

## 4.5 DETERMINACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS EIA DO Y VALORES LÍMITE

Para establecer la densidad óptica (DO) de las microplacas se utiliza un rayo luminoso de cierta longitud de onda y se mide la absorción. Este procedimiento se lleva a cabo con un lector de placas, que es un espectrofotómetro de canales múltiples. Estos equipos registran las DO por valoración secuencial de cada hilera o simultánea de 8 cubetas. Los hallazgos quedan registrados en el lector o pasan a una microcomputador.

El resultado final es un conjunto de números - DO - que luego se convierten en datos positivos y negativos. La figura 27 ilustra los resultados de una investigación de anti-VIH en muestras de suero de donantes de sangre británicos. (En las actividades 16 y 17, el estudiante deber completar las columnas B y C.)

Para interpretar las DO es preciso compararlas con estándares conocidos, es decir, con controles. En general, todos los EIA requieren tres tipos de cálculo. Dos están destinados a definir las DO medias (promedio) de los controles positivos y negativos, que para ser válidas deben encontrarse dentro del rango indicado por el proveedor.

Por último, para saber si una prueba es reactiva o no reactiva, es menester fijar un "límite".

En los EIA de tipo 1 (antiglobulínico) y 3 (en sandwich), la DO elevada, con aparición de color, significa reactivo; la DO baja, sin color, implica no reactivo. Por lo tanto, los valores por encima del límite son reactivos y los ubicados por debajo, no reactivos.

Muestra	A (DO)	B (resultado)	C (valor de la muestra/valor de corte)
1	0.141		
2	0.158		
3	0.903		
4	0.161		
5	0.148		
6	1.321		
7	1.201		
8	1.098		
9	0.139		
10	0.173		
11	0.169		
12	0.145		
C neg	0.156		
C neg	0.167		
C neg	0.157		
C pos	1.352		
C pos	1.283		
A - DO reales de muestras y controles			

<p>B - Resultados positivos y negativos correspondientes (aun no determinados)</p> <p>C - Proporción valor de la muestra/valor de corte: DO muestra/DO valor de corte (aun no determinada)</p>
--

Figura 27: Resultados de un EIA de tipo antiglobulina/sandwich

En el EIA de tipo 2 (competitivo), la DO elevada, con aparición de color, significa no reactivo; la DO baja, sin color, implica reactivo. Por lo tanto, los valores por debajo del límite son reactivos y los ubicados por encima, no reactivos.

La selección del límite es muy importante. A menudo se basa en las DO de control negativas. Se calcula la media de los controles negativos (MCN) y merced una fórmula simple, se obtiene la cifra límite. Por ejemplo:

$$\text{Valor límite} = \text{MCN} + 0,2$$

En la figura 27, la MCN es 0,16. Por lo tanto, el límite es 0,36 (0,16+ 0,2). Todos los resultados superiores a 0,36 son reactivos y los inferiores, no reactivos.

## ACTIVIDAD 15

Revise las DO de la figura 27. Empleando el valor limite recién establecido (0,36), complete la columna B con los resultados finales.

También es factible convertir las DO individuales en una proporción estándar. Esta permite la comparación directa de distintas muestras de una misma prueba o de las mismas muestras analizadas en diferentes pruebas.

Esta proporción estándar o valor de la muestra/valor de corte se determina dividiendo cada DO por el valor límite. Las cifras inferiores a1 significan no reactivo y las superiores, reactivo. En el caso del EIA competitivo la fracción es limite/señal (se divide el valor límite por la DO).

## ACTIVIDAD 16

Revise las DO de la figura 27. Empleando el valor límite recién establecido, complete la columna C con las proporciones valor de la muestra valor de corte.

La figura 28 muestra los resultados de la figura 27 vertidos en un gráfico simple. Se señala el punto límite y se ilustra la distribución de los resultados negativos (no reactivos) y positivos (reactivos).



Figura 28: Resultados del EIA antiglobulínico/en sandwich de la figura 27