

V RESULTADOS

Preparación del antígeno lisado:

1. Los ratones lactantes inoculados con el virus *Phlebotomus fever* presentaron signos de enfermedad al tercer día.

2. Los frascos de cultivo celular (línea Vero E-6) inoculados con *Phlebotomus fever* presentaron efecto citopático: el 40% de las células al segundo día y el 75% al tercer día.

3. En la verificación de la presencia del virus por inmunofluorescencia indirecta; el 50% de las células por campo presentaron fluorescencia para el cultivo cosechado a los dos días y el 80% para el cultivo cosechado a los tres días.

4. El momento óptimo de cosecha para la producción del antígeno lisado en la línea celular Vero es cuando el 75% de las células presentan efecto citopático .

Titulación del antígeno lisado y análisis de muestras:

5. En la estandarización del ensayo inmunoenzimático la dilución óptima del antígeno es de 1:1500 (ver Gráfico 1) y la dilución del conjugado es de 1:8000.

6. De las cuatrocientas muestras convalecientes analizadas procedentes de Iquitos, sesentaicinco resultaron positivas para Elisa (ver Gráfico 2).

Confirmación de los resultados mediante la prueba de PRNT:

Determinación del título viral a utilizar en la prueba:

7. En la titulación de la prueba de neutralización por reducción en placas, la semilla viral producida en la línea celular Vero tiene una dilución de trabajo 1:5000 (ver cuadro 3 y 4); mientras que la producida en ratones lactantes no alcanzó el número de placas requerido.

8. Los resultados entre las placas de doce y las placas de veinticuatro pozos son semejantes en cuanto a tamaño de la placa formada y su aspecto, eligiéndose estas últimas para la prueba de neutralización.

9. El tiempo requerido para la aparición de las placas en la prueba de PRNT es de tres días, en los siguientes días sólo se incrementa en tamaño.

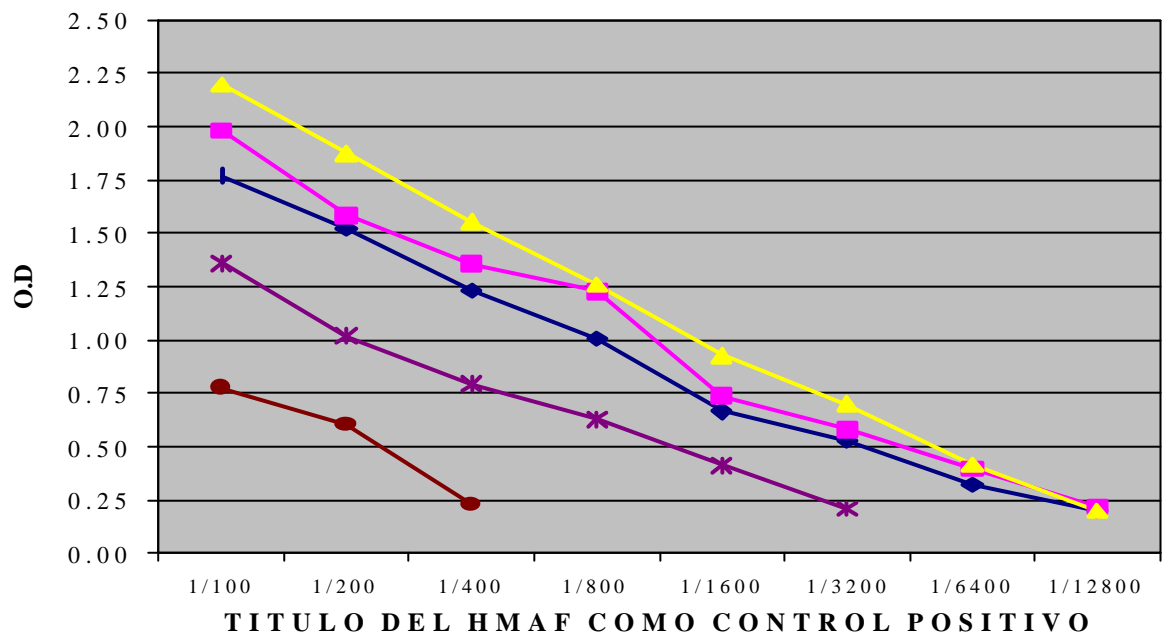
Resultados de la prueba de PRNT:

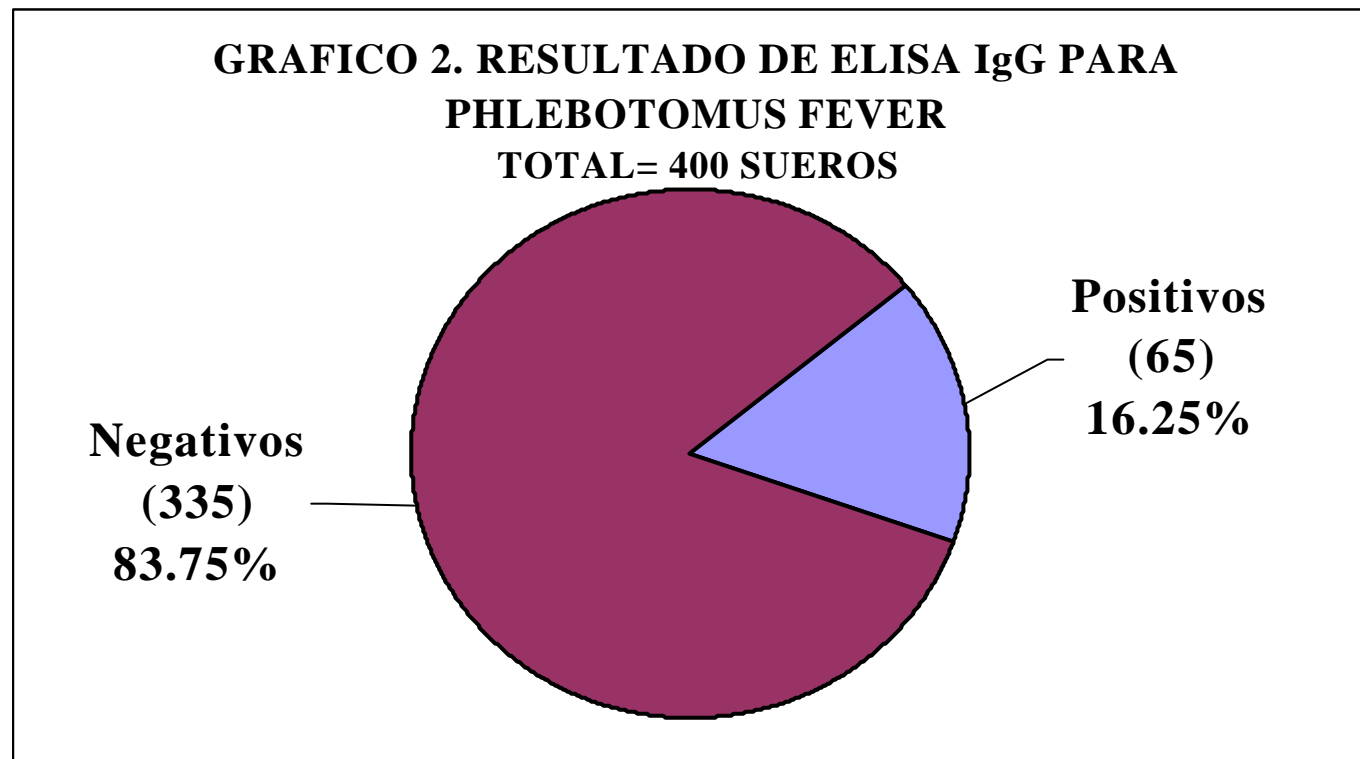
10. De las sesentaicinco muestras positivas para ELISA IgG cincuentiséis (8615%) fueron positivas para PRNT y nueve (13.85%) fueron negativas (ver gráfico 3).

11. La prueba de ELISA tiene una sensibilidad de 98.24% y una especificidad de 83.02% (ver cuadro 5) en relación con la prueba de PRNT.

**GRAFICO 1. TITULACION DEL ANTIGENO DE
PHLEBOTOMUS FEVER**

◆ 1/500 ■ 1/1000 ▲ 1:1500 * 1:3000 ● 1:6000





CUADRO 3. RESULTADOS DE LA PRIMERA TITULACION EN LA PRUEBA DE PLAQUEO

Dilución del virus	Puro	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	Blanco
Número promedio de placas	mnpc*	mnpc	mnpc	42	5	0

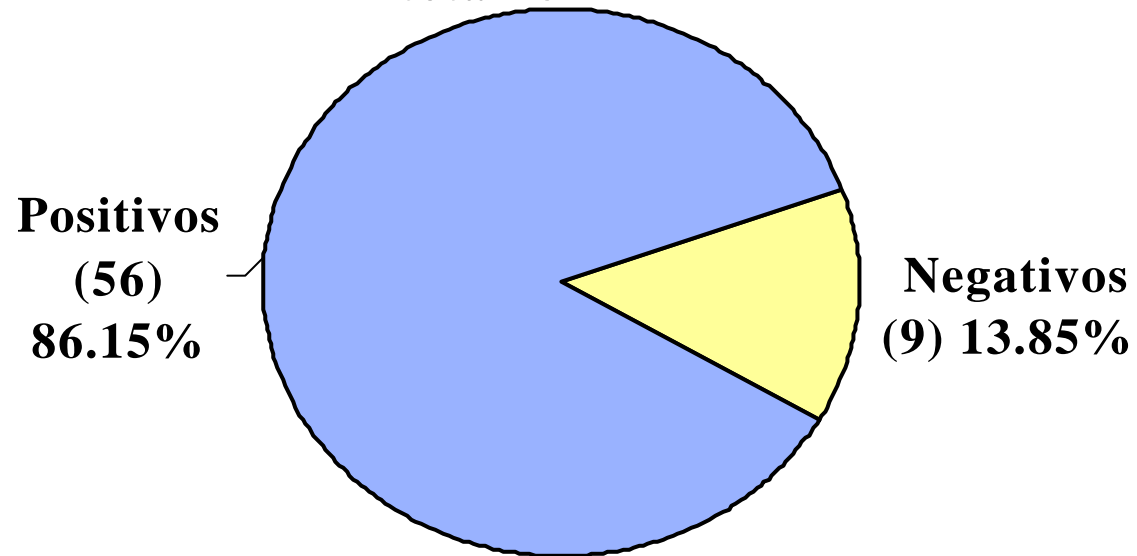
* mnpc : muchos números de placas para contar.

CUADRO 4. RESULTADOS DE LA SEGUNDA TITULACION EN LA PRUEBA DE PLAQUEO

Dilución del virus	2×10^{-3}	3×10^{-3}	4×10^{-3}	5×10^{-3}	6×10^{-3}	Blanco
Número promedio de placas	34	20	15	12	8	0

**GRAFICO 3. RESULTADOS DE PRNT PARA
MUESTRAS POSITIVAS EN ELISA PARA
PHLEBOTOMUS FEVER**

total=65 SUEROS



**CUADRO 5. ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD DEL ELISA
DESARROLLADO PARA PHLEBOTOMUS FEVER**

ELISA	PRNT		
	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
POS (+)	56	9	65
NEG (-)	1	44	45
TOTAL	57	53	110

SENSIBILIDAD : 98.24%

ESPECIFICIDAD : 83.02%

VALOR PREDICTIVO POSITIVO : 86.15%

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO : 97.78%