

DetECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN MATERIALES COMERCIALES DE CONTROL Y DE CALIBRACIÓN

C. Bayón de Miguel^a, A.I. García Sánchez, M.S. Pacheco Delgado, M.J. Cobo del Hoyo, R. Gil García, J.M. González Landa

Resumen

Se ha determinado la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en 13 materiales comerciales de control o calibración preparados a partir de sangre procedente de individuos donantes. El objetivo del presente trabajo es conocer la prevalencia, establecer un control de seguridad interno y recordar al personal de laboratorio el riesgo al manipularlos inadecuadamente.

Inicialmente se ha determinado la presencia de tales anticuerpos en aquellos materiales comerciales, con un método de enzimoimmunoanálisis (Abbott HCV EIA 2nd Generation, Abbott Diagnostika). Los especímenes en los que se detectó la presencia de anticuerpos se confirmaron mediante un método de «inmuno-blot» (Riba HCV Test System Second Generation Assay, Ortho Diagnostic Systems). Con el método de enzimoimmunoanálisis en 9 de los 13 materiales estudiados se detectaron anticuerpos contra el virus de la hepatitis C, confirmándose en 8 de ellos por el método de «inmuno-blot».

Introducción

Los materiales comerciales de control y calibración preparados a partir de sangre de donantes son utilizados habitualmente en los laboratorios clínicos. Estos materiales proceden del plasma de miles de donantes, con el objeto de conseguir grandes volúmenes que permitan una amplia distribución y el mantenimiento de los mismos lotes durante periodos de tiempo largos.

Como medida preventiva habitualmente se comprueba que en el plasma empleado para la fabricación de los materiales de control y calibración no se han detectado ni el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B ni anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, y así se suele expresar en la infomación adjunta a estos materiales. Pero no se menciona que se haya realizado prueba alguna que excluya la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C.

Hasta que Choo et al. (1) clonaron el virus de la hepatitis C y Kuo et al. (2) desarrollaron un método para la detección de anticuerpos contra aquel virus, no se dispusieron de «marcadores serológicos» de la llamada hepatitis vírica no A no B. Previamente, los únicos medios que se disponían en los bancos de sangre para detectar a los donantes portadores de la hepatitis vírica no A no B eran la determi-

Summary

The existence of antibodies to hepatitis C virus has been analyzed in 13 commercially available control or calibration materials, obtained from plasma blood donors. The aim of this study is to know the prevalence, establish an internal security policy and remind the laboratory staff of the risk associated with inadequate manipulation.

In a first approach, the existence of antibodies to hepatitis C virus was tested by an enzyme-immunoassay method (Abbott HCV EIA 2nd Generation, Abbott Diagnostika), and the positive samples were confirmed by an immunoblot-assay (RIBA HCV Test System Second Generation Assay, Ortho Diagnostic System).

Nine out of thirteen materials tested were positive by the enzyme-immunoassay, eight of them being confirmed by immunoblot-assay.

nación en el suero de la concentración de anticuerpos contra el núcleo del virus de la hepatitis B y de la concentración catalítica de la alaninaaminotransferasa. Es por tanto a partir de 1989 cuando fue posible determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en los individuos donantes.

La falta de información, por parte de los fabricantes y distribuidores, sobre la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en los materiales de control y de calibración; la prevalencia de la presencia de estos anticuerpos en estos materiales observada por otros autores (3) y la potencial infectividad de los mismos, indujo a determinarlos en los materiales de control y de calibración utilizados en nuestro laboratorio. Además de incidir nuevamente en la necesidad de manipularlos como material potencialmente infeccioso.

Material y métodos

Especímenes

Los materiales comerciales de control y de calibración evaluados son los siguientes:

Calibrador para sistemas automáticos (lote 173959) y Precinorm L (lote 168185), (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).

Calibrador 1 (lote M912127), Calibrador 3 (lote M103145) y Control 1 (lote M912127), (Beckman Instruments, Brea, EEUU); Moni-trol® Level I-X (lote 615002), Moni-trol® Level II-X (lote 616002), Immunossay Control Comprehensive Level I (lotes 107M y 108M), Immunoassay Control Comprehensive Level II (lotes 207M y 208M) e Immunoas-

^aLaboratorio de Análisis Clínicos
Hospital General de Segovia
Carretera de Avila, s/n
40002 Segovia
Recibido: 15-1-93
Aceptado: 25-3-93

Tabla I. Resultados de la determinación de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en materiales comerciales de control y calibración

Materiales	Enzimoimmunoanálisis (absorbancia)	«Inmunoblot» (anticuerpos)
Calibrador para sistemas automáticos Precinorm L	> VD (0,739) Negativo	Negativo
Calibrador 1	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
Calibrador 3	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
Control 1	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
Moni-trol® Level I-X	Negativo	
Moni-trol® Level II-X	> VD (0,656)	(c33c, c22-3)
IAC Level I (107M)	Negativo	
IAC Level I (108M)	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
IAC Level II (207M)	Negativo	
IAC Level II (208M)	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
IAC Level III (307M)	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)
IAC Level III (308M)	> VD (>2,000)	(5-1-1, c100-3, c33c, c22-3)

IAC: Immunoassay Controls Comprehensive. VD: valor discriminante.

say Control Comprehensive Level III (lotes 307M y 308M), (Baxter-Dade, Miami, EEUU).

Métodos

Inicialmente en todos los especímenes se determinaron la presencia de los anticuerpos contra el virus de la hepatitis C utilizando un método de enzimoimmunoanálisis Hepatitis C (rADN) antigen Abbott HCV EIA 2nd Generation (Abbott Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Alemania). Este método determina anticuerpos contra proteínas putativas estructurales y no estructurales del genoma del virus de la hepatitis C. Se consideraron como «positivos», de acuerdo con la información adjunta al equipo de reactivos, aquellos especímenes con una absorbancia igual o superior al valor discriminante. Cada espécimen se determinó por duplicado.

El valor discriminante se calculó según la siguiente expresión:

$$\text{Valor discriminante} = \bar{x}_{CN} + 0,25 \bar{x}_{CP}$$

\bar{x}_{CN} y \bar{x}_{CP} son respectivamente la absorbancia media de la determinación por triplicado del control «negativo» y del control «positivo», adjuntos al equipo de reactivos.

Como prueba de confirmación de aquellos especímenes que habían resultado «positivos», se determinó la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C utilizando un método de «inmunoblot» (Ortho Diagnostic Systems, Raritan, EEUU) (4). En este método están fijados a bandas de nitrocelulosa cuatro antígenos recombinantes del virus de la hepatitis C y tres controles internos, que a continuación se detallan:

Antígenos del virus de la hepatitis C. 5-1-1 y c100-3 (antígenos no estructurales de la región NS-4); c33c (antígeno no estructural de la región NS-3); y c22-3 (antígeno derivado de la nucleocápside viral).

Controles internos. Control IgG I, con una baja concentración de inmunoglobulinas G contra el virus de la hepatitis C; Control IgG II, con una elevada concentración de aquellas inmunoglobulinas G; y Control Superóxido Dismutasa, que se incluye para descartar aquellos resultados «positivos» falsos debido a la presencia de anticuerpos contra esta enzima, ya que todos los antígenos anteriormente descritos están unidos a la enzima superóxido dismutasa humana para facilitar su expresión.

Los anticuerpos, eventualmente presentes en los especímenes a determinar, reaccionan uniéndose con los antígenos fijados, dando lugar a un cambio de coloración, que se interpreta comparando la intensidad de la coloración de las bandas de los antígenos con la de los controles internos

anteriormente descritos. Se considera un resultado «positivo» (se ha detectado la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en el espécimen a determinar) si se observa reacción frente a 2 o más antígenos, por contra se considera un resultado «negativo» cuando no se observa reacción con ningún antígeno; por último, cuando el espécimen reacciona frente a un único antígeno se considera un resultado «indeterminado».

Resultados

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla I. De los 13 materiales de control y calibración determinados por el método de enzimoimmunoanálisis, 9 resultaron «positivos», confirmándose en 8 de ellos el resultado mediante el método de «inmunoblot», considerándose como falso «positivo» el restante. A los especímenes que resultaron inicialmente «negativos» no se les realizó ninguna determinación adicional.

Los falsos «positivos» obtenidos por el método de enzimoimmunoanálisis se han asociado ya sea a la presencia en el suero de los pacientes de anticuerpos contra la enzima superóxido dismutasa (5) o de factor reumatoide (6), o que el paciente presente hipergammaglobulinemia (7) o una hepatitis de etiología autoinmune (8).

Discusión

Los estudios de la prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C, en individuos donantes de sangre de diferentes países, oscilan entre 0,68 y 1,7% (9-13), por lo que la probabilidad de que los materiales de control y de calibración, preparados a partir de sangre de donantes, tengan estos anticuerpos es muy elevada.

Los conocimientos actuales parecen indicar que todo suero con anticuerpos contra la hepatitis C debe considerarse potencialmente infeccioso. Estudios realizados sobre la infectividad de los donantes con dichos anticuerpos han observado que un 70% de los resultados «positivos» obtenidos por el método de enzimoimmunoanálisis se confirmaban con el método de «inmunoblot», y que la mayoría de ellos correspondían a individuos portadores crónicos o que padecían una enfermedad hepática importante (14).

Por ello concluimos que sería conveniente la eliminación del plasma con anticuerpos contra el virus de la hepatitis

C de estos materiales comerciales, al igual que ocurre con los que contienen antígenos de superficie del virus de la hepatitis B o anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana. Ello evitaría el riesgo al personal del laboratorio que los maneja diariamente.

Bibliografía

1. Choo QL, Kug G, Weiner AJ et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1992; 244: 359-362.
2. Kuo G, Choo QL, Alter HJ et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-364.
3. Dood LG, McBride JH, Gitnick GL et al. Prevalence of non-A, non-B hepatitis/hepatitis C virus in laboratory quality-assurance sera. *Clin Chem* 1991; 37: 797-803.
4. Van der Poel CL, Cuyppers HTM, Reesink HW et al. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 1991; 337: 317-319.
5. Ikeda Y, Toda G, Hashimoto N, Kurokawa K. Antibodies to superoxide dismutase, autoimmune hepatitis and antibodies tests for hepatitis C. *Lancet* 1990; 335: 1345-1346.
6. Theilman L, Blazek M, Goesser K et al. False positive anti-HCV tests in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1990; 335: 1346.
7. Boudart D, Lucas JC, Mulle JY et al. False positive hepatitis C virus antibody tests in paraproteinemia. *Lancet* 1990; 336: 63.
8. Nishiguchi S, Kuroki T, Ueda T et al. Detection of hepatitis C virus antibody in the absence of viral RNA in patients with autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med* 1992; 116: 21-25.
9. Dawson GJ, Lesniewski RR, Stewart JL et al. Detection of antibodies to hepatitis C virus in U.S. blood donors. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 551-556.
10. Kuntl P, Seidl S, Stangel W et al. Antibodies to hepatitis C in German blood donors. *Lancet* 1989; 2: 324.
11. Janot C, Courouze AM, Maniez M. Antibodies to hepatitis C virus in French blood donors. *Lancet* 1989; 2: 796-797.
12. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 1: 294-297.
13. Sirchia G, Bellobuono A, Giovanetti A, Marconi M. Antibodies to hepatitis C virus in Italian blood donors. *Lancet* 1989; 2: 797.
14. Esteban JI, López-Talavera JC, Genesca J et al. High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 1991; 115: 443-449.