



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Valoración de sueros con bajo índice S/CO utilizando 2 sistemas de quimioluminiscencia para la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C y su correlación con la detección de ARN viral



M.^a Fátima López-Fabal^{a,*}, Alfredo Pérez-Rivilla^b y José Luis Gómez-Garcés^a

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Móstoles, Móstoles, Madrid, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital 12 de Octubre, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 31 de agosto de 2016

Aceptado el 22 de diciembre de 2016

On-line el 24 de febrero de 2017

Palabras clave:

Quimioluminiscencia

Hepatitis C

Índice S/CO

R E S U M E N

Objetivo: Los ensayos comerciales utilizados para demostrar la presencia de anticuerpos anti-VHC establecen, cada uno de ellos, puntos de corte determinados que categorizan los resultados en función de los mismos, aunque el problema de los resultados falsos positivos en el cribado de sueros de hepatitis C sea bien conocido.

El objetivo de este trabajo ha sido valorar los resultados obtenidos por 2 ensayos quimioluminiscentes en una serie de sueros seleccionados, contrastando estos resultados con la detección de ARN viral en las muestras estudiadas.

Material y métodos: Se seleccionaron 200 sueros considerados como reactivos (positivos), aunque con un bajo índice S/CO, utilizando 2 ensayos de quimioluminiscencia y posteriormente fueron sometidos a amplificación genómica.

Resultados y discusión: Solamente en 8 (4%) de las muestras seleccionadas pudo detectarse ARN viral. A la vista de estos resultados, consideramos que el diseño de los ensayos de quimioluminiscencia empleados no ofrecen una especificidad suficiente utilizados como pruebas únicas para el diagnóstico de la hepatitis C.

© 2017 Elsevier España, S.L.U.

y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Evaluation of sera with a low signal to cut-off ratio using two chemiluminescent assays for detecting Hepatitis C Virus, and their correlation with the detection of Viral RNA

A B S T R A C T

Objective: All commercial assays used to measure the presence of Hepatitis C virus (HCV) antibodies set cut-off points to categorise the results, but the problem of false positive results in screening hepatitis C sera is well known.

The aim of this study was to evaluate the results obtained by two chemiluminescent assays in selected sera, and compare these results with the detection of viral RNA in the specimens studied.

Material and methods: Two hundred reactive sera (positive) were selected, although with a low signal to cut-off ratio (S/CO), were selected, using two chemiluminescent assays and were then subjected to genome amplification.

Keywords:

Chemiluminescence

Hepatitis C

S/CO ratio

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: flopezf@salud.madrid.org (M.^aF. López-Fabal).

Results and discussion: Viral RNA could be only be detected in 8 (4%) of the selected specimens. Taking these results into account, we believe that the design of the current chemiluminescent assays do not provide sufficient specificity when they are used as the only tests for the diagnosis of hepatitis C.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) representa un problema importante de salud pública a nivel mundial. Se estima que más de 175 millones de personas en el mundo pueden estar infectadas por este agente, generándose entre 3 y 4 millones de casos nuevos por año¹. En los países occidentales la prevalencia de la infección está por debajo del 3%, situándose en nuestro país alrededor del 2%. Sin embargo, en otras zonas geográficas como el norte de África la prevalencia llega a alcanzar el 15%, siendo el principal factor de riesgo el uso de material contaminado para la administración de inyectables. En estos grupos de riesgo la prevalencia puede llegar a un 70%².

Aunque la forma aguda de la infección es asintomática en la mayoría de los casos, hasta el 70-80% de los infectados permanecen como portadores crónicos del virus y aproximadamente el 20% de ellos presentan, en ausencia de tratamiento, un riesgo considerable de desarrollar una cirrosis hepática. Además, tras 20 años de evolución, cerca del 5% finalizan en un hepatocarcinoma. En la actualidad, en nuestro medio, la enfermedad por VHC es la causa principal de trasplante hepático³.

El primer eslabón en el diagnóstico microbiológico de la infección por VHC consiste en la detección de anticuerpos frente al virus, complementada a continuación con la confirmación mediante inmunoblot con antígenos recombinantes (RIBA) o la cuantificación del ARN viral que permite, además de confirmar la infección, diferenciar estadios en la evolución de la misma⁴.

Los resultados de anti-VHC positivos, pero débilmente reactivos (valores bajos del índice S/CO), independientemente del sistema empleado, presentan un escaso valor predictivo positivo de infección actual por VHC y se corresponden con mayor frecuencia a falsas reactividades o a infecciones ya resueltas en el pasado⁵.

El objetivo de este estudio fue conocer la correlación existente entre los resultados débilmente reactivos de 2 pruebas de cribado de última generación y cuántos de estos sueros con baja reactividad se corresponden con infección actual o son infecciones pasadas resueltas o falsos positivos.

Material y métodos

Se recogieron 100 muestras cuyo índice S/CO anti-VHC estaba comprendido entre $\geq 1,00$ y $\leq 3,00$, utilizando un inmunoanálisis quimioluminiscente (CLIA) LIAISON[®] XL MUREX HCVAb (DiaSorin) que emplea los antígenos virales core, NS4 y NS3 biotinilado, y otras 100 muestras con el mismo índice S/CO según el ensayo CMIA ARCHITECT Anti-HCV[®] (Abbott) que utiliza los antígenos virales HCr43 y c100-3. Ambos ensayos fueron realizados e interpretados siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

Los resultados obtenidos con ambos sistemas fueron categorizados como «reactivos» o «no reactivos», según las instrucciones de los fabricantes: las muestras con relación entre la señal y el valor límite por debajo de 1,00 se clasificaron como no reactivas para anticuerpos anti-HCV, y las muestras con relación entre la señal y el valor límite igual o por encima de 1,00 se clasificaron como reactivas para anticuerpos anti-HCV.

Posteriormente se llevó a cabo una cuantificación del ARN del VHC en todas las muestras mediante PCR a tiempo real utilizando la prueba COBAS[®] Ampliprep/COBAS[®] Taqman[®] HCV Quantitative v2.0 (ROCHE) cuyo límite inferior de detección es de 15 UI/ml.

Resultados

Las 100 muestras evaluadas inicialmente con LIAISON con un índice S/CO anti-VHC entre $\geq 1,00$ y $\leq 3,00$, al ser ensayadas con ARCHITECT, solo 29 de ellas resultaron positivas, mostrando los resultados que aparecen en la *tabla 1*.

Los resultados de las 100 muestras ensayadas mediante el reactivo de Abbott, y a continuación con el ensayo de DiaSorin, aparecen en la *tabla 2*: solo 40 de ellas presentaron un resultado positivo con el segundo ensayo.

Solamente en 8 (4%) del total de las muestras seleccionadas pudo detectarse ARN viral.

Discusión

Aunque el CDC recomienda que para que un paciente presente una evidencia diagnóstica de hepatitis C sea necesaria una confirmación con un segundo test igual o más específico que el empleado —como RIBA o una amplificación de ácido nucleico del virus positiva para evitar falsos diagnósticos positivos⁶, sobre todo en poblaciones de baja prevalencia de la enfermedad— en la realidad numerosos laboratorios clínicos ofrecen simplemente un único resultado positivo a la hora de establecer un diagnóstico presuntivo de hepatitis C, basados en una única prueba serológica⁷. En la mayor parte de estas situaciones, la prueba serológica utilizada suele ser un ensayo de quimioluminiscencia (CLIA o CMIA) diseñado para servir como cribado en población con bajo riesgo, como exámenes de salud o valoraciones laborales, en los que, debido a su alta sensibilidad, se pueden detectar cocientes S/CO muy bajos, pero que, dada su menor especificidad, no bastan para establecer el diagnóstico clínico de la enfermedad.

Aunque con estas técnicas la presencia de un S/CO elevado, claramente superior al límite, presenta una alta posibilidad de definir el suero correspondiente como portador de anticuerpos anti-VHC, no ocurre lo mismo con aquellos que presentan un cociente S/CO bajo, próximo al límite de la reactividad, que para estos equipos se encontraría entre ≥ 1 y ≤ 3 , y que, aun sirviendo como alarmas, no garantizan en modo alguno el diagnóstico individual y necesitan ser confirmados preferentemente con la detección de virus circulante.

El problema de los falsos positivos en el cribado de la hepatitis C es también bastante conocido y puede ser debido al incremento de las gammaglobulinas, enfermedades autoinmunes, enfermedades hepáticas u otras infecciones virales o parasitarias⁸.

En nuestro estudio, los 200 sueros considerados como reactivos (positivos) por alguno de los ensayos, cuando fueron sometidos a la detección de ARN viral por amplificación genómica —considerada como prueba diagnóstica de alta fiabilidad— solamente en 8 (4%) de ellos pudo detectarse ARN viral, mientras que por otra parte, en 10 sueros, en los que con alguna de las pruebas presentaron cocientes S/CO altos —entre 3,1 y 6,0— 5 (50%) albergaban virus circulantes.

Tabla 1
Resultados de las muestras con S/CO $\geq 1,00$ y $\leq 3,00$ con DiaSorin y su correlación con ARCHITECT y PCR a tiempo real

Índice S/CO	Resultados con LIAISON XL	Resultados LIAISON XL con PCR (+)	Resultados con ARCHITECT	Resultados ARCHITECT con PCR (+)
<1,0	0	0	65 (65%)	0
1,0-3,0	100	6	29 (29%)	1
>3,0	0	0	6 (6%)	5

Tabla 2
Resultados de las muestras con S/CO 1-3 por ARCHITECT y su correlación con DiaSorin y PCR

Índice S/CO	Resultados con ARCHITECT	Resultados ARCHITECT con PCR (+)	Resultados con LIAISON XL	Resultados LIAISON XL con PCR (+)
<1,0	0	0	56 (56%)	0
1,0-3,0	100	2	40 (40%)	2
>3,0	0	0	4 (4%)	0

Por tanto, las muestras que fueron negativas en alguno de los 2 ensayos presentaron una PCR negativa, lo que sugiere la irrelevancia de realizar ensayos confirmatorios en este grupo, que supuso más del 60% de las muestras. Por otro lado, consideramos que el diseño de los ensayos de quimioluminiscencia empleados no ofrecen una especificidad suficiente cuando se emplean como prueba única para el diagnóstico individual de la hepatitis C, necesitando, siempre que sean positivas, el refrendo de una segunda prueba confirmatoria.

Aunque es sabido que el diseño de los ensayos de quimioluminiscencia, entre ellos los 2 probados, están destinados fundamentalmente para su uso como pruebas de cribado y, por tanto, establecen puntos de corte bajos tratando de potenciar su sensibilidad a costa de limitar su especificidad, su empleo en numerosos laboratorios clínicos con criterios diagnósticos, en ocasiones como una única determinación, hace aconsejable que los fabricantes consideren los valores en los que los cocientes S/CO sean bajos como incluso en una «zona gris» de categorización, que absolutamente necesitan su confirmación con otra prueba de mayor especificidad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- World Health Organization; 2014. [consultado Mar 2016]. Disponible en: <http://www.who.int>
- Delgado-Iribarren García-Campero A, Echevarria Mayo JM, León Rega P. *Procedimientos de Microbiología clínica: diagnóstico de las hepatitis víricas*. SEIMC; 2004.
- Sharma P, Lok A. *Viral hepatitis and liver transplantation*. *Semin Liver Dis.* 2006;26:285–97.
- Vermeersch P, van Ranst M, Lagrou K. Validation of a strategy for HCV antibody testing with two enzyme immunoassays in a routine clinical laboratory. *J Clin Virol.* 2008;42:394–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2008.02.015>
- Moretti M, Pieretti B, Masucci A, Sisti D, Rocchi M, Delprete E. Role of signal-to-cutoff ratios in hepatitis C virus antibody detection. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19:1329–31, <http://dx.doi.org/10.1128/CVI.00175-12>
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Testing for HCV infection: An update of guidance for clinicians and laboratorians*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62:362–5.
- Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. *Guidelines for laboratory testing and results reporting of antibody to hepatitis C virus*. *MMWR Recomm Rep.* 2003;52:1–16.
- Berger A, Rabenau H, Allwinn R, Doerr HW. Evaluation of the new ARCHITECT anti-HCV screening test under routine laboratory conditions. *J Clin Virol.* 2008;43:158–61, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2008.05.009>