

Anticuerpo a hepatitis C: ¿verdadero o falso positivo? Nuevas estrategias de diagnóstico

Ana María Contreras*

* UMAE, Hospital de Especialidades CMNO. Delegación Jalisco del Instituto Mexicano del Seguro Social.

CASO CLÍNICO 1

Hombre de 53 años, casado, jardinero, padre con cirrosis hepática. Alcoholismo 1 L de cerveza al día durante 20 años. En 1994 se le realizó cirugía de mano derecha por lesión traumática. En el 2004 acude al banco de sangre para realizar donación. En la prueba de escrutinio se reporta anticuerpo a hepatitis C (Anti-HCV) positivo con densidad óptica del ensayo inmunoenzimático (EIA-OD) de 32.5 y 32.3 (técnica de quimioluminiscencia). Prueba de RNA HCV (RT-PCR) cualitativa positiva. PHFs: ALT 70 y 64 (dos determinaciones). Bilirrubina total 1.10, bilirrubina directa 1, bilirrubina indirecta 0.1, proteínas totales 6.9, albúmina 4, globulina 3, relación A/G 1.10. Prueba de RNA HCV cuantitativa > 500,000 UI/mL, genotipo 1b. Biopsia hepática con hepatitis crónica con actividad moderada y fibrosis moderada (Metavir A2 F2). Diagnóstico de hepatitis C. TSH 1.99, T4 libre 1.20, Hb 13.2, leucocitos 6,800, plaquetas 203,000 y colesterol total 153. Inició tratamiento con peginterferón alfa 2a 180 mcg sc cada semana y ribavirina 1,000 mg/día (peso < 75 kg). La prueba de RNA HCV cualitativa negativa a las 12 semanas de tratamiento. Presentó prurito generalizado de predominio en zonas expuestas y úlceras orales al 4to. mes de tratamiento. Se consultó al Departamento de Dermatología. A la exploración física con lesiones eritematosas pruriginosas en sitios expuestos al sol (cara, región extensora de extremidades superiores y labios) y

pápulas eritematosas en piernas. Se establece el diagnóstico de dermatosis fotosensible, probable fotoalergia secundaria a uso de peginterferón. Recibió tratamiento con cloroquina, hidrocortisona y clioquinol. Se disminuyó un nivel la dosis de peginterferón alfa 2a (135 mcgs/semana). Las lesiones cutáneas remitieron por completo en 15 días y se reinició la dosis completa del peginterferón alfa 2a. Recibió tratamiento antiviral combinado con peginterferón alfa 2a y ribavirina durante 48 semanas. La prueba de RNA HCV cualitativa al final del tratamiento fue negativa.

CASO CLÍNICO 2

Hombre de 33 años, chofer, escolaridad secundaria. En 1977 transfusión de sangre. En 1997 laparotomía exploradora con apendicectomía y timpanoplastia. Acudió a donar sangre. Anti-HCV positivo. EIA-OD: 4.05 y 4.07 (técnica de quimioluminiscencia). Prueba de RNA HCV cualitativa negativa. Prueba de inmunoensayo recombinante (RIBA) negativa. Se concluye anti-HCV falso positivo.

El anticuerpo a hepatitis C (anti-HCV) se utiliza como prueba de escrutinio desde 1990; esto se logró posterior a la clonación del genoma del virus de hepatitis C por Houghton, *et al.*¹ El anti-HCV se determina por ensayo inmunoenzimático (EIA). En poco más de una década la técnica ha evolucionado de la primera a la tercera generación. El EIA

de primera generación (EIA v1.0) identifican anticuerpos para el epitopo c100-3 de la proteína no estructural NS4. La sensibilidad del EIA v1.0 fue de 80% en poblaciones de alto riesgo. La frecuencia del anti-HCV falso positivo en población de bajo riesgo (ejemplo: población general o donadores de sangre) fue elevada (70%). A partir de 1992 se dispuso de la segunda generación del EIA (v2.0). En esta versión se incorporaron antígenos adicionales de proteínas no estructurales (c33) y estructurales (c22-3). En 1996 se aprobó el EIA v3.0 que incluyó un cuarto antígeno (NS5). En la actualidad se utilizan el EIA v2.0 y 3.0. Posteriormente apareció una variante del principio del EIA, el inmunoensayo de micropartículas (MEIA) (AxSYM HCV v3.0, Abbott Diagnostics, Chicago IL). Más recientemente se desarrolló una prueba por quimioluminiscencia (CIA) (Vitros, Ortho-Clinical Diagnostics) con mayor especificidad. El EIA es el método más utilizado para la determinación del anti-HCV en grandes volúmenes de muestras, es fácil de realizar, parcial o completamente automatizado. El EIA v3.0 es más sensible (99 %) que las versiones previas. Los antígenos usados para detectar anticuerpos en los ensayos de EIA, MEIA y CIA son idénticos.²⁻⁴

Tradicionalmente, el anti-HCV se reporta como positivo o negativo, aun cuando la interpretación es semicuantitativa con base en la densidad óptica de la muestra. La intensidad de la señal es directamente proporcional a la concentración del anticuerpo en la reacción y la interpretación es de acuerdo con una lectura de absorbancia de la muestra en comparación con un control, expresada como la relación S/CO (señal de corte de la muestra comparada con un control; del inglés *signal to cutoff*). El valor de la relación S/CO se calcula dividiendo la densidad óptica (OD) de la muestra entre la OD del punto de corte del ensayo y recientemente se describió como EIA-OD (densidad óptica del ensayo inmunoenzimático).⁵ El antígeno-anticuerpo es visualizado por una reacción enzimática, colorimétrica, fluorescente o luminiscente, dependiendo de la técnica utilizada. En los equipos que se utilizan actualmente el cálculo se obtiene en forma automática.^{2,3} Las pruebas del anti-HCV con la EIA-OD < 1 son considerados como no reactivas y se reportan como negativas; las muestras con EIA-OD ≥ 1 se interpretan como reactivas; se requiere realizar una segunda prueba que resulte reactiva para considerar anti-HCV positivo. Se interpretan como positivas todas las pruebas con EIA-OD ≥ 1, independientemente de la intensidad de la OD, como se describe en los escenarios a continuación:

Escenario A

$$\text{EIA-OD} = \frac{0.5 (\text{muestra})}{1 (\text{control})}$$

$$\text{EIA-OD} = 0.5$$

Muestra no reactiva: Anti-HCV negativo

Escenario B

$$\text{EIA-OD} = \frac{1 (\text{muestra})}{1 (\text{control})}$$

$$\text{EIA-OD} = 1$$

Muestra reactiva: Anti-HCV positivo

Escenario C:

$$\text{EIA-OD} = \frac{20 (\text{muestra})}{1 (\text{control})}$$

$$\text{EIA-OD} = 20$$

Muestra reactiva: Anti-HCV positivo

El anti-HCV es una prueba de escrutinio. En personas con anti-HCV positivo se requieren otras pruebas para establecer el diagnóstico de hepatitis C. El inmunoensayo recombinante (RIBA) y la prueba de ácidos nucleicos (RNA HCV) son las pruebas utilizadas para confirmar el diagnóstico (anti-HCV verdadero positivo) o descartarlo (anti-HCV falso positivo). Recomendando el término de “prueba complementaria” para estas pruebas, RIBA o RNA, ya que son útiles tanto para confirmar (anti-HCV verdadero positivo) como para descartar el diagnóstico de hepatitis C. Es variable la frecuencia y secuencia con que se realizan estas pruebas complementarias; generalmente depende de la preferencia o experiencia del personal de salud que las solicita. En EUA la prueba de RNA HCV se utiliza con mayor frecuencia como prueba complementaria única en hospitales comparado con los laboratorios de Salud Pública (63 vs. 31%).³

En México la mayoría de los laboratorios informan el anti-HCV positivo únicamente con base en el resultado de la prueba de escrutinio, aun cuando la recomendación internacional establece que antes de emitir el resultado se deben realizar pruebas complementarias a todas las personas con prueba de escrutinio positiva, especialmente en poblaciones con baja prevalencia de hepatitis C (< 10%) como los donadores de sangre y la población general. Las pruebas complementarias se realizan únicamente cuando el personal de salud las solicita, y no de manera refleja en cuanto se identifica un resultado anti-HCV positivo (Contreras, comunicación personal). El uso de las pruebas complementarias es limitado debido a los costos altos y la poca disponibilidad en los labo-

ratorios clínicos y de los bancos de sangre en el país. Por otro lado, existe desconocimiento entre el personal médico para interpretar los resultados de la prueba de escrutinio del anti-HCV; cuándo están indicadas pruebas más específicas y cuáles deben ser utilizadas.³

La identificación de una persona con anti-HCV positivo presenta dos escenarios:

1. Personas con anti-HCV verdadero positivo: definido por:
 - Anti-HCV positivo-RNA HCV positivo.
 - Anti-HCV positivo-RIBA positivo.
 - Anti-HCV positivo-RNA HCV negativo-RIBA positivo.
2. Personas con anti-HCV falso positivo: definido por:
 - Anti-HCV positivo-RNA HCV negativo-RIBA negativo.
 - Anti-HCV positivo-RIBA negativo.
 - Anti-HCV positivo-RNA HCV negativo- RIBA indeterminado.

Anticuerpo a hepatitis C verdadero positivo

La prueba de RNA HCV positiva y/o RIBA positivo confirma la prueba de escrutinio positiva. La prueba de RNA HCV tiene la ventaja de que detecta replicación del virus con lo que se establece el diagnóstico de infección activa y confirma el anti-HCV verdadero positivo. Por su menor costo y el uso de equipos semiautomatizados, técnicamente más simples, en los últimos años se ha popularizado la prueba de RNA HCV que identifica el genoma viral con elevada precisión y exactitud. Se requiere que el virus replique activamente para obtener un resultado positivo. La proporción de resultados verdaderos positivos es directamente proporcional a la prevalencia de hepatitis C en la población estudiada. En un grupo con prevalencia < 2%, como donadores de sangre, población general, trabajadores de la salud y estudiantes, la proporción de anti-HCV positivo-RIBA positivo (v3.0) se reportó en 77%; en pacientes en hemodiálisis con prevalencia de hepatitis C de 9.5%, se informó 86.3% con anti-HCV-positivo-RIBA positivo (v3.0) y en población con factores de riesgo para hepatitis C, con prevalencia de 24.9%, la proporción de anti-HCV verdadero positivo fue de 94.5% (3).

El desarrollo de las técnicas moleculares para detectar y cuantificar partículas virales ha tenido avances

importantes en la última década. El RNA HCV es detectable de 1-3 semanas postexposición. La prueba de RNA HCV requiere condiciones muy específicas para evitar falsos positivos por contaminación de la muestra o falsos negativos por manejo inadecuado de la muestra y degradación del RNA viral. Se deben considerar otras situaciones clínicas en las que ocurre RNA HCV negativo con anti-HCV positivo como son: infección activa con disminución transitoria del nivel de viremia por debajo del límite de detección; infección pasada con resolución espontánea, respuesta a tratamiento antiviral, RNA HCV falso negativo. Una prueba RNA HCV-positiva en ausencia de anti-HCV puede presentarse en el periodo de ventana serológica, seronegatividad asociada a inmunosupresión, EIA falso negativo o RNA HCV falso positivo. Se recomienda centrifugar y separar el suero o plasma en las primeras cuatro horas de la extracción, y congelar a -70 °C. Recientemente está disponible el tubo PPT con un conservador que permite mantener la muestra a 4 °C hasta 72 horas posterior a su recolección sin afectar la concentración del RNA HCV, con lo que se facilita la transportación de las muestras. La prueba de RNA HCV puede ser cualitativa o cuantitativa (carga viral). Las pruebas cualitativas son más sensibles que la mayoría de las pruebas cuantitativas. La especificidad de estas pruebas es de 98 a 99%.

El primer reporte de la relación entre el resultado del RNA HCV y la reactividad del EIA-OD en donadores de sangre fue hecho por Tobler, *et al.*⁶ El RNA HCV positivo fue encontrado en 183/217 (84%) de las muestras con EIAv1.0-RIBA 2.0 positivo con la EIA-OD > 2.5 (alto) comparado con 15/31 (48%) con la EIA-OD ≤ 2.5 (bajo). Algunos estudios han reportado que el valor alto de la EIA-OD predice viremia.⁷⁻¹² No existe un criterio específico para determinar el punto de corte entre alto y bajo positivo; el nivel ha variado dependiendo de la versión y técnica del EIA. Dufour, *et al.*⁹ en un programa de escrutinio en 1,637 veteranos evaluados por EIA v3.0 y CIA v3.0 encontraron que el anticuerpo alto positivo se asoció con RNA HCV positivo en 90% de las muestras. La clasificación del CDC fue utilizada para definir anti-HCV alto positivo (EIA-OD ≥ 8). La EIA-OD ≥ 20 por CIA fue asociada a RNA HCV positivo; ninguna de las 25 muestras con EIA-OD entre 8.1 y 20 fue RNA HCV positivo (p < 0.0001). En un grupo de pacientes con hepatitis C sin tratamiento antiviral se encontró que la EIA OD ≥ 34 del anti-HCV es un marcador de infección crónica, con 98.1% de sensibilidad y 93.3% de especificidad.⁷

Recientemente realizamos un estudio para determinar la utilidad del anti-HCV alto positivo como

marcador de replicación viral en donadores de sangre asintomáticos con hepatitis C. Por curva ROC se estableció el valor de la EIA-OD ≥ 20 como el óptimo para predecir viremia en 253 donadores de sangre con anti-HCV positivo. Se utilizaron como pruebas complementarias, RNA HCV cualitativa (Cobas AmpliCor) y RIBA v3.0. El Anti-HCV verdadero positivo se encontró en 97/253 (38.3%); El RNA HCV positivo se encontró en 82/97 (84.5%). La EIA-OD ≥ 20 se comparó con el RNA HCV positivo como estándar de oro de viremia. Se encontró sensibilidad de 89% (CI 95%, 80-94), especificidad de 94% (CI 95%, 84-96), valor predictivo negativo 90% (CI 95%, 81-94) y valor predictivo positivo de 97% (CI 95%, 93-98). La razón de verosimilitud (Likelihood ratio) fue 16 (IC 95%, 8-33). El anti-HCV alto positivo con RNA HCV-positivo se encontró en 76/82 (94%) comparado con 5/81 (6%) en anti-HCV bajo positivo ($p < 0.001$). Proponemos que la EIA-OD ≥ 20 se utilice como marcador serológico de viremia entre los donadores de sangre anti-HCV positivo. Los resultados de este estudio son aplicables a laboratorios que utilizan las técnicas de MEIA o CIA como pruebas de escrutinio. El resultado del anti-HCV positivo debe incluir el reporte de la EIA-OD, ya que tradicionalmente en la mayoría de los laboratorios sólo se reporta el resultado del anti-HCV como positivo sin informar la EIA-OD. Estos hallazgos son importantes debido a la limitada disponibilidad y el alto costo de las pruebas de ácidos nucleicos por técnicas moleculares como PCR en los laboratorios de nuestro país y específicamente en los bancos de sangre. Tradicionalmente se considera que el anti-HCV positivo no discrimina entre infección aguda, crónica o resuelta. Conjeturamos que la estimulación antigénica continua debido a replicación viral crónica mantiene un nivel alto del anti-HCV.

La confirmación con RNA HCV-positivo en donadores es útil para determinar anti-HCV-verdadero positivo e indica la necesidad de evaluación diagnóstica de enfermedad hepática crónica, incluyendo pruebas adicionales como genotipo viral. La hepatitis C tiene un curso lento, pero progresivo hacia la fibrosis hepática; sin tratamiento antiviral los pacientes con hepatitis C evolucionan a cirrosis hepática y algunos a carcinoma hepatocelular. La identificación de donadores de sangre con alta probabilidad de hepatitis C ofrece una "oportunidad de oro" para identificar personas asintomáticas antes del desarrollo de complicaciones. La hepatitis C es una de las causas más frecuentes de cirrosis hepática en nuestro país y ocupa el cuarto lugar como causa de muerte con una tasa de 25.37 por 100,000 habitantes.^{13,14} En México

son evaluados aproximadamente 1.3 millones de donadores de sangre por año. La prevalencia de anti-HCV-positivo es de 0.74% (rango 0.68 a 0.80%) y es más frecuente que la infección por virus de inmunodeficiencia y hepatitis B en donadores de sangre (promedio 0.28 y 0.49%, respectivamente).¹⁵ En un estudio en 57,108 donadores en el occidente del país, se reportó una prevalencia 0.8% de anti-HCV positivo.¹⁶ Se espera un incremento de cuatro veces en el diagnóstico de hepatitis C en la próxima década (2005-2015).¹⁷ El tratamiento antiviral de elección es la combinación de peginterferón alfa y ribavirina con una eficacia de 60 a 80%, dependiendo del genotipo viral. La respuesta al tratamiento es determinada por el grado y estadio de la lesión hepática y las mejores respuestas terapéuticas se observan en pacientes con hepatitis crónica C con leve a moderada inflamación y fibrosis.¹⁷ El costo-beneficio de tratar pacientes con hepatitis C previo al desarrollo de cirrosis hepática y trasplante hepático ha sido ampliamente demostrado con reducción significativa de los costos y mejor calidad de vida.

Anticuerpo a hepatitis C falso positivo

Desde la primera versión del EIA se informaron resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio de hepatitis C. La frecuencia de resultados falsos positivos se relaciona inversamente con la prevalencia de hepatitis C en la población estudiada. Con la primera versión del EIA anti-HCV, en poblaciones de baja prevalencia ($< 10\%$) se encontró hasta 70% de pruebas de escrutinio falsamente positivas; con las versiones más recientes (EIA v2.0 y v3.0), en personas asintomáticas, sin factores de riesgo o personas en quienes se desconoce información específica, como ocurre con los donadores de sangre, la proporción de resultados falsos positivos varía de 15 a 60%.^{3,4} El CDC³ reportó anti-HCV falso positivo en 22% de donadores de sangre, 26% en población de bajo riesgo (población general, estudiantes, trabajadores de la salud), 14% en pacientes hemodializados y 4.5% en población de riesgo alto. En otro estudio, en una población de 2,031 pacientes con enfermedad hepática se encontró 13.2% (268 muestras) con resultados falsos positivos.¹⁸

Se han utilizado diversas estrategias para identificar resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio del anti-HCV, como la realización de una segunda prueba del EIA para confirmar un resultado reactivo. Se considera anti HCV positivo con dos pruebas repetidamente reactivas. Otra estrategia, llamada secuencial, consiste en realizar un segundo

EIA a los donadores de sangre con una primera prueba repetidamente reactiva, y completar el estudio con RIBA o prueba de RNA HCV para confirmar la segunda prueba reactiva. La prueba adicional a los resultados repetidamente reactivos, en una segunda muestra de sangre, incrementa el valor predictivo positivo.^{19,20} En el consenso de hepatitis C (2002) se recomendó utilizar la prueba de RNA HCV para confirmar el diagnóstico de hepatitis C en personas con anti-HCV positivo.^{2,17} Sin embargo, su utilidad es limitada, ya que en ausencia de replicación viral con RNA HCV negativo, no es posible definir el estatus serológico de la infección por hepatitis C.

La prueba de RIBA es la indicada para identificar anti-HCV falso positivo. Las desventajas de la prueba de RIBA son el costo mayor (3:1) comparado con la prueba de ácidos nucleicos, y los resultados indeterminados. Se recomienda interpretar un resultado de RIBA indeterminado con base en la prevalencia de la población que se estudia. En poblaciones de bajo riesgo como los donadores de sangre, un resultado indeterminado se considera como negativo, una vez que se realiza una segunda determinación del anti-HCV o RNA HCV (un mes después). En donadores de sangre con anti-HCV positivo-RIBA indeterminado se considera como anti-HCV falso positivo. La infección previa o reactividad falsa no específica se han descrito como causas de RIBA-indeterminado.²⁰ Se debe considerar un resultado de RIBA-indeterminado como falso positivo en ausencia de factores de riesgo para infección por HCV; en cambio en pacientes con enfermedad hepática la proporción de resultados indeterminados es baja (1.2%).¹⁸

Recientemente se propuso utilizar el nivel bajo de la EIA-OD (anti-HCV bajo positivo) para definir resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio de hepatitis C. No existe consenso acerca del valor de la EIA-OD que define bajo y alto positivo.^{3,5,9} La intensidad de la reacción enzimática es directamente proporcional a la concentración del anticuerpo y determina el valor de la EIA-OD.²¹ Las diferentes versiones del EIA influyen en el nivel de la EIA-OD y no existe un criterio establecido para definir anti-HCV bajo y alto positivo. En la interpretación de los resultados se deben considerar variaciones entre las técnicas utilizadas. Tobler, *et al.*⁶ por primera vez reportaron la utilidad del nivel bajo de la EIA-OD con la primera generación del EIA para predecir anti-HCV falso positivo en donadores de sangre. El nivel del EIA-OD ≤ 2.5 fue identificado en 87% de las muestras con anti-HCV-falso positivo. El Centro para el control y prevención de enfermedades (CDC)

propuso utilizar el anti-HCV bajo positivo para identificar resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio entre diferentes poblaciones. La EIA-OD < 8 por CIA y < 3.8 por MEIA fueron definidas como anti-HCV bajo positivo y se relacionaron con anti-HCV falso positivo.³

En un estudio reciente evaluamos la utilidad del anti-HCV bajo positivo para identificar resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio en 253 donadores de sangre. Se utilizó MEIA v3.0 y CIA v3.0 para determinar anti-HCV, y las pruebas complementarias de RIBA v3.0 y RNA HCV (Cobas Amplicor v2.0). Se identificó anti-HCV falso positivo en 156/253 (62%) donadores de sangre. Por curva ROC se determinó EIA-OD < 3.8 y EIA-OD < 8 por MEIA y CIA, respectivamente, como los niveles óptimos para definir anti-HCV bajo positivo. Estos niveles son similares a los propuestos por el CDC. En 138 de 146 muestras con nivel bajo de la EIA-OD, anti-HCV-bajo positivo, fueron resultados falsos positivos; en 121/128 (94.5%) muestras por CIA y 17/18 (94.5%) por MEIA. En 18/107 (17%) con anti-HCV alto positivo (≥ 3.8 y ≥ 8 por MEIA y CIA, respectivamente) se identificó anti-HCV falso positivo. Se encontró una proporción significativamente elevada de resultados falsos positivos con anti-HCV-bajo-positivo (94%) comparado con resultados falsos positivos con anti-HCV-alto-positivo (17%) ($p < 0.001$). En nuestro estudio el anti-HCV bajo positivo identificó nueve de cada 10 donadores de sangre con prueba de escrutinio falsamente-positiva. El valor bajo de la EIA-OD que define anti-HCV bajo positivo varía según la técnica utilizada. Los laboratorios clínicos deben incluir la EIA-OD en el reporte del anti-HCV positivo.

La identificación de personas con anti-HCV falso positivo evitará notificaciones incorrectas, daño psicológico secundario al diagnóstico de hepatitis C así como los costos de consultas médicas periódicas y pruebas de laboratorio innecesarias. La elevada proporción de resultados falsos positivos encontrada en nuestro estudio (62%) comparada con la reportada por el CDC (22%) probablemente se debe a la menor prevalencia de hepatitis C en nuestro país comparada con EUA (0,7 vs. 1.1 %, respectivamente).^{3,15} Otra posibilidad es que los criterios de aceptación de donadores en nuestro país son más estrictos y esto disminuye la proporción de donadores con anti-HCV verdadero positivo. Por otro lado, se debe considerar que seis de cada 10 productos de sangre que se eliminan por la prueba de escrutinio positiva son resultados falsos positivos.

CONCLUSIONES

La estrategia con mayor sensibilidad para determinar el estatus viral (viremia) en donadores de sangre con anti-HCV positivo es EIA-OD $\geq 20 \rightarrow$ RNA HCV, mientras que la estrategia con mayor sensibilidad para determinar el estatus serológico en personas con anti-HCV positivo es: EIA-OD < 8 (técnica de CIA) \rightarrow RIBA y EIA-OD < 3.8 (técnica de MEIA) \rightarrow RIBA. La elección de la secuencia de pruebas complementarias debe ser guiada por la prevalencia de la hepatitis C en la población. En nuestro estudio se encontró una mayor proporción de resultados falsos positivos (62%) identificados por la prueba de RIBA, mientras que únicamente en 32% ($n = 82$) se encontró viremia (RNA HCV positiva). Se propone un algoritmo diagnóstico con base en la EIA-OD del anti-HCV positivo, eligiendo la estrategia con mayor sensibilidad para determinar el estatus serológico en una población de baja prevalencia como los donadores de sangre ($\leq 1\%$) (Figura 1).

PREGUNTAS Y RESPUESTAS

1. Dr. Aldo Montaña Loza (Médico adscrito al Departamento de Gastroenterología, INCMN SZ). En el estudio que presenta se realizó RIBA sólo a aquellos pacientes que tuvieron el RNA HCV negativo y los que tuvieron prueba de RNA HCV positiva (cualitativa) fueron clasificados como verdaderos positivos. Para establecer la sensibilidad,

especificidad y valores predictivos deberían haberse realizado ambas pruebas, RIBA y RNA HCV, a todos los pacientes aunque seguramente por razones de costo no lo hicieron ¿Qué piensa al respecto?

Dra. Ana María Contreras (Hospital de Especialidades, CMNO Jalisco, IMSS). El objetivo del estudio fue determinar la utilidad del anti-HCV positivo (anti-HCV alto positivo) para predecir viremia. El estándar de oro para viremia es la determinación del RNA HCV, y esta prueba se realizó en todos los donadores. Mediante curva ROC se determinó el valor óptimo de la densidad óptica para predecir viremia (EIA-OD ≥ 20). El RNA HCV positivo permite establecer el diagnóstico de hepatitis C, además de confirmar una prueba de escrutinio positiva. En el estudio se evaluaron tanto los donadores con RNA HCV positivo como los RNA HCV negativos, en quienes se realizó la prueba de RIBA para identificar resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio. En los resultados que presentan sí se define la sensibilidad (89%, CI 95% 80-94), especificidad (94%, CI 95%, 84-96), el valor predictivo negativo (90%, CI 95%, 81-94) y el valor predictivo positivo (97%, CI 95%, 93-98). La razón de verosimilitud (Likelihood ratio) fue 16 (IC 95%, 8-33). Por otro lado, se definió la utilidad del RIBA para identificar anti-HCV falso positivo como se describe en los resultados.

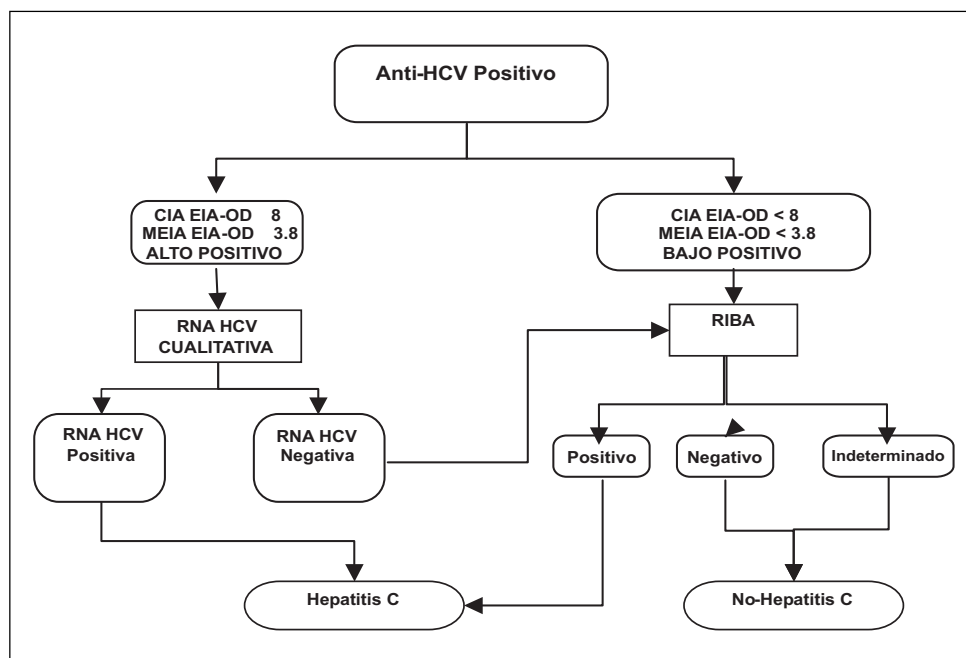


Figura 1. Algoritmo diagnóstico con base en la EIA-OD para definir la secuencia de pruebas complementarias, RNA HCV o RIBA, y confirmar o descartar el diagnóstico de hepatitis C en donadores de sangre con anti-HCV positivo (técnicas de MEIA y CIA).

2. Dra. Claudia Méndez Mercado (Residente de 2º año de Infectología, INCMN SZ). En la primera parte del estudio mostró que la EIA-OD ≥ 20 del anti-HCV es el nivel óptimo que correlaciona con viremia y en la segunda parte los valores de ≤ 3.8 y ≤ 8 , dependiendo de la técnica utilizada para el anti-HCV, correlacionan con resultados falsos positivos de la prueba de escrutinio. ¿Cuál es el valor de la EIA-OD el anti-HCV que hay que considerar para definir las pruebas complementarias en donadores de sangre con anti-HCV positivo?

Dra. Ana María Contreras. Para elegir la prueba complementaria en personas con anti HCV positivo se debe tomar en cuenta la prevalencia de la población; si es de baja prevalencia ($< 10\%$), como ocurre en donadores de sangre y población general, la estrategia con mayor sensibilidad para determinar el estatus serológico en personas con anti-HCV positivo es: EIA-OD < 8 (técnica de CIA) \rightarrow RIBA y EIA-OD < 3.8 (técnica de MEIA) \rightarrow RIBA.^{3,5} La estrategia con mayor especificidad para determinar el estatus viral (viremia) en donadores de sangre con anti-HCV positivo es EIA-OD $\geq 20 \rightarrow$ RNA HCV (Contreras, *et al.*, enviado a publicación). La elección de las pruebas complementarias debe también considerar los recursos económicos y técnicos disponibles, ya que la prueba de RIBA es tres veces más cara que la prueba de RNA HCV cualitativa. Por otro lado, existen pocos laboratorios en el país donde se realicen las pruebas moleculares.

3. Dr. Eduardo Carrillo Maravilla (Médico Adscrito a la Dirección de Medicina, INCMN SZ). ¿Tienen experiencia con otros grupos de personas? como por ejemplo pacientes con hepatitis autoinmune. ¿Qué porcentaje de pacientes con hepatitis autoinmune tienen resultados falsos positivos para hepatitis C? ¿Qué porcentaje de pacientes con hepatitis C presentan autoinmunidad?

Dra. Ana María Contreras. La prevalencia de anti-HCV verdadero positivo en pacientes con hepatitis autoinmune es de 0-5% utilizando EIA v2.0. La prevalencia de autoanticuerpos (anticuerpos antinucleares y anticuerpos antimusculo liso) en pacientes con hepatitis C se reporta en 22%.²² Se ha propuesto clasificar tres entidades distintas: enfermedad hepática viral con un epifenómeno autoinmune (síndrome de sobreposición de hepatitis autoinmune/hepatitis C falsa positiva); enfermedad viral asociada a un componente patogénico autoinmune (síndrome de sobreposición de hepatitis autoinmune/hepatitis C verdade-

ra) y hepatitis autoinmune clásica con anti HCV falso positivo.²³

4. Dr. Eduardo Carrillo Maravilla. ¿Cuál es el papel de la determinación del antígeno core del virus de la hepatitis C en el diagnóstico del periodo de ventana de la infección por el VHC?

Dra. Ana María Contreras. El antígeno core del virus de hepatitis C es útil como marcador de replicación viral y como marcador de respuesta a la terapia antiviral en pacientes con hepatitis C. Sin embargo, su utilidad es limitada en el periodo de seroconversión en donadores de sangre, ya que su sensibilidad es menor cuando se compara con la prueba de ácidos nucleicos (RNA HCV).

5. Dr. Gerardo Gamba Ayala (Unidad de Fisiología Molecular, INCMNSZ e Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM). ¿Estos algoritmos que mencionas se hacen en la misma muestra? O una vez que se identifica un sujeto con anti-HCV positivo, se debe obtener una nueva muestra que se trate con las condiciones adecuadas para realizar el RIBA o la prueba de RNA?

Dra. Ana María Contreras. La prueba de RIBA, es una prueba serológica que se determina en la misma muestra que se utiliza para el anti-HCV; identifica las mismas regiones peptídicas (Core, NS3, NS4 y NS5) del virus. La prueba del RNA viral requiere condiciones muy específicas para evitar falsos positivos por contaminación de la muestra o falsos negativos por manejo inadecuado de la muestra y degradación del RNA viral. Una vez que se identifica una persona con anti-HCV positivo se toma una segunda muestra para el estudio molecular (RT-PCR). Es necesario centrifugar y separar el suero o plasma en las primeras cuatro horas de la extracción, y congelar a -70°C . Recientemente está disponible el tubo PPT con un conservador que permite mantener la muestra a 4°C hasta 72 horas posterior a su recolección sin afectar la concentración del RNA HCV, con lo que se facilita la transportación de las muestras.

REFERENCIAS

1. Coo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.
2. Pawlotsky JM. Use and Interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S65-S73.
3. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Center for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Center for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2003; 52: 1-13.

4. Richter S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *J Clin Microb* 2002; 12: 4407-12.
5. Chapko MK, Sloan KL, Davidson JW, Dufour R, Bankson DD, Rigsby M, et al. Cost effectiveness of testing strategies for chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 607-15.
6. Tobler LH, Tegtmeier G, Stramer SL, Quan S, Dockter J, Giachetti D, et al. Lookback on donors who are repeatedly on first-generation hepatitis C virus assays: justification and rational implementation. *Transfusion* 2000; 40(1): 15-24.
7. Payan C, Raimbert A, Fouchard-Hubert I, Kouyoumdjian S, Lunel-Fabiani F. Quantitative antibody analysis: use for the diagnosis of hepatitis C virus chronic infection. *Ann Biol Clin* 2003; 3: 311-17.
8. Sookian S, Castaño G. Evaluation of a third generation anti-HCV assay in predicting viremia in patients with positive HCV antibodies. *Ann Hepatol* 2002; 1(4): 179-82.
9. Dufour RD, Talastas M, Fernandez DAM, Harris B. Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. *Clin Chemistry* 2003; 6: 940-4.
10. Dufour DR, Talastas F, Harris B, Strader BD, Seeff BL. Low-Positive anti-Hepatitis C virus enzyme immunoassay results: An important predictor of low likelihood of hepatitis C infection. *Clin Chem* 2003; 3: 479-83.
11. Yuki N, Hayashi N, Kasahara A, Hagiwara H, Mita E, Ohkawa K, et al. Quantitative analysis of antibody to hepatitis C virus envelope 2 glycoprotein in patients with chronic hepatitis c virus infection. *Hepatology* 1996; 5: 947-52.
12. Sik Kim Y, Lee HS, Ahn YO. Factors associated with positive predictability of the anti-HCV ELISA method with confirmatory RT-PCR. *J Korean Med Sci* 1999; 14: 629-34.
13. Méndez SN, Aguilar RJ, Reyes A, Dehesa M, Juárez A. Castañeda B, et al. Etiology of liver cirrosis in Mexico. *Ann Hepatol* 2004; 3: 30-3.
14. Secretaría de Salud. Dirección General de Información en Salud. Elaborado a partir de la base de datos de defunciones INEGI/Secretaría de Salud 2002.
15. Marin RA, López SR, Infante RL, Méndez AJ, Berrón RP, Morales AN, et al. Hepatitis C seroprevalence in accepted versus deferred blood-donor candidates evaluated by medical history and self-exclusion form. *Transfusion* 2004; 44: 1344-9.
16. Vivas AC, Aguilar BS, Trujillo J, Panduro A, Rivas EA. Hepatitis C virus: prevalence and routes of infection among blood donors of West Mexico. *Hepatol Research* 2003; 25: 115-23.
17. National Institutes of Health. Consensus Development Conference. Management of Hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36(5) Suppl. 1: S1-S252.
18. Polywka S, Schroter M, Feucht HH, Zollner B, Laufs R. Relevance of reactivity in commercially available hepatitis C virus antibody assays. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 233-4.
19. Seed CR, Margaritis AR, Bolton VW, Kiely P, Parker S, Piscitelli L, et al. Improved efficiency of national HIV, HCV and HTLV antibody testing algorithms based on sequential screening immunoassays. *Transfusion* 2003; 43: 226-34.
20. Kiely P, Kay D, Parker S, Piscitelli L. The significance of third-generation HCV RIBA-indeterminate, RNA-negative results in voluntary blood donors screened with sequential third-generation immunoassays. *Transfusion* 2004; 44: 349-58.
21. Vitros anti-HCV. Ortho-Clinical Diagnostics, Johnson and Johnson Company, 2003, Amersham, Bucks. United Kingdom.
22. Simonovic J, Dokie Lj, Svirtlih N, Djordjevic M, Bozic N, Polunga J. Autoimmune hepatitis and/or hepatitis C. *Srp Arch Celok Lek* 1999; 127: 109-13.
23. Vella FS, Orlando P, Attanasi F, Simone B, Mundo A, Lopalco P, et al. Autoantibodies in chronic hepatitis C. markers of autoimmunity or non-specific events? *Recenti Prog Med* 2001; 92(2): 107-12.

Reimpresos:

Dra. Ana María Contreras

Coordinación de Investigación en Salud.

Delegación: Jalisco,

San Juan de Ulúa 1633,

Col. Jardines del Country

44210, Guadalajara, Jalisco

Correo electrónico: acontreras53@hotmail.com

Recibido el 9 de junio de 2005.

Aceptado el 16 de diciembre de 2005.