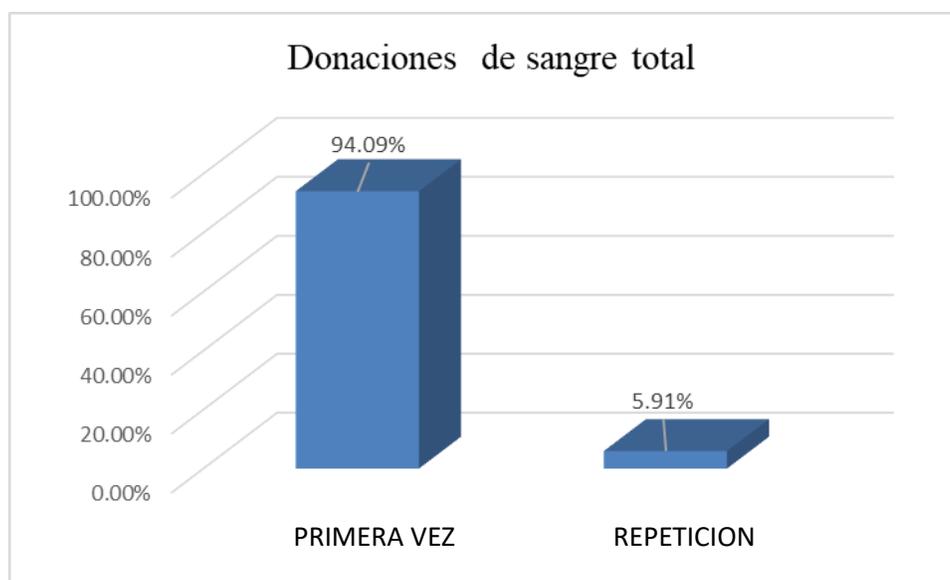
Predomantes de sangre voluntarios por primera vez y por repetición.

Donaciones de sangre total	
voluntarios por primera vez	voluntarios por repetición
5631	354

En la tabla se aprecia que de los predominantes de sangre atendidos 5631 asistieron a una posible donación por primera vez, entre tanto 354 donantes fueron predominantes de sangre que anteriormente ya habían donado.

Figura 8

Predomantes de sangre voluntarios por primera vez y por repetición expresados en porcentaje



En la figura se muestra que de los predominantes de sangre por primera vez representan el 94.09%, mientras que los predominantes de sangre por repetición representan el 5.91%.

Tabla 12

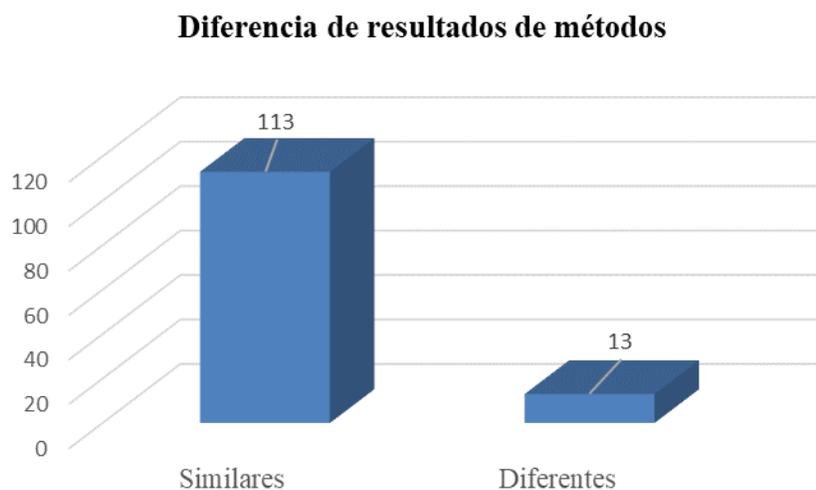
De los resultados reactivos similares y diferencias entre los dos métodos utilizados para su análisis.

Resultados similares y diferentes para los métodos de estudio			
Comparación de resultados	Tamizados	Quimioluminiscencia	Enzimainmunoensayo
Similares	113	Reactivo	Reactivo
Diferentes	13	Reactivo	No reactivo

En la tabla se aprecia que de los resultados reactivos 113 son similares para ambos métodos utilizados, mientras que 13 resultados son opuestos, obteniendo para el método de enzima inmunoensayo resultados No reactivos.

Figura 9

Resultados similares y diferentes para los dos métodos de estudio (enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia)



En la figura se muestra que, de los resultados reactivos obtenidos, 113 (89.7%) son similares para ambos métodos, mientras que 13 (10.3%) de ellos son reactivos para quimioluminiscencia y no reactivos para enzima inmunoensayo.

Tabla 13

Resultados diferentes para los dos métodos motivo de estudio de la presente tesis (enzimainmunoensayo y quimioluminiscencia)

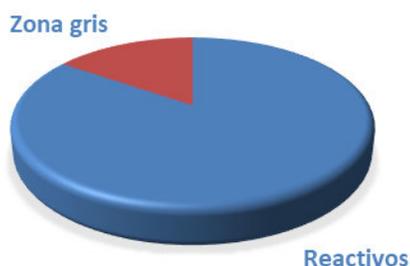
Análisis de resultados diferentes para ambos métodos			
Escala	Tamizados	Quimioluminiscencia	Enzimainmunoensayo
Positivos	11	Reactivo	No reactivo
Zona gris	2	Reactivo por zona gris	No reactivo

En la tabla se aprecia que de los resultados opuestos para los métodos en estudio 11 son reactivos y 2 se encuentran en zona gris para quimioluminiscencia mientras que para enzimainmunoensayo en los 13 son no reactivos, lo cual nos genera la razón que valida el presente estudio.

Figura 10

Resultados diferentes para las mismas muestras evaluadas con los dos métodos de estudio

De los 13 resultados diferentes 15.4% están en zona gris y el 84.6% son reactivos para quimioluminiscencia



De los 13 resultados diferentes el 100% son no reactivos para enzimainmunoensayo



En la figura se aprecia que para una misma muestra evaluada con 2 métodos de análisis para anticore total (HBC) tenemos resultados diferentes y que para el método de quimioluminiscencia tenemos 2 (15.4%) que se encuentran en zona gris que para un análisis cuantitativo de donación de sangre se considera positivo.

Tabla 14

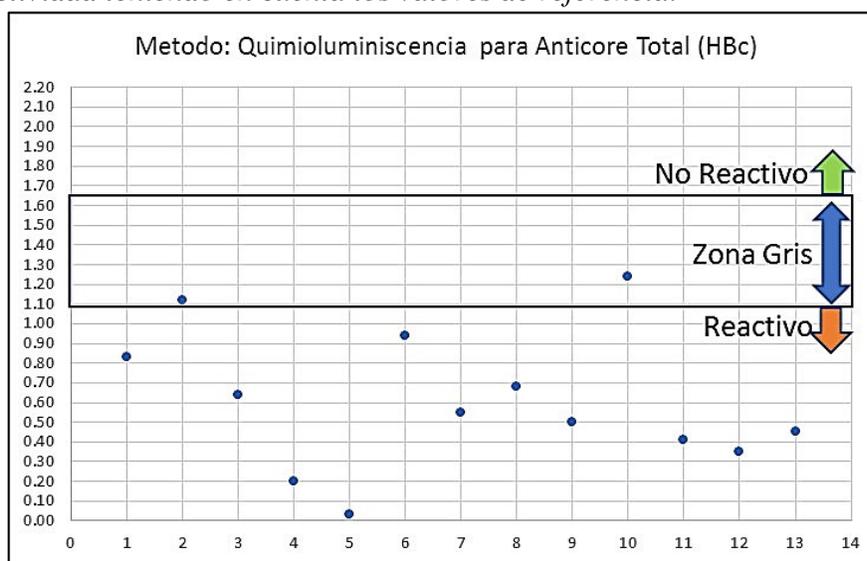
Resultados cuantitativos diferentes entre ambos métodos para las mismas muestras.

Item	frecuencia de donación	Tipo de Donantes	Genero	Método: Quimioluminiscencia para Anticore Total (HBc)	No reactivo > 1.6488 Reactivo ≤ 1.0992 zona Gris < 1.09 - >1.64	Método: Enzimainmunoensayo para Anticore Total (HBc)	No reactivo ≥ 1.2 Reactivo < = 1.0 zona Gris ≥ 1.0 - ≤1.2
1	Nuevo	Reposición	Masculino	0.83	Reactivo	.	No reactivo
2	Nuevo	Reposición	Masculino	1.12	Reactivo	2.100	No reactivo
3	Nuevo	Reposición	Masculino	0.64	Reactivo	2.050	No reactivo
4	Nuevo	Reposición	Masculino	0.20	Reactivo	1.870	No reactivo
5	Nuevo	Reposición	Masculino	0.03	Reactivo	1.350	No reactivo
6	Repetitivo	Reposición	Femenino	0.94	Reactivo	1.150	No reactivo
7	Nuevo	Reposición	Masculino	0.55	Reactivo	2.200	No reactivo
8	Nuevo	Reposición	Masculino	0.68	Reactivo	2.099	No reactivo
9	Nuevo	Reposición	Femenino	0.50	Reactivo	1.978	No reactivo
10	Nuevo	Voluntario	Masculino	0.68	Reactivo	2.100	No reactivo
11	Nuevo	Reposición	Masculino	0.41	Reactivo	1.989	No reactivo
12	Nuevo	Reposición	Masculino	0.35	Reactivo	1.990	No reactivo
13	Nuevo	Reposición	Masculino	0.45	Reactivo	2.120	No reactivo

En la tabla se muestran los resultados obtenidos para ambos métodos, siendo estos la razón para un análisis de especificidad y sensibilidad de cada uno de estos reactivos, y de esta manera demostrar cuál de ellos sería el mejor método para realizar la detección de anticore total (HBc) en los predonantes de sangre.

Figura 11

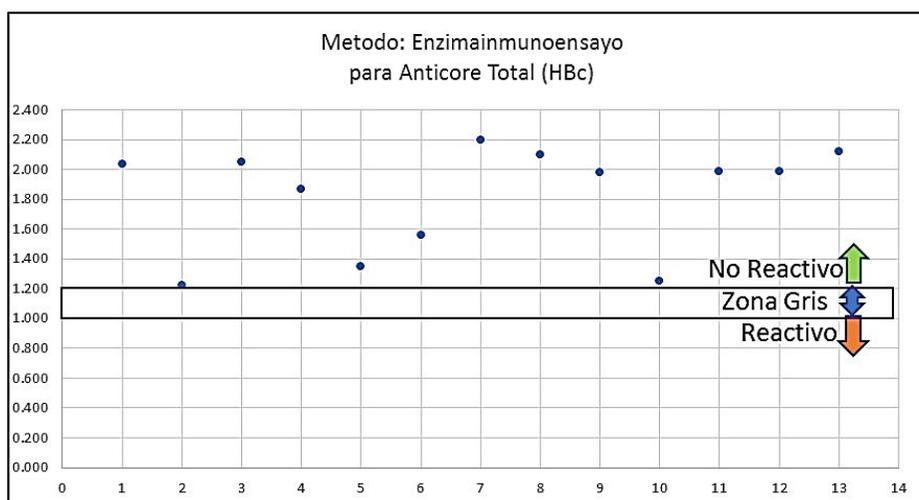
Análisis de reactividad teniendo en cuenta los valores de referencia.



En la figura se aprecia la ubicación de los resultados en la tabla de referencia del método de quimioluminiscencia para anticore total (HBc) No reactivo > 1.6488 ; Reactivo ≤ 1.0992 ; zona gris $< 1.0992 \geq 1.6488$

Figura 12

Análisis de reactividad teniendo en cuenta los valores de referencia.



En la figura se aprecia la ubicación de los resultados en la tabla de referencia del método de enzaimunoensoyo para anticore total (HBc) No reactivo ≥ 1.2 ; Reactivo ≤ 1.0 ; zona gris $\geq 1.0 - \leq 1.2$.

5.1. Cálculo de especificidad y sensibilidad para cada uno de los reactivos para detección de Anticore (HBc)

Para realizar el cálculo de especificidad y sensibilidad tendremos en cuenta los 5985 resultados de los cuales determinaremos 4 sub clases.

Tabla 15.

Clasificación de resultados de predonantes de sangre.

Clasificación	Quimioluminiscencia	Enzimainmunoensayo
Verdaderos positivos (VP)	126	113
Verdaderos negativos (VN)	5859	5859
Falsos Positivos (FP)	0	0
Falsos Negativos (FN)	0	13

Esta investigación tuvo una población de 5985 pacientes, todos ellos fueron sometidos a evaluación de anticore total mediante los dos métodos de diagnóstico, de donde para quimioluminiscencia 126 resultaron reactivos y de estas muestras para enzimainmunoensayo 13 resultaron no reactivos entre tanto, los 113 restantes también coincidieron como reactivos.

5.1.5. Cálculo de especificidad:

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{VN}}{\text{FP} + \text{VN}}$$

5.1.6. Cálculo de sensibilidad:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$$

Sensibilidad y especificidad del método Enzimainmunoensayo (anticore)

Clasificación de resultados	Tipo de resultado	Enzimainmunoensayo	
		Positivo	Negativo
Resultados para anticore total	Verdadero	VP = 113	VN = 5859
	Falso Negativo	FP = 0	FN = 13

$$\text{Sensibilidad para anticore por enzimainmunoensayo (SE)} = \frac{\mathbf{VP}}{\mathbf{VP + FN}}$$

$$SQ = 113 / 113 + 13$$

$$SQ = 89.6\%$$

La sensibilidad es del 89.6% para anticore total

$$\text{Especificidad para anticore por enzimainmunoensayo (SE)} = \frac{\mathbf{VN}}{\mathbf{FP + VN}}$$

$$EQ = 5859 / 0 + 5859$$

$$EQ = 100 \%$$

La especificidad es del 100 % para anticore total

Sensibilidad y especificidad del método quimioluminiscencia (anticore)

Clasificación de resultados	Tipo de resultado	Quimioluminiscencia	
		Positivo	Negativo
Resultados para anticore total	Verdadero	VP = 126	VN = 5859
	Falso	FP = 0	FN = 0

$$\text{Sensibilidad para anticore por quimioluminiscencia (SQ)} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}}$$

$$\text{SQ} = 126 / 126 + 0$$

$$\text{SQ} = 100 \%$$

La sensibilidad es del 100 % para anticore total

$$\text{Especificidad para anticore por quimioluminiscencia (EQ)} = \frac{\text{VN}}{\text{FP} + \text{VN}}$$

$$\text{EQ} = 5859 / 0 + 5859$$

$$\text{EQ} = 100 \%$$

La especificidad es del 100 % para anticore total

De estos resultados podemos observar que la especificidad para ambos reactivos es del 100% mientras que la diferencia radica en la sensibilidad de cada uno de ellos por lo que se obtiene que para quimioluminiscencia es de 100% entre tanto para enzima inmunoensayo es de 89.6%.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio evidenció que una proporción importante de predonantes sanguíneos atendidos en el Banco de Sangre del Hospital Belén de Trujillo tuvieron una diferencia de resultados al evaluar sus muestras para diagnóstico de anticore total por los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia.

El diagnóstico de los predonantes de sangre que formaron parte de la investigación fue muy homogéneo, sin embargo, el 2.11% de los predonantes tuvo como resultados reactivos para anticore total por ambos métodos de análisis y de estos resultados reactivos el 10.3% son reactivos para anticore total por quimioluminiscencia y no reactivos por enzima inmunoensayo.

De los datos obtenidos, se puede identificar que los dos métodos para la determinación de anticore total son estadísticamente significativos porque permitieron rechazar la hipótesis nula y así comprobar la Hipótesis alternativa que menciona: El método de quimioluminiscencia no es más específico que el método enzima inmunoensayo ya que para ambos es de 100%, pero si presenta mayor sensibilidad con un 100% frente al de 89.6% para enzima inmunoensayo al determinar anticore total en predonantes de sangre.

VI. CONCLUSIONES

- El método de quimioluminiscencia para la determinación de anticore total emite resultados con mayor confiabilidad, frente al de enzima inmunoensayo.
- La sensibilidad para el método de quimioluminiscencia fue del 100% con una especificidad del 100% para los predonantes evaluados para anticore total.
- La sensibilidad para el método de enzima inmunoensayo fue del 89.6% con una especificidad del 100% para los predonantes analizados.
- En el presente estudio el método de quimioluminiscencia presenta mayor sensibilidad frente al método de enzima inmunoensayo, corroborando los conocimientos actuales sobre esta metodología que sugieren que esta técnica, es similar o mejor frente al método de enzima inmunoensayo y por lo tanto adecuada para el tamizaje de muestras de sangre de los predonantes en los bancos de sangre.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar una comparación del método de quimioluminiscencia frente a un método Gold Estándar a fin de corroborar nuestros resultados obtenidos.
- Fomentar este tipo de estudio para generar conciencia a fin de entregar resultados de calidad y garantía, disminuyendo así las tasas de contagios por transmisión sanguínea entre donantes y pacientes receptores.
- Realizar investigaciones en cada uno de los exámenes de tamizaje en los cuales se utilicen dos o más métodos a fin de implementar un solo método el cual nos de mayor confiabilidad en sus resultados.
- Implementar en los bancos de sangre una sola metodología para el tamizaje de las pruebas de los predonantes de sangre a fin de reducir los gastos económicos por la compra de reactivos de diferentes marcas.
- Los bancos de sangre deben adquirir tecnologías de última generación con mayor capacidad de sensibilidad a fin de garantizar la confiabilidad de sus pruebas de tamizaje en los predonantes de sangre.
- Realizar otros estudios evaluando otros factores que pudiesen influir en el análisis de las muestras tales como, calibración y mantenimiento de pipetas, analizar calidad de agua destilada, mantenimiento de equipos (lectores, incubadoras, procesadores), periodicidad de capacitación de personal, condiciones o ambiente controlado, entre otros.

VIII. REFERENCIAS

- Abyntek Biopharma (2019) *Tipos de ELISA, ¿Conoces las diferencias*. Recuperado el 28 de 07 de 2022 de: <https://www.abynetek.com/tipos-de-elisa/>
- Alvarado, D., Camargo, A., Deveze, M., Alonso, A., & Alva, C. (2017). *Comparación de métodos analíticos en el laboratorio clínico*. Jóvenes de la ciencia, Revista de divulgación científica, 3(2), 2-5. Recuperado el 28 de 07 de 2022 de: <https://doi.org/https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1705/1209>
- American College of Gastroenterology (ACG)(2012) *Cirrosis Hepatica*, recuperado el 28 de 07 de 2022 de: <https://gi.org/patients/recursos-en-espanol/cirrosis-hepatica/>
- Asociación Catalana de Pacientes Hepáticos (ASSCAT) (2018) *Hepatitis C, Transmisión de la hepatitis C* recuperado el 17 de 6 de 2022 de: <https://asscat-hepatitis.org/hepatitis-viricas/hepatitis-c/informacion-básica-sobre-la-hepatitis-c/transmision-de-la-hepatitis-c/>
- Asociación catalana de Pacientes Hepáticos, (ASSCAT), 2019 Marcadores serológicos claves de la hepatitis B recuperado el 28 de 07 de 2022 de: [https://asscat-hepatitis.org/cuales-son-los-marcadores-serologicos-clave-de-la-hepatitis-b/#:~:text=Los%20marcadores%20s%C3%A9ricos%20m%C3%A1s%20importantes,las%20prote%C3%ADnas%20del%20core%20\(anti%2D](https://asscat-hepatitis.org/cuales-son-los-marcadores-serologicos-clave-de-la-hepatitis-b/#:~:text=Los%20marcadores%20s%C3%A9ricos%20m%C3%A1s%20importantes,las%20prote%C3%ADnas%20del%20core%20(anti%2D)
- Beltrán, M., Berrío, M., Bermúdez, M., Cortes, A., Molina, G., Camacho, B., & Forero, S. (2014). *Perfiles serológicos de hepatitis B en donantes de sangre con anti-HBc reactivos*. Revista de Salud Pública, 16(6), 847-848. <https://doi.org/https://www.scielosp.org/pdf/rsap/2014.v16n6/847-858#:~:text=Resultados%20Se%20encontr%C3%B3%20que%20el,reactivo%20solament>

e%20para%20ant%20C3%ADgeno%20de

Balanzó, J. & Enriquez, J.(2007). *Avances en Patología Digestiva – Hepatitis B*. (1ra Edición).

ICG Marge, SL.

Espinoza, A., Nava, A., Molina, J., Lagarcha, S., Solana, R., & Corona, A. (2018). Comparación de dos métodos para la cuantificación en suero de subclases de inmunoglobulinas.

Revista de laboratorio clínica ELSEVIER, 11(4), 193-201. recuperado el 10 de 7 del 2022

de: [https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-](https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-articulo-comparacion-dos-metodos-cuantificacion-suero-S1888400818300321)

[articulo-comparacion-dos-metodos-cuantificacion-suero-S1888400818300321](https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-articulo-comparacion-dos-metodos-cuantificacion-suero-S1888400818300321)

Galban Barahona, J. (2009) *Pruebas de tamizaje*, Recuperado el 28 de 7 de 2022 de:

<http://www3.uacj.mx/ICB/RedCIB/MaterialesDidacticos/Monografas/Pruebas%20de%20>

[Tamiz.pdf](http://www3.uacj.mx/ICB/RedCIB/MaterialesDidacticos/Monografas/Pruebas%20de%20)

Hierro Llanillo, L. (2012). *Hepatitis crónica por el virus de la hepatitis B. en: Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica*. (3ra ed.). Sociedad española de gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica (eds), 397-408.

Hospital Belén de Trujillo, (2020) *Plan operativo institucional 2020*, Trujillo – Perú 2020;

Recuperado el 17 de 6 de 2022, de

<file:///C:/Users/MARY/Downloads/PLAN%20OPERATIVO%20INSTITUCIONAL%20>

[2020%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/MARY/Downloads/PLAN%20OPERATIVO%20INSTITUCIONAL%20)

Jaimes Huaman, G. (2017). *Estudio comparativo de tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-trypanosoma cruzi en donantes del servicio de banco de sangre del hospital Edgardo Rebagliati, Lima, Perú-2017. Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica*. [Tesis de grado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos,

- Lima, Perú. Recuperado el 17 de 6 de 2022, de
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/7342/Jaimes_hg.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Kumar Sonar, S. (2021) *Hepatitis B Crónica, Trastornos del hígado y la vesícula* recuperado el 28 de 7 del 2022 de: <https://www.msmanuals.com/es-pe/hogar/trastornos-del-h%C3%ADgado-y-de-la-ves%C3%ADcula-biliar/hepatitis/hepatitis-b-aguda>
- Moya, J. & Julcamanyan, H. (2014) *Seroprevalencia de marcadores infecciosos causantes de pérdidas de hemodonaciones en el Servicio de Banco de Sangre del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé de enero 2008 a diciembre del 2013*. Horizonte Médico, 14(4). <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v14n4/a02v14n4.pdf>
- Lifeder Equipo editorial (2018). *¿Qué son la Reproducibilidad y Repetibilidad?*. Recuperado el 28 de 7 de 2022 de: <https://www.lifeder.com/reproducibilidad-repetibilidad/>
- Lopez Balarezo, J. (2022) *Quimioluminiscencia Fundamento* Recuperado el 28 de 7 de 2022 de: <https://pdfcoffee.com/quimioluminiscencia-fundamento-7-pdf-free.html>
- Lluque, A., Mercado, E., Riveros, M., Alvarado, L., Carlos, E., Colichón, A., Salazar, E., & Ochoa, T., (2010). *Comparación entre el diagnóstico serológico y el diagnóstico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para Escherichia Coli entero patogénica (EPEC)*. Revista de Gastroenterología del Perú, 30(2). Recuperado el 12 de 7 del 2022 de: <https://doi.org/> http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292010000200003
- Medline plus (2021) *Información de salud para ustedes - Hepatitis B* Recuperado de: <https://medlineplus.gov/spanish/hepatitisb.html>.
- Medwave. (2017). *Análisis de comparación y aplicaciones del método de Bland-Altman:*

- ¿concordancia o correlación?* Recuperado el 17 de 6 de 2022, de Revista Biomédica Revisada Por Pares.: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Series/TyC-Estadistica/6852.act>
- Minsa. (2019). *Donación de sangre – Ministerio de Salud, Perú 2019* Recuperado el 17 de 6 de 2022, de publicación de Pronahebas: http://www.minsa.gob.pe/portada/prevencion/ef/dona_sangre.asp
- Moreno, D., Alegre F., y Garcia, N. (2004) *Virologia, epidemiologia y mecanismos de transmisión del VHB*. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. Recuperado el 28 de 7 del 2022 de: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272004000400002
- Organización Panamericana de la Salud. (28 de Julio de 2021). *Día mundial contra la hepatitis*. Recuperado de: <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contr-hepatitis-2021>
- Ortiz, S., & Herrera, E. (2017). "*Comparación de dos métodos de control de calidad de leucorreducción en hemocomponentes del banco de sangre del hospital general de accidentes "ceibal" del instituto guatemalteco de seguridad social durante el año 2016*". Seminario de investigación. Universidad de San Carlos de Guatemala, Hospital General de Accidentes, GUATEMALA. Recuperado el 17 de 6 de 2022, de <https://docplayer.es/94238141-Universidad-san-carlos-de-guatemala-facultad-de-ciencias-quimicas-y-farmacia-comparacion-de-dos-metodos-de-control-de-calidad-de.html>
- Pereira Alagon, M. (2010) *Comparación de los métodos de ELISA e IFI para la detección de la enfermedad de Chagas en muestras seropositivas del banco de sangre del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen en el 2010*" [Tesis de grado]. Universidad

- Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado el 17 de 6 de 2022, de
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/12381/Pereira_am-Resumen.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Pineda, D., Prada, E. y Prieto, S., (2013). *Métodos Estadísticos en la Comparación de Equipos de Laboratorio*, Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia. recuperado el 06 de 3 del 2022 de:
<https://www.aebm.org/images/activos/documentosexternos/Mtodos%20Estadsticos%20en%20la%20Comparacin%20de%20Equipos%20de%20Laboratorio%20v2%202.pdf>
- Restrepo, M., Martinez, L. & Escudero, I. (2018) *Virus hepatitis B: Métodos moleculares, PCR, Biosensores y pruebas rápidas, en su detección y diagnóstico*. Comunidad y Salud, 16(2).
Recuperado el 28 de 7 del 2022 de: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/fcs/cysv16n2/art07.pdf>
- Romero Solis, G. (2008) Hepatitis B. Gen, 62(1). Recuperado el 28 de 7 del 2022 de:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032008000100019
- Sanchez Orozco, L. (2016) *Bases moleculares de la Hepatitis B* recuperado el 28 de 7 del 2022 de:
file:///C:/Users/HP/Downloads/Cap%C3%ADtulo%2024_%20Bases%20moleculares%20de%20la%20hepatitis%20B.pdf
- Salazar, A., Sandoval, Ana. & Armendáris, J. (2016). *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud, 2e*. (2da Edición). Interamericana Editores S.A.
- Servizo Galego de Saúde (SERGASA) (2022) *Pruebas Diagnósticas*, Recuperado el 28 de 7 de 2022, de <https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/1932/6-Ayuda%20Pruebas%20diagnosticas.pdf>
- Toro, I., & Restrepo, J. (Vol 17).(2011). *Medicina & Laboratorio*. Universidad de Antioquia

(Colombia)

Torres Guerrero, I. (2014) *Calidad intra e interlaboratorial en la determinación de inmunoglobulina e total en suero en laboratorios de análisis clínicos de lima – metropolitana*” [Tesis de grado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Recuperado el 17 de 6 de 2022 de:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3809/Torres_gi.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Valdovinos M., Bósquez F. y Ariño M., (2014) *Gastrotrilogía III “Hepatitis y Enfermedad Inflamatoria Intestinal”* (1ra. Ed.). Editorial Clave.

Palabras Clave:

Cápside: conjunto de proteínas que envuelven el material genético (ADN y ARN) de un virus.

Dominio: unidad estructural o funcional de una proteína.

Hepadnaviridae: familia de virus que causan infecciones en hígado de humanos y de animales.

Hepatótrofos: grupo diverso de virus que comparten la capacidad de provocar inflamación y necrosis hepática.

Inmunopatogénesis: estudio de las reacciones inmunológicas frente a un agente patógeno.

ORF: porción del genoma de un organismo que contiene una secuencia de bases que codifica potencialmente una proteína.

Orthohepadnavirus: género de virus que infectan mamíferos. Contiene 12 especies. En humanos causan la hepatitis B, carcinoma hepatocelular y cirrosis.

Virus: es un agente infeccioso microscópico acelular que solo puede replicarse dentro de las células de otros organismos. Los virus están constituidos por genes que contienen ácidos nucleicos que forman moléculas largas de ADN o ARN, rodeadas de proteínas.

Virión: es una partícula vírica morfológicamente completa e infecciosa. Está compuesto por:
Ácido nucleico vírico: puede ser ADN o ARN, solo uno de ellos, y de cadena doble o sencilla. Lo más frecuente es ADN bicatenario, lineal o circular, o bien ARN monocatenario siempre lineal.

CCC DNA: el DNA circular covalentemente cerrado, del virus de la hepatitis B es el único molde para la transcripción a RNA pregenómico (pgRNA) y posterior replicación de DNA.

Epítopo: zona específica de la superficie de un antígeno que interactúa con anticuerpos específicos a los cuales se une. Por lo general, un antígeno tiene varios epítomos diferentes.

X. Anexos

A. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Variables	Método
	<p>Problema General ¿Cuál es el más sensible y específico al comparar los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia para anticore (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén – Trujillo, 2019?</p>	<p>Objetivo General. Comparar los métodos de enzima inmunoensayo y quimioluminiscencia para la detección de anticore (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén – Trujillo, 2019, con el fin de determinar cuál es el más confiable por sensibilidad y especificidad.</p>		<p>Diseño de la investigación. No experimental.</p> <p>Alcance de la investigación. Retrospectivo, de corte transversal – descriptivo.</p>
<p>COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN – TRUJILLO, 2019</p>	<p>Problemas Específicos a) ¿Cuál es la sensibilidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019? b) ¿Cuál es la especificidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019?</p>	<p>Objetivos Específicos. a) Determinar la sensibilidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019, estableciendo cual es el más confiable por sensibilidad. b) Determinar la especificidad de los métodos de enzima inmunoensayo y de quimioluminiscencia para la determinación del anticore total (HBc) en predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo 2019, estableciendo cual es el más confiable por especificidad.</p>	<p>Variables - Marcadores serológicos anticore (HBc) - Predonantes de sangre</p>	<p>Enfoque de la investigación. Cuantitativo.</p> <p>Población. Este estudio estuvo conformado por un total de 5985 predonantes de sangre del Hospital Belén - Trujillo que acudieron a realizarse el examen de tamizaje total durante el periodo enero – diciembre del 2019. Muestra: 5985 predonantes de sangre (muestreo no probabilístico)</p>

B. Autorización de realización de tesis del Hospital Belén de Trujillo



**GERENCIA
GENERAL REGIONAL**



**BICENTENARIO
PERÚ
LA LIBERTAD 2020**

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Trujillo, 20 de junio del 2022

DRA. REGINA MEDINA ESPINOZA DE MUNARRIZ

Decana de la Facultad de Tecnología Médica
Universidad Nacional Federico Villarreal

Tengo el honor de dirigirme a usted muy cordialmente a la vez manifestarle que se autoriza a la **Sra. MARÍA ISABEL SALIRROSAS RODRÍGUEZ**, egresada de la Facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villarreal, a la recolección de datos de esta dirección a fin de que pueda culminar en la ejecución de su tesis titulada **"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"**

Sin otro particular hago propicia la ocasión para reiterarle la muestra de mi consideración y estima personal.

Atentamente,


 REGIÓN LA LIBERTAD
 GERENCIA REGIONAL DE SALUD
 HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO
 M.C. KEENE K. ARAUJO PAREDES
 JEFE DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE
 C.M.P. 63899 RNE: 33462

"Juntos por la Prosperidad"

Hospital Belén de Trujillo Jr. Bolívar N° 350 – Trujillo Centro Histórico
 Banco de Sangre Correo: bancodesangre@hbt.gob.pe Teléfono: 044-480200 Anexo N° 197
 Página Web: www.hbt.gob.pe

C. Instructivo inserto en reactivo de enzima inmunoensayo para detección de Anticore total (anti-HBc)

HBcAb

Ensayo inmunoenzimático competitivo (ELISA) para la determinación de anticuerpos frente al Antígeno core del virus de la Hepatitis B en plasma y suero humanos

Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro"



DIA.PRO

**Diagnostic Bioprobes Srl
Via G. Carducci n° 27
20099 Sesto San Giovanni
(Milán) - Italia**

Teléfono +39 02 27007161

Fax +39 02 26007726

e-mail: info@diapro.it

REF. BCAB.CE
96 pruebas

HBcAb

A. OBJETIVO DEL EQUIPO.

Ensayo inmunoenzimático competitivo (ELISA) para la determinación de anticuerpos frente al antígeno core del virus de la Hepatitis B en plasma y suero.

El equipo está diseñado para el cribado en unidades de sangre y para el seguimiento de los pacientes infectados con HBV.

Uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".

B. INTRODUCCIÓN.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infección por el virus de la Hepatitis B como:

"La Hepatitis B es una de las enfermedades más importantes que aquejan a la humanidad y constituye un problema de salud pública global. El término hepatitis significa inflamación del hígado, y la causa más común es la infección por uno de los cinco virus, denominados A, B, C, D y E. Estos virus pueden causar una enfermedad aguda cuyos síntomas persisten por varias semanas, se caracterizan por el color amarillo de la piel y los ojos (ictericia); orina oscura; fatiga extrema; náuseas; vómitos y dolor abdominal. La recuperación puede tardar de varios meses a un año. Los virus de la Hepatitis son causantes de infecciones crónicas en las que el paciente nunca se libera del virus e incluso, años más tarde, desarrolla cirrosis hepática o cáncer de hígado.

El tipo más serio de hepatitis viral es la causada por el HBV, siendo el único tipo, de los que provocan infección crónica, para el cual existe una vacuna disponible. El virus de la Hepatitis B se transmite por contacto con sangre o fluidos corporales de personas infectadas, de la misma forma que el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), agente causal del SIDA. Sin embargo, el HBV es entre 50 y 100 veces más infeccioso que el HIV. Las principales vías de transmisión del HBV son: (a) vía perinatal (transmisión de madre a hijo durante el parto); (b) de niño a niño; (c) mediante inyecciones y transfusiones inseguras (d) por contacto sexual.

A nivel mundial, la mayor parte de las infecciones ocurre de madre infectada a hijo, de niño a niño en hogares infantiles y por la reutilización de agujas y jeringuillas sin previa esterilización. En muchos países desarrollados (Europa Occidental y Norteamérica), el patrón de transmisión es diferente. En estos países, la transmisión de madre a hijo y de niño a niño representaban cerca de un tercio de las infecciones crónicas antes de que se implantara el programa de vacunación infantil. Sin embargo, la mayoría de las infecciones en estos países se adquiere por la actividad sexual durante la adolescencia, y por el consumo de drogas inyectables. Por otra parte, el virus de la hepatitis B constituye el principal riesgo en el trabajo, dentro del colectivo de los profesionales de la salud, motivo por el cual se ha aplicado la vacunación para la protección de los mismos.

El virus de la hepatitis B no se trasmite por la comida o agua contaminadas, ni por contactos casuales en el ámbito laboral. En zonas del Este y Centro de Europa se han encontrado tasas elevadas de infección crónica por HBV. En el Asia Central y en regiones de la India, aproximadamente el 5% de la población está infectada de forma crónica, mientras que en Europa Occidental y Norteamérica, los índices son menores del 1%.

Los niños infectados con HBV, constituyen el grupo más susceptible a la infección crónica. Aproximadamente el 90% de los niños infectados durante el primer año de vida y entre el 30 y el 50% de los niños infectados entre 1 y 4 años, desarrollan este tipo de infección. La mortalidad por cáncer de hígado o cirrosis asociados al HBV es cerca del 25%, entre las personas que han adquirido la infección crónica en la niñez. En determinado grupo de pacientes, la hepatitis B crónica es tratada con interferones o lamivudinas, lo cual puede ayudar en

ocasiones. En algunos casos de cirrosis se han realizado trasplantes de hígado, pero el resultado ha sido variable.

La prevención de esta enfermedad a través de la vacunación, constituye la mejor opción. La vacuna contra la Hepatitis B tiene índices de seguridad y eficacia demostrados. A partir de 1982, han sido administradas mundialmente, alrededor de un billón de dosis. Se aplica por vía intramuscular en series de tres dosis. Los estudios realizados demuestran un 95% de eficacia en la prevención de la infección crónica en niños y adultos sin infección previa. En muchos países donde el índice de infección crónica en niños oscila entre 8% y 15%, se ha observado una reducción a menos del 1% en grupos de niños inmunizados. Desde 1991, la OMS ha hecho un llamamiento para la introducción de la vacuna contra la hepatitis B en todos los programas nacionales de vacunación."

El antígeno core del virus de la Hepatitis B (HBcAg) es el elemento principal del núcleo viral. Está compuesto por un polipéptido simple de 17 kD, el cual es liberado en el proceso de disgregación de la partícula viral. Este antígeno contiene al menos un determinante inmunogénico. Durante la infección primaria, los anticuerpos anti-HbcAg, son unos de los primeros marcadores del HBV que aparecen en el suero, poco antes de que aparezca el antígeno de superficie (HBsAg). Los títulos de anticuerpos producidos contra HBcAg son altos y pueden ser detectados incluso varios años después de la infección. Debido a su presencia en bolsas de sangre de donantes se ha implementado esta técnica para el cribado en las unidades de sangre.

La determinación de HBcAb es de gran importancia para la clasificación del agente viral en suero y plasma, conjuntamente con la detección del resto de los marcadores de la infección por HBV.

C. PRINCIPIOS DEL ENSAYO.

El ensayo es de tipo competitivo, donde los anticuerpos de la muestra compiten con un anticuerpo monoclonal por el antígeno de la fase sólida.

Los pocillos de la placa están recubiertos con el antígeno core del virus de la hepatitis B, obtenido por vía recombinante y purificado.

El suero/plasma de los pacientes se añade a los pocillos conjuntamente a una solución capaz de bloquear interferencias que puedan deberse a la naturaleza de la muestra.

A continuación, previo lavado que elimina los componentes no fijados de la muestra, se adiciona un anticuerpo monoclonal anti-HBcAg conjugado con Peroxidasa (HRP), el cual se une a cualquier traza de antígeno remanente en la placa.

Después de una segunda incubación, los pocillos son lavados para eliminar el conjugado en exceso, luego se añade el sustrato cromogénico, que en presencia de la peroxidasa es hidrolizado a un producto final con color.

La intensidad del color es inversamente proporcional a la presencia de anticuerpos al HBcAg presentes en la muestra.

D. COMPONENTES.

Cada equipo contiene reactivos suficientes para realizar 96 pruebas.

1. Microplaca **MICROPLATE**

12 tiras de 8 pocillos recubiertos con HBcAg recombinante, en bolsas selladas con desecante. Se deben poner las placas a temperatura ambiente antes de abrirlas, sellar las tiras sobrantes en la bolsa con el desecante y almacenar a 2-8°C.

2. Control Negativo **CONTROL-**

1x1.0ml/vial. Listo para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino, tampón fosfato 10 mM pH 7.4 +/- 0.1, además de azida sódica 0.09% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control negativo está codificado con el color amarillo pálido.

3. Control Positivo **CONTROL +**

1x1.0ml/vial. Listo para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino, anticuerpos anti HBcAg a una concentración aproximada de 10 PEI U/ml, (Calibrado según PEI HBC Reference Material 82), tampón fosfato 10 mM pH 7.4 +/- 0.1, además de azida sódica 0.09% y Kathon GC 0.1% como conservantes. El control positivo está codificado con el color verde.

4. Calibrador **CAL ...**

vial n° 1. Liofilizado. Para disolver en agua calidad EIA como se indica en la etiqueta. Contiene suero fetal bovino, anticuerpos humanos al HBcAg en una concentración de 2 PEI U/ml +/- 10% (Calibrado según PEI HBC Reference Material 82) y Kathon GC 0.1% como conservante.

Nota: El volumen necesario para disolver el contenido del frasco, varía en cada lote. Se recomienda usar el volumen indicado en la etiqueta.

5. Tampón de Lavado Concentrado **WASHBUF 20X**

1x60ml/botella. Solución concentrada 20x. Una vez diluida, la solución de lavado contiene tampón fosfato 10 mM a pH 7.0 +/- 0.2, Tween 20 al 0.05% y Kathon GC al 1%.

6. Conjugado **CONJ**

1x16ml/vial. Solución lista para el uso. Contiene 5% de albúmina de suero bovino, tampón Tris 10mM a pH 6.8 +/- 0.1, anticuerpo monoclonal de ratón anti-HBcAg conjugado con peroxidasa (HPR) en presencia de 0.3 mg/ml de sulfato de gentamicina y Kathon GC 0.1% como conservantes. El conjugado está codificado con el color rojo.

7. Cromógeno/Substrato **SUBS TMB**

1x16ml/vial. Contiene una solución tamponada citrato-fosfato 50 mM pH 3.6 +/- 0.1, tetra-metil-benzidina (TMB) 0.03% y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 0.02% así como dimetilsulfóxido 4%.

Nota: Evitar la exposición a la luz, ya que la sustancia es fotosensible.

8. Diluyente de muestras **DILSPE**

4x3ml/vial. Contiene una solución tamponada Tris 10 mM pH 8.0 +/- 0.1 y Kathon GC 0.1% para el pretratamiento de las muestras y controles en la placa, así como para bloquear inespecificidades.

Nota: Use todo el contenido del vial antes de abrir un segundo. El reactivo es sensible a oxidación.

9. Ácido Sulfúrico: **H₂SO₄ 0.3 M**

1x15ml/vial. Contiene solución de H₂SO₄ 0.3M
Atención: Irritante (Xi R36/38; S26/30)

10. Sellador adhesivo, n° 2**11. Manual de instrucciones, n° 1****E. MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS.**

1. Micropipetas calibradas (100µl y 50µl) y puntas plásticas desechables.
2. Agua de calidad EIA (Bidestilada o desionizada, tratada con carbón para remover químicos oxidantes usados como desinfectantes).
3. Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
4. Papel absorbente.
5. Incubador termostático de microplacas ELISA, calibrado (en seco o húmedo) fijo a 37°C.
6. Lector calibrado de microplacas de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y de 620-630 nm.
7. Lavador calibrado de microplacas ELISA.
8. Vórtex o similar.

F. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

1. El equipo debe ser usado por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un doctor responsable del laboratorio.
2. Cuando el equipo es usado para cribado en unidades de sangre, el laboratorio debe estar certificado y calificado para realizar este tipo de análisis (Ministerio de Salud o entidad similar).
3. Todas las personas encargadas de la realización de las pruebas deben llevar las ropas protectoras adecuadas de laboratorio, guantes y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). El personal debe ser adiestrado en procedimientos de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
4. Todo el personal involucrado en el manejo de muestras debe estar vacunado contra HBV y HAV, para lo cual existen vacunas disponibles, seguras y eficaces.
5. Se debe controlar el ambiente del laboratorio para evitar la contaminación de los componentes con polvo o agentes microbianos cuando se abran los equipos, así como durante la realización del ensayo. Evitar la exposición del sustrato a la luz y las vibraciones de la mesa de trabajo durante el ensayo.
6. Conservar el equipo a temperaturas entre 2-8 °C, en un refrigerador con temperatura regulada o en cámara fría.
7. No intercambiar reactivos de diferentes lotes ni tampoco de diferentes equipos.
8. Comprobar que los reactivos no contienen precipitados ni agregados en el momento del uso. De darse el caso, informar al responsable para realizar el procedimiento pertinente.
9. Evitar contaminación cruzada entre muestras de suero/plasma usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
10. Evitar contaminación cruzada entre los reactivos del equipo usando puntas desechables y cambiándolas después de cada uso.
11. No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en el equipo e internamente en los reactivos.
12. Tratar todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras de suero humano deben ser manipuladas al nivel 2 de bioseguridad, según ha sido recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.
13. Se recomienda el uso de material plástico desechable para la preparación de las soluciones de lavado y para la transferencia de los reactivos a los diferentes equipos automatizados a fin de evitar contaminaciones.
14. Los desechos producidos durante el uso del equipo deben ser eliminados según lo establecido por las directivas nacionales y las leyes relacionadas con el tratamiento de los residuos químicos y biológicos de laboratorio. En particular, los desechos líquidos provenientes del proceso de lavado deben ser tratados como potencialmente infecciosos y deben ser inactivados. Se recomienda la inactivación con lejía al 10% de 16 a 18 horas o el uso de la autoclave a 121°C por 20 minutos.
15. En caso de derrame accidental de algún producto, se debe utilizar papel absorbente embebido en lejía y posteriormente en agua. El papel debe eliminarse en contenedores designados para este fin en hospitales y laboratorios.
16. El ácido sulfúrico es irritante. En caso de derrame, se debe lavar la superficie con abundante agua.
17. Otros materiales de desecho generados durante la utilización del equipo (por ejemplo: puntas usadas en la manipulación de las muestras y controles, microplacas usadas) deben ser manipuladas como fuentes potenciales

de infección de acuerdo a las directivas nacionales y leyes para el tratamiento de residuos de laboratorio.

G. MUESTRA: PREPARACIÓN Y RECOMENDACIONES.

1. Extraer la sangre asépticamente por punción venosa y preparar el suero o plasma según las técnicas estándar de los laboratorios de análisis clínico. No se ha detectado que el tratamiento con citrato, EDTA o heparina afecte las muestras.
2. Evitar el uso de conservantes, en particular azida sódica, ya que pudiera afectar la actividad enzimática del conjugado.
3. Las muestras deben estar identificadas claramente mediante código de barras o nombres, a fin de evitar errores en los resultados. Cuando el equipo se emplea para el cribado en unidades de sangre, se recomienda el uso del código de barras.
4. Las muestras hemolizadas (color rojo) o hiperlipémicas (aspecto lechoso) deben ser descartadas para evitar falsos resultados, al igual que aquellas donde se observe la presencia de precipitados, restos de fibrina o filamentos microbianos.
5. Suero y plasma pueden conservarse hasta 5 días, a partir del momento de la extracción, a una temperatura entre 2 y 8°C. Para periodos de conservación más largos, las muestras deben almacenarse a -20°C, evitando después descongelar cada muestra más de una vez.
6. Si hay presencia de agregados, la muestra se puede aclarar mediante centrifugación a 2000 rpm durante 20 minutos o por filtración con un filtro de 0,2-0,8 micras.

H. PREPARACIÓN DE LOS COMPONENTES Y PRECAUCIONES.

Según estudios realizados, no se ha detectado pérdida relevante de actividad en equipos abiertos, en uso por un periodo de hasta 6 meses.

1. Microplacas:

Dejar la microplaca a temperatura ambiente (aprox. 1 hora) antes de abrir el envase. Compruebe que el desecante no esté de un color verde oscuro, lo que indicaría un defecto de conservación. De ser así, debe solicitar el servicio de Dia.Pro: atención al cliente.

Las tiras de pocillos no utilizadas, deben guardarse herméticamente cerradas en la bolsa de aluminio con el desecante a 2-8°C. Una vez abierto el envase, las tiras sorbantes, se mantienen estables hasta que el indicador de humedad dentro de la bolsa del desecante cambie de amarillo a verde.

2. Control Negativo:

Listo para el uso. Mezclar bien con la ayuda de un vórtex, antes de usar.

3. Control Positivo:

Listo para el uso. Mezclar bien con la ayuda de un vórtex, antes de usar.

4. Calibrador:

Añadir al polvo liofilizado el volumen de agua de calidad ELISA indicado en la etiqueta. Dejar disolver totalmente y mezclar suavemente en el vórtex.

Nota: Una vez reconstituida, la solución no es estable. Se recomienda mantenerla congelada en alícuotas a -20°C.

5. Solución de Lavado Concentrada:

Todo el contenido de la solución concentrada 20x debe diluirse con agua bidestilada y mezclarse suavemente antes de usarse. Durante la preparación evitar la formación de espuma y burbujas, lo que podría influir en la eficiencia de los ciclos de lavado.

Nota: Una vez diluida, la solución es estable por una semana a temperaturas entre +2 y 8°C.

6. Conjugado:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar. Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios. En caso de que deba transferirse el reactivo, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

7. Cromógeno/ Substrato:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar. Evitar posible contaminación del líquido con oxidantes químicos, polvo o microbios. Evitar la exposición a la luz, agentes oxidantes y superficies metálicas. En caso de que deba transferirse el reactivo, usar contenedores de plástico, estériles y desechables, siempre que sea posible.

8. Diluyente de muestras :

Solución lista para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar. Use todo el contenido del vial antes de abrir un segundo. El reactivo es sensible a oxidación.

9. Ácido Sulfúrico:

Listo para el uso. Mezclar bien con un vórtex antes de usar.

Atención: Irritante (Xi R36/38; S2/26/30)

Leyenda:

R 36/38 = Irritante a los ojos y la piel.

S2/26/30 = En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y consultar un médico.

I. INSTRUMENTOS Y EQUIPAMIENTO UTILIZADOS EN COMBINACIÓN CON EL EQUIPO.

1. Las micropipetas deben ser calibradas para dispensar correctamente el volumen requerido en el ensayo y sometidas a una descontaminación periódica de las partes que pudieran entrar accidentalmente en contacto con la muestra (etanol 70%, lejía 10%, de calidad de los desinfectantes hospitalarios). Deben además, ser regularmente revisadas para mantener una precisión del 1% y una confiabilidad de +/- 2%.
2. La incubadora de ELISA debe ser ajustada a 37°C (+/- 0.5°C) y controlada periódicamente para mantener la temperatura correcta. Pueden emplearse incubadoras secas o baños de agua siempre que estén validados para la incubación de pruebas de ELISA.
3. El lavador de ELISA es extremadamente importante para la realización del ensayo. Antes de emplearse en los ensayos de rutina del laboratorio, debe ser cuidadosamente optimizado y validado usando los controles y paneles de referencia pertinentes. Para asegurar que el ensayo se realiza conforme lo esperado, normalmente basta con 4-5 ciclos de lavado (aspiración + dispensado de 350µl/pocillo de solución de lavado = 1 ciclo). Se recomienda un tiempo entre ciclos de 20-30 segundos. Para establecer correctamente el número de lavados se recomienda efectuar el ensayo con los controles del equipo, el calibrador así como sueros positivos y negativos de referencia tratando de ajustarlos a los valores indicados en las secciones "Control interno de calidad" y "Procedimiento del ensayo". La calibración periódica del volumen a dispensar (descontaminación y lavado de las agujas) debe hacerse según las instrucciones del fabricante.
4. Los tiempos de incubación deben tener un margen de +/-5%.
5. El lector de microplacas ELISA debe estar provisto de un filtro de lectura de 450nm y de un segundo filtro (620-630nm, recomendado) para reducir interferencias en la lectura. El procedimiento estándar debe contemplar: a) Ancho de banda <= 10 b) Rango de absorbancia de 0 a >=2.0, c) Linealidad >=2.0, reproducibilidad >=1%. El

blanco se prueba en el pocillo indicado en la sección "Procedimiento del ensayo". El sistema óptico del lector debe ser calibrado periódicamente para garantizar la correcta medición de la densidad óptica, según las normas del fabricante.

- En caso de usar un sistema automatizado de ELISA, los pasos críticos (dispensado, incubación, lavado, lectura, agitación y procesamiento de datos) deben ser cuidadosamente fijados, calibrados, controlados y periódicamente ajustados, para garantizar los valores indicados en las secciones "Control interno de calidad" y "Procedimiento del ensayo". El protocolo del ensayo debe ser instalado en el sistema operativo de la unidad y validado tanto para el lavador como para el lector. Por otro lado, la parte del sistema que maneja los líquidos (dispensado y lavado) debe ser validada y fijada correctamente. Debe prestarse particular atención a evitar el arrastre por las agujas de dispensación y las de lavado, a fin de minimizar la posibilidad de ocurrencia de falsos positivos por contaminación de los pocillos adyacentes por muestras fuertemente reactivas. Se recomienda el uso de sistemas automatizados para el cribado en unidades de sangre y cuando la cantidad de muestras supera las 20-30 unidades por ensayo.
- El servicio de atención al cliente en Dia.Pro, ofrece apoyo al usuario para calibrar, ajustar e instalar los equipos a usar en combinación con el equipo, con el propósito de asegurar el cumplimiento de los requerimientos descritos.

L. OPERACIONES Y CONTROLES PREVIOS AL ENSAYO.

- Compruebe la fecha de caducidad indicada en la parte externa del equipo (envase primario). No usar si ha caducado.
- Compruebe que los componentes líquidos no están contaminados con partículas o agregados visibles. Asegúrese de que el cromógeno (TMB) es incoloro o azul pálido, aspirando un pequeño volumen de este con una pipeta estéril de plástico. Compruebe que no han ocurrido rupturas ni derrames de líquido dentro de la caja (envase primario) durante el transporte. Asegurarse de que la bolsa de aluminio que contiene la microplaca no esté rota o dañada.
- Diluir totalmente la solución de lavado concentrada 20X, como se ha descrito anteriormente.
- Disolver el Calibrador como se ha descrito anteriormente y mezclar suavemente usando un vórtex.
- Dejar los componentes restantes alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 1 hora), mezclar luego suavemente en el vórtex todos los reactivos líquidos.
- Ajustar la incubadora de ELISA a 37°C y cebar el lavador de ELISA utilizando la solución de lavado, según las instrucciones del fabricante. Fijar el número de ciclos de lavado de acuerdo a los parámetros de validación del instrumento para usar con el equipo.
- Comprobar que el lector de ELISA esté conectado al menos 20 minutos antes de realizar la lectura.
- En caso de trabajar automáticamente, conectar el equipo y comprobar que los protocolos estén correctamente programados.
- Comprobar que las micropipetas estén fijadas en el volumen requerido.
- Asegurarse de que el equipamiento a usar esté en perfecto estado, disponible y listo para el uso.
- En caso de surgir algún problema, se debe detener el ensayo y avisar al responsable.

M. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

El ensayo debe realizarse según las instrucciones que siguen a continuación, es importante mantener en todas las muestras el mismo tiempo de incubación.

- Poner el número necesario de tiras en el soporte plástico e identificar cuidadosamente los pocillos para los controles, calibrador y muestras.
- Dejar el pocillo A1 vacío para el blanco.
- Dispensar 50µl de Diluyente de Muestras en todos los pocillos para muestras y controles & calibrador.
- Dispensar 50µl del Control Negativo, por triplicado, 50µl de Calibrador, por duplicado, y 50µl del Control Positivo. Posteriormente, añadir 50µl de cada muestra.
- Incubar la microplaca durante **60 minutos a +37°C**.

Nota importante: Las tiras se deben sellar con el adhesivo suministrado solo cuando se hace la prueba manualmente. No sellar cuando se emplean equipos automatizados de ELISA.

- Después de la primera incubación, lavar los pocillos según lo descrito previamente (sección I.3).
- Dispensar 100µl de Conjugado en todos los pocillos, excepto A1; incubar la microplaca durante **60 minutos a +37°C**.

Nota importante: Tener cuidado de no tocar la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta al dispensar el conjugado. Podría producirse contaminación.

- Después de la segunda incubación, lavar los pocillos según lo descrito previamente (sección I.3).
- Dispensar 100µl del Cromógeno/Substrato en todos los pocillos, incluido el A1.

Nota importante: No exponer directamente a fuerte iluminación, de lo contrario se generan interferencias.

- Incubar la microplaca protegida de la luz a **temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos**. Los pocillos con Control Negativo y muestras negativas deben pasar de un tono claro a azul, (método competitivo).
- Dispensar 100µl de ácido sulfúrico en todos los pocillos para detener la reacción enzimática, usar la misma secuencia que en el paso 9. La adición de la solución de parada cambia el color del Control Negativo y las muestras negativas de azul a amarillo.
- Medir la intensidad del color de la solución en cada pocillo, según se indica en la sección I.5, con un filtro de 450 nm (lectura) y otro de 620-630 nm (substracción del fondo, recomendado), calibrando el instrumento con el pocillo A1 (blanco).

Notas importantes:

- Si no se puede utilizar el segundo filtro, asegurarse de que no hay impresiones digitales en el fondo de los pocillos antes de leer a 450nm. Podrían generarse falsos positivos en la lectura.
- La lectura debe hacerse inmediatamente después de añadir la solución de parada y, en cualquier caso, nunca transcurridos 20 minutos después de su adición. Se podría producir auto oxidación del cromógeno causando un elevado fondo.

N. ESQUEMA DEL ENSAYO.

Diluyente de Muestras	50 ul
Controles&Calibrador y muestras	50 ul
1^{ra} incubación	60 min
Temperatura	+37°C
Lavado	n° 4-5
Conjugado	100 ul
2^{da} incubación	60 min
Temperatura	+37°C
Lavado	n° 4-5
Mezcla TMB/H ₂ O ₂	100 ul
3^{ra} incubación	20 min
Temperatura	t.a.*
Acido Sulfúrico	100 ul
Lectura D.O.	450nm

t.a.*Temperatura ambiente

A continuación se describe un ejemplo del esquema de dispensado:

Microplaca

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	M2										
B	CN	M3										
C	CN	M4										
D	CN	M5										
E	CAL	M6										
F	CAL	M7										
G	CP	M8										
H	M1	M9										

Leyenda: BL = Blanco CN = Control Negativo
CAL = Calibrador CP = Control Positivo M = Muestra

O. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

Se realiza un grupo de pruebas con los controles/calibrador cada vez que se usa el equipo para verificar si los valores DO450nm o Co/M son los esperados.

Asegurar el cumplimiento de los siguientes parámetros:

Parámetro	Exigencia
Pocillo Blanco	Valor < 0.050 DO450nm
Control Negativo (CN)	Valor > 1.000 DO450nm después de leer el blanco Coeficiente de variación < 20%
Calibrador (aprox. 2 PEI U/ml)	Co/M > 1
Control Positivo	Valor < 0.200 DO450nm

Si los resultados del ensayo coinciden con lo establecido anteriormente, pase a la siguiente sección.

En caso contrario, no siga adelante y compruebe:

Problema	Compruebe que
Pocillo blanco > 0.050 DO450nm	la solución cromógeno/substrato no se ha contaminado durante el ensayo.
Control Negativo (CN) < 1.000DO450nm después de leer el blanco Coeficiente de variación > 20%	1. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 2. se ha usado la solución de lavado apropiada y que el lavador ha sido cebado con la misma antes del uso. 3. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control positivo en lugar del negativo). 4. no ha existido contaminación del control negativo o de sus pocillos debido a muestras positivas derramadas, o al conjugado. 5. las micropipetas no se han contaminado con muestras positivas o con el conjugado.

	6. las agujas del lavador no estén parcial o totalmente obstruidas.
Calibrador Co/M < 1	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no ha habido errores durante su distribución (dispensar el control negativo en lugar del calibrador). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del calibrador.
Control Positivo > 0.200DO450nm	1. el procedimiento ha sido realizado correctamente. 2. no se han cometido errores en el procedimiento (dispensar el control positivo en lugar del negativo). 3. el proceso de lavado y los parámetros del lavador estén validados según los estudios previos de calificación. 4. no ha ocurrido contaminación externa del control positivo.

Si ocurre alguno de los problemas anteriores, informe al responsable para tomar las medidas pertinentes.

P. RESULTADOS.

Los resultados se calculan por medio de un valor de corte (cut-off) hallado con la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de corte} = (\text{CN} + \text{CP}) / 5$$

Nota importante: Cuando el cálculo de los resultados se halla mediante el sistema operativo de un equipo de ELISA automático, asegurarse de que la formulación usada para el cálculo del valor de corte, y para la interpretación de los resultados sea correcta.

Q. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La interpretación de los resultados se realiza mediante la razón entre el Valor de corte y las DO a 450nm de las muestras (Co/M).

Los resultados se interpretan según la siguiente tabla:

Co/M	Interpretación
< 0.9	Negativo
0.9 - 1.1	Equivoco
> 1.1	Positivo

Un resultado negativo indica que el paciente no está infectado por HBV.

Cualquier paciente, cuya muestra resulte equivocada debe someterse a una nueva prueba con una segunda muestra de sangre colectada 1 ó 2 semanas después de la inicial. En este caso la unidad de la sangre no debe ser transfundida.

Un resultado positivo es indicativo de infección por HBV y por consiguiente el paciente debe ser tratado adecuadamente. La unidad de la sangre debe ser descartada.

Notas importantes:

1. La interpretación de los resultados debe hacerse bajo la vigilancia del responsable del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y de interpretación.
2. Cuando se transmiten los resultados de la prueba, del laboratorio a otras instalaciones, debe ponerse mucha atención para evitar el traslado de datos erróneos.
3. El diagnóstico de infección con un virus de la hepatitis debe ser evaluado y comunicado al paciente por un médico calificado.

A continuación, un ejemplo de los cálculos a realizar:

Los siguientes datos no deben usarse en lugar de los valores reales obtenidos en el laboratorio.

Doc.:	INS BCAB.CE/esp	Page	7 of 8	Rev.: 1	06/2014
-------	-----------------	------	--------	---------	---------

Control Negativo: 2.000 – 2.200 – 2.000 DO 450nm
 Valor medio: 2.100 DO 450nm
 Mayor de 1.000 – Válido

Control Positivo: 0.100 DO 450nm
 Menor de 0.200 – Válido

Valor de corte = $(2.100 + 0.100) / 5 = 0.440$

Calibrador: 0.400-0.360 DO 450nm
 Valor medio: 0.380 DO 450nm

Co/M > 1 – Válido

Muestra 1: 0.028 DO 450nm

Muestra 2: 1.890 DO 450nm

Muestra 1 Co/M > 1.1 positiva

Muestra 2 Co/M < 0.9 negativa

R. FUNCIONAMIENTO.

La evaluación del funcionamiento ha sido realizada según lo reportado en las Especificaciones Técnicas Comunes (ETC) (art. 5, Capítulo 3 de las Directivas IVD 98/79/EC).

1. Límite de detección.

La sensibilidad del ensayo ha sido calculada por medio de una preparación estándar de referencia para HbCAb suministrada por el Instituto Paul Ehrlich (PEI HbC Reference Material 82). El ensayo muestra una sensibilidad de aproximadamente 1.25 PEI U/ml.

La siguiente tabla muestra los valores de Co/M para PEI estándar diluido, como se sugiere por el fabricante, para construir la curva de dilución límite en suero fetal bovino (SFB).

PEI U/ml	Lote 1001	Lote 0702	Lote 0702/2	Lote 1202
5	22.6	18.0	19.0	17.7
2.5	8.0	5.5	5.4	5.0
1.25	1.1	1.3	1.0	1.0
0.625	0.4	0.4	0.4	0.4

Se evaluaron además, paneles Accurun 1 – series 3000 – suministrados por Boston Biomedical Inc., Estados Unidos, a fin de determinar sus valores Co/M. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Accurun 1 – series 3000

Valor	Lote 1001	Lote 0702	Lote 1202
S/Co	2.9	2.3	2.2

2. ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICAS.

La evaluación del procedimiento diagnóstico se realizó mediante un ensayo con más de 6000 muestras.

2.1 Especificidad Diagnóstica.

Se define como la probabilidad del ensayo de detectar negativos en ausencia del analito específico. Se examinaron más de 5000 donantes, incluyendo aquellos que lo hacían por vez primera.

En un estudio preliminar se probaron 2023 muestras en relación con la referencia de una compañía norteamericana. Se obtuvo una especificidad del 99.5%. Un segundo estudio con 1588 muestras, comparadas con la referencia de una compañía europea arrojó una especificidad del 99.7%.

En el último estudio, con 1565 muestras, comparadas con la referencia de la misma compañía norteamericana se obtuvo un valor del 99.8%.

Además de las anteriores, se analizaron 206 muestras provenientes de pacientes hospitalizados, contra la referencia

de la compañía europea, en este caso el valor fue de 99.3%. También contra esta referencia se analizaron 164 muestras que pudieran provocar interferencia (por ejemplo: otras enfermedades infecciosas, pacientes afectados por hepatitis no virales, pacientes sometidos a diálisis, mujeres embarazadas, hemofílicos, lipémicos, etc.). La especificidad obtenida fue del 100%.

Se emplearon además plasma sometido a métodos de tratamiento estándar (citrato, EDTA y heparina) y suero humanos. No se ha observado falsa reactividad debida a los métodos de tratamiento de muestras.

2.2 Sensibilidad Diagnóstica.

Se define como la probabilidad del ensayo de detectar positivos en presencia del analito específico.

Se probaron 373 muestras positivas en relación con la referencia de la compañía europea. Se obtuvo una sensibilidad diagnóstica del 99.7%.

3. Precisión.

Se realizó un estudio con 3 lotes y dos muestras de diferente reactividad anti-HbCag, en 16 réplicas, en tres tandas separadas. Los valores medios obtenidos se expresan a continuación:

BCAB.CE: lote # 1202

Control Negativo (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	1.943	1.939	1.924	1.935
Desviación estándar	0.081	0.078	0.103	0.087
CV %	4.2	4.0	5.3	4.5

Calibrador (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.143	0.147	0.148	0.146
Desviación estándar	0.014	0.017	0.018	0.016
CV %	9.8	11.4	12.1	11.1
Co/M	2.8	2.7	2.6	2.7

BCAB.CE: lote # 0702

Control Negativo (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	2.163	2.110	2.106	2.126
Desviación estándar	0.105	0.088	0.139	0.111
CV %	4.9	4.2	6.6	5.2

Calibrador (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.182	0.193	0.195	0.190
Desviación estándar	0.018	0.023	0.019	0.020
CV %	10.0	12.0	9.9	10.6
Co/M	2.5	2.2	2.3	2.3

BCAB.CE: lote# 0702/2

Control Negativo (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	2.278	2.098	2.130	2.169
Desviación estándar	0.135	0.126	0.159	0.140
CV %	5.9	6.0	7.5	6.5

Calibrador (N = 16)

Valores medios	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Valor Promedio
DO 450nm	0.193	0.190	0.199	0.134
Desviación estándar	0.023	0.023	0.027	0.025
CV %	12.1	12.3	13.5	12.6
S/Co	2.4	2.2	2.2	2.3

La variabilidad mostrada en las tablas no dió como resultado una clasificación errónea de las muestras.

S. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación por calor pueden modificar los valores de absorbancia con la consiguiente alteración de los niveles del analito. Este ensayo es adecuado solo para el análisis de muestras individuales y no para mezclas.

El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se debe formular en base al resultado de un solo ensayo, sino que es necesario tomar en consideración la historia clínica y la sintomatología del paciente así como otros datos diagnósticos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Aach R.D., Grisham J.W., Parker S.W.. Proc.Natl.Acad.Sci..USA, 68:1956, 1971.
2. Blumerg B.S., Suinick A.I., London W.T.. Hepatitis and leukemia: their relation to Australia antigen. Bull.N.Y.Acad.Med., 44:1566, 1968.
3. Boniolo A., Dosis M., Matteja R.. J.Immunol.Meth.. 49:1, 1982.
4. Caldwell C.W., Barpet J.T.. Clin.Chim.Acta 81: 305, 1977
5. Fazekas S., De St.Groth, Scheidegger D.. J.Immunol.Meth.. 35: 1, 1980
6. Reesink H.W.. et al.. Vox.Sang.. 39:61, 1980
7. Rook G.A.W., Lepr.Rev. 52: 281, 1981
8. Schroder J.. Med.Biol. 58: 281, 1981
9. Almeida J.D. et al.. Lancet, ii : 1225, 1971
10. Hoofnagle J.H. et al.. Lancet, ii: 869, 1973
11. Hoofnagle J.H. et al.. N.E.J.Med., 290: 1336, 1974
12. Katchaki J.N. et al.. J.Clin.Path., 31: 837, 1978
13. Szmuness W. et al.. Am.J.Epidem., 104 : 256, 1976
14. Grebenchtchikov N. et al.. J.Immunol. Methods, 15(2) :219-231, 2002
15. Schrijver RS and Kramps JA, Rev.Sci.Tech. 17(2):550-561, 1998

Todos los productos de diagnóstico in vitro fabricados por la empresa son controlados por un sistema certificado de control de calidad aprobado por un organismo notificado para el mercado CE. Cada lote se somete a un control de calidad y se libera al mercado únicamente si se ajusta a las especificaciones técnicas y criterios de aceptación de la CE.

Producido por
Dia.Pro Diagnostic Bioprobes s.r.l.
Via G. Carducci n° 27 – Sesto San Giovanni (Mi) – Italia



0318

E. APROBACION DE FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS.

SEDE: HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO – LA LIBERTAD.

1. Resultado de tamizaje por método enzimainmunoensayo para anticore total (anti HBc)
 Reactivo No Reactivo

2. Resultado de tamizaje por método de quimioluminiscencia para anticore total (anti HBc)
 Reactivo. No Reactivo.

3. Genero:
 Masculino. Femenino.

4. Tipos de Donante:
 Voluntario. Reposición.

5. Frecuencia:
 Nuevo. Repetitivo.


REGION LA LIBERTAD
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO
M.C. KEENE K. ARAUJO PAREDES
JEFE DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE
C.M.P. 755800 - T. 051 464601

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado (a) juez experto:

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

CRITERIOS	SI (1)	NO (0)	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuada.	X		
4. Los ítems del instrumento responden a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

A continuación, le presento un cuadro con los ítems del instrumento, los cuales calificará según las 4 alternativas. Marque con una X según su criterio.

ASPECTOS SOCIODEMOGRÁFICOS					
Ítems	A	B	C	D	OBSERVACIONES
01. Resultado de tamizaje método enzimainmunoensayo.	X				
02. Resultado de tamizaje método de quimioluminiscencia.	X				
03. Género.	X				
04. Tipo de predonante.	X				
05. Frecuencia.	X				

Referencia: **A= Dejar** **B= Modificar** **C= Incluir otra pregunta** **D= Eliminar**

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

Observaciones:

.....
.....
.....
.....
.....

Nombre del experto: Keene K. Araujo Paredes

Profesión: Patólogo Clínico

Fecha: 06 de Julio de 2022.

Firma y sello:



.....
M.C. Keene K. Araujo Paredes
Jefe del Servicio de Banco de Sangre
Del Hospital Belén de Trujillo

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS.

SEDE: HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO – LA LIBERTAD.

1. Resultado de tamizaje por método enzimainmunoensayo para anticore total (anti HBc)

 Reactivo No Reactivo

2. Resultado de tamizaje por método de quimioluminiscencia para anticore total (anti HBc)

 Reactivo. No Reactivo.

3. Genero:

 Masculino. Femenino.

4. Tipos de Donante:

 Voluntario. Reposición.

5. Frecuencia:

 Nuevo. Repetitivo.

REGION LA LIBERTAD
DIRECCION REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO

Lc. Cueva Azaña María Francisca
SERVICIO DE PATOLOGIA CLINICA
CTMP N° 08285 . RNE N° 0144

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
 "COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
 ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado (a) juez experto:

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

CRITERIOS	SI (1)	NO (0)	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuada.	X		
4. Los ítems del instrumento responden a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

A continuación, le presento un cuadro con los ítems del instrumento, los cuales calificará según las 4 alternativas. Marque con una X según su criterio.

ASPECTOS SOCIODEMOGRÁFICOS					
Ítems	A	B	C	D	OBSERVACIONES
01. Resultado de tamizaje método enzimainmunoensayo.	X				
02. Resultado de tamizaje método de quimioluminiscencia.	X				
03. Género.	X				
04. Tipo de predonante.	X				
05. Frecuencia.	X				

Referencia: A= Dejar B= Modificar C= Incluir otra pregunta D= Eliminar

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

Observaciones:

.....
.....
.....
.....
.....

Nombre del experto: Silvia Francesca Cueva Araujo

Profesión: Licenciada en Laboratorio y Anatomía Patológica

Fecha: 08 de Julio de 2022.

Firma y sello:



.....
Mg. Silvia Francesca Cueva Araujo
Coordinadora de Laboratorio Central del
Hospital Belén de Trujillo

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS.

SEDE: HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO – LA LIBERTAD.

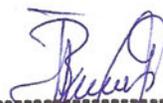
1. Resultado de tamizaje por método enzimainmunoensayo para anticore total (anti HBc)
 Reactivo No Reactivo

2. Resultado de tamizaje por método de quimioluminiscencia para anticore total (anti HBc)
 Reactivo. No Reactivo.

3. Genero:
 Masculino. Femenino.

4. Tipos de Donante:
 Voluntario. Reposición.

5. Frecuencia:
 Nuevo. Repetitivo.


.....
Lic. Jannet Fabiola Ramos Gutiérrez
TECNOLOGO MEDICO
CTMP 8632

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

ESCALA DE CALIFICACIÓN

Estimado (a) juez experto:

Teniendo como base los criterios que a continuación se presenta, se le solicita dar su opinión sobre el instrumento de recolección de datos que se adjunta:

CRITERIOS	SI (1)	NO (0)	OBSERVACIÓN
1. El instrumento recoge información que permite dar respuesta al problema de investigación.	X		
2. El instrumento propuesto responde a los objetivos del estudio.	X		
3. La estructura del instrumento es adecuada.	X		
4. Los ítems del instrumento responden a la operacionalización de la variable.	X		
5. La secuencia presentada facilita el desarrollo del instrumento.	X		
6. Los ítems son claros y entendibles.	X		
7. El número de ítems es adecuado para su aplicación.	X		

A continuación, le presento un cuadro con los ítems del instrumento, los cuales calificará según las 4 alternativas. Marque con una X según su criterio.

ASPECTOS SOCIODEMOGRÁFICOS					
Ítems	A	B	C	D	OBSERVACIONES
01. Resultado de tamizaje método enzimainmunoensayo.	X				
02. Resultado de tamizaje método de quimioluminiscencia.	X				
03. Género.	X				
04. Tipo de predonante.	X				
05. Frecuencia.	X				

Referencia: **A= Dejar** **B= Modificar** **C= Incluir otra pregunta** **D= Eliminar**

UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
"COMPARACIÓN DE MÉTODOS ENZIMAINMUNOENSAYO Y QUIMIOLUMINISCENCIA PARA
ANTICORE EN PREDONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN - TRUJILLO, 2019"

Observaciones:

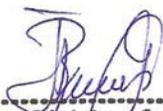
.....
.....
.....
.....
.....

Nombre del experto: Janet Fabiola Ramos Gutiérrez

Profesión: Licenciada en Laboratorio y Anatomía Patológica

Fecha: 08 de Julio de 2022.

Firma y sello:


.....
Lic. Janet Fabiola Ramos Gutiérrez
TECNOLOGO MEDICO
CTMP 8632

.....
Mg. Janet Fabiola Ramos Gutiérrez
Tecnólogo Medico - Laboratorio del
Hospital Regional Docente de Trujillo