

# Evaluación de un nuevo inmunoensayo para detectar anticuerpos contra el virus de la hepatitis C\*

## *Evaluation of new immunoassay for detection of antibodies against hepatitis C virus*

► María Claudia Blanco-Rivero<sup>1</sup>, Graciela Medrano<sup>2</sup>, Marcelo García<sup>3</sup>, Gustavo Capriotti<sup>3</sup>, Mónica Torruella<sup>4</sup>

- 
1. Doctor en Ciencias Biológicas
  2. Técnico Químico
  3. Bioquímico
  4. Doctor en Ciencias Químicas

\* Centro de Investigación y Biotecnología, Wiener-lab. Av. J. D. Perón 2991 (S2003GSD) Rosario, Argentina.

### Resumen

Se evaluó el desempeño de un nuevo inmunoensayo de tercera generación para la detección de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C, *HCV ELISA 3ª generación* (Wiener-lab. Rosario. Argentina). Este equipo presenta reactivos coloreados para permitir el monitoreo de adición de muestras y control de procesos. Se evaluó la sensibilidad, especificidad y precisión de *HCV ELISA 3ª generación* mediante 5 paneles de seroconversión, 8 paneles de desempeño, 1 panel de sensibilidad para diferentes genotipos de HCV, 23 muestras de pacientes infectados con diferentes genotipos de HCV, 546 muestras de pacientes infectados, 556 muestras que contenían interferentes potenciales y 3.024 muestras de individuos no infectados. La sensibilidad en paneles de desempeño y en pacientes infectados fue 99,72%, y en muestras de pacientes infectados con diferentes genotipos fue 100%. La especificidad obtenida en muestras de donantes de sangre y Centros de Salud fue 99,50%. Finalmente, en los estudios de precisión se observó un coeficiente de variación intraensayo menor al 10%, e interensayo menor al 15% para muestras reactivas débiles. *HCV ELISA 3ª generación*, desarrollado por Wiener-lab, presenta un desempeño adecuado para el diagnóstico de la infección por HCV en el laboratorio serológico y en el tamizaje de donantes de sangre.

**Palabras clave:** virus de la hepatitis C \* anticuerpos específicos contra el virus de la hepatitis C \* enzimoimmunoensayo \* tamizaje serológico \* diagnóstico serológico

### Summary

*The performance of a new third-generation Anti-HCV, HCV ELISA third-generation (Wiener-lab. Rosario. Argentina), was evaluated. This kit presents sample addition monitoring and process control. Sensibility, specificity and precision of HCV ELISA 3ª generation were evaluated by means*

**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

---

of 5 seroconversion panels, 8 performance panels, 1 worldwide HCV performance panel (which includes different HCV genotypes), on 546 samples of patients infected with HCV, 556 samples containing potentially interfering substances, and 3024 samples of persons not infected with HCV. Sensibility was 99.72% on performance panels and samples of HCV infected patients, and 100% on samples of patients infected with different genotypes. The specificity obtained from samples from blood donors and health centers was 99.50%. Finally, in precision studies the intra-assay coefficient of variation found was smaller than 10% and the inter-assay CV was smaller than 15% for weak reactive samples. In summary, HCV ELISA 3<sup>a</sup> generation developed by Wiener-lab presents an adequate performance for the diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratory and blood donations screening.

**Key words:** hepatitis C virus \* anti-hepatitis C virus antibodies \* enzyme immunoassay \* serologic screening \* serologic diagnosis

## Introducción

El virus de la hepatitis C (HCV) es un ARN virus envuelto, perteneciente a la familia *Flaviviridae*, y que se transmite por vía parenteral, causando enfermedad hepática aguda y crónica. El genoma del HCV codifica para una poliproteína que es fragmentada en las siguientes proteínas funcionales: *core* (proteína de la nucleocápside), E1 y E2 (glicoproteínas de la envoltura), NS3 (serina proteasa y ATP helicasa), NS4 (cofactor de NS3) y NS5 (ARN polimerasa dependiente de ARN) (1).

Después de la exposición al virus, el período de incubación oscila entre 2 y 26 semanas. La fase inicial de la enfermedad causada por el HCV se denomina infección aguda y normalmente desaparece después de 2-12 semanas. El 80-85% de las personas inicialmente infectadas no eliminan el virus de su organismo y permanecen crónicamente infectadas. Sin embargo, la mayoría no presenta síntomas y desarrolla una vida normal. En el 10-25% de los infectados la enfermedad progresa durante un período de 10-40 años, lo cual puede ocasionar graves daños hepáticos como cirrosis, cáncer de hígado e incluso la muerte (2).

La hepatitis C es una enfermedad que raramente se diagnostica antes de la aparición de sus complicaciones crónicas. Desde la caracterización molecular del virus C en 1989, y su identificación como el principal agente etiológico de las hepatitis no-A no-B, se han desarrollado una variedad de pruebas diagnósticas basadas en la detección de anticuerpos anti-HCV (2) (3).

El primer ensayo serológico para la detección de anticuerpos contra el virus C, comercializado en 1989, consistió en un enzimoimmunoensayo (ELISA) indirecto, que empleaba un único antígeno derivado de la región NS4 fusionado a superóxido dismutasa (4). Este sistema de primera generación mostró baja sensibilidad (80%), baja especificidad, y presentaba un retraso en el diagnóstico serológico de la infección de

150 días, aproximadamente. Este largo período de ventana era la causa de la transmisión transfusional de HCV por donantes seronegativos (5).

En 1991 fueron introducidos los ELISA de segunda generación, y los antígenos constituyentes correspondieron a las regiones *core*, NS3 y NS4. Esta nueva versión incrementó la sensibilidad de detección a 95%, mejoró la especificidad, y redujo el período de ventana a aproximadamente 80 días (6-9).

Desde 1993 se emplean ELISA de tercera generación, constituidos por antígenos de las regiones *core*, NS3, NS4 y NS5. Estos inmunoensayos presentan una notable mejora en la sensibilidad y especificidad respecto a las versiones anteriores (10-14). La mayor sensibilidad del ELISA de tercera generación se atribuye principalmente a la reconfiguración de los antígenos *core* y NS3, más que a la incorporación de NS5 (15-18). El período de ventana con esta última generación de pruebas queda reducido a aproximadamente 58-72 días (19) (20). No obstante, éste es aún lo suficientemente elevado como para que donantes seronegativos transmitan HCV en transfusiones y causen una hepatitis postransfusional (21). Por otra parte, a pesar del incremento en la especificidad en esta nueva generación de inmunoensayos, la presencia de falsos positivos, más notoria en poblaciones de baja prevalencia como los donantes de sangre, sigue siendo una de las desventajas de los ELISA para hepatitis C (22-24).

Algunos autores consideran que la sensibilidad de las distintas marcas comerciales de los equipos de 3<sup>a</sup> generación es comparable (25). Sin embargo, otros argumentan lo contrario y atribuyen la diferencia fundamentalmente a la distinta capacidad de reacción de los anticuerpos contra la región NS3 (26).

Recientemente, Wiener-lab desarrolló un nuevo ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus C llamado *HCV ELISA 3<sup>a</sup> generación*. Está constituido por una policubeta con pocillos recubiertos de antígenos recombinantes *core*, NS3, NS4 y NS5. Sus compo-

nentes son coloreados, para permitir el monitoreo de la adición de muestras y el control de procesos. Asimismo, el conjugado es un anticuerpo monoclonal anti-IgG humana, y el revelador está listo para usar.

A fin de determinar sensibilidad, especificidad y reproducibilidad, este equipo fue evaluado con paneles de seroconversión y desempeño internacionales, con muestras de pacientes infectados con diferentes genotipos y subtipos de HCV, de individuos no reactivos provenientes de poblaciones de alto y bajo riesgo, y de pacientes con afecciones no relacionadas al HCV proclives a desarrollar reacciones cruzadas. Asimismo, se evaluó su aplicabilidad en el laboratorio serológico y en el tamizaje de donantes de sangre.

## Materiales y Métodos

### DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO

**Policubeta sensibilizada:** Policubeta de tiras removibles con 96 pocillos recortables y recubiertos con antígenos recombinantes de las regiones *core*, NS3, NS4 y NS5 del HCV.

**Diluyente de muestra:** *Buffer* salino con tensioactivo, color violeta.

**Conjugado concentrado:** Anticuerpo monoclonal anti-IgG humana conjugado con peroxidasa (10x), color rojo.

**Diluyente de conjugado:** *Buffer* salino con proteínas.

**Revelador:** Solución de tetrametilbencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno. Listo para usar.

**Finalizador de la reacción (*Stopper*):** Ácido sulfúrico 2 N.

**Buffer de lavado concentrado:** *Buffer* salino con tensioactivo (25x), color verde.

**Control positivo:** Suero humano inactivado que contiene anticuerpos contra HCV, color naranja.

**Control negativo:** Suero humano no reactivo inactivado, color amarillo.

### FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

Los pocillos de la policubeta están recubiertos con antígenos recombinantes derivados de la región estructural (*core*) y de la no estructural (NS3, NS4 y NS5) del virus de la hepatitis C. La muestra diluida se incuba en un pocillo. Si los anticuerpos contra el virus están presentes en la muestra, éstos se unen a los antígenos del pocillo. El material no unido se remueve por lavado. En el paso siguiente se agrega el conjugado, que consiste en un anticuerpo monoclonal anti-IgG humana

conjugado con peroxidasa. Éste se une a los complejos antígeno-anticuerpo formados previamente. El conjugado no unido se remueve por lavado. Posteriormente, se agrega una solución que contiene tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno. Las muestras reactivas desarrollan color celeste que vira al amarillo cuando se detiene la reacción con ácido sulfúrico.

### DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Se dispensan 100 µL del diluyente de muestra en cada pocillo. Posteriormente, se adicionan 20 µL de las muestras o controles, sembrándose el control negativo por triplicado y el control positivo por duplicado. La policubeta se cubre con cinta autoadhesiva y se incuba durante 60 min a 37 °C en estufa seca.

Después de la incubación se realizan 5 ciclos de lavado en un lavador automático de microplacas Stat Fax 2600 (*Awareness Technologies Inc.*, Florida, EE.UU.), con 350 µL/pocillo/ciclo de una dilución 1/25 del *buffer* de lavado concentrado. A continuación se agregan 100 µL de conjugado (preparado por dilución 1/10 del conjugado concentrado con el diluyente de conjugado), se cubre la policubeta con cinta autoadhesiva, y se incuba durante 30 min a 37 °C en estufa seca.

Luego de la incubación, se realizan nuevamente 5 ciclos de lavado como se explicó anteriormente, y se dispensan 100 µL de revelador. La policubeta se incuba 30 min a temperatura ambiente (18-25 °C), protegiéndola de la luz.

Finalmente, se detiene la reacción con el agregado de 100 µL de ácido sulfúrico 2 N. Dentro de los 10 min, se determina la absorbancia de la solución de los pocillos con un espectrofotómetro Stat Fax 2100 (*Awareness Technologies Inc.*, Florida, EE.UU.) con lectura bicromática a 450/630 nm.

Se considera reactiva toda muestra cuya absorbancia supere el valor de corte, determinado por 0,150 más la absorbancia del promedio de los controles negativos.

### EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD

- \* Sensibilidad clínica en muestras reactivas anti-HCV: Se evaluaron 546 muestras con infección por HCV que provenían de diferentes instituciones hospitalarias.
- \* Sensibilidad en Paneles de Desempeño:
  - PHV 103 (*Anti-HCV Low Titer Performance Panel*, Boston Biomedica Inc (BBI), EE.UU.)
  - PHV 105M (*Anti-HCV Low Titer Performance Panel*, BBI, EE.UU.)
  - PHV 106 (*Anti-HCV Low Titer Performance Panel*, BBI, EE.UU.)
  - PHV 205 (*Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel*, BBI, EE.UU.)
  - PHV 206 (*Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel*,

BBI, EE.UU.)

PP 0404 (Panel de Desempeño para HCV, Q Panel, Brasil)

PP 0405 (Panel de Desempeño para HCV, Q Panel, Brasil)

PP 0406 (Panel de Desempeño para HCV, Q Panel, Brasil)

\* Sensibilidad en Paneles de Seroconversión:

PHV 901 (*Hepatitis C Seroconversion Panel*, BBI, EE.UU.)

PHV 906 (*Hepatitis C Seroconversion Panel*, BBI, EE.UU.)

PHV 910 (*Hepatitis C Seroconversion Panel*, BBI, EE.UU.)

PHV 912 (*Hepatitis C Seroconversion Panel*, BBI, EE.UU.)

PHV 920 (*Hepatitis C Seroconversion Panel*, BBI, EE.UU.)

\* Sensibilidad a diferentes genotipos: Se evaluó el panel *Worldwide HCV Performance Panel WWHV 302* (BBI, EE.UU., Tabla I), y 23 muestras de panel propio (14 muestras del genotipo 1, cinco del genotipo 2, y 4 del genotipo 4).

Tabla I. Descripción del panel WWHV 302

Muestra	Origen	Genotipo
1	China	1b
2	Tailandia	1a
3	Sudáfrica	1b
4	China	2a/2c
5	EE.UU.	2a/2c
6	China	3b
7	EE.UU.	3a
8	Tailandia	3a
9	Egipto	4a
10	Egipto	4
11	Egipto	4a
12	Desconocido	5a
13	Sudáfrica	5a
14	Desconocido	6a

#### EVALUACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD

Se evaluaron 3.580 muestras frescas que provenían de individuos con diferentes condiciones clínicas, tal como se detalla en la Tabla II.

#### EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN

Se evaluó la precisión de la prueba siguiendo el protocolo EP5-A recomendado por la CLSI (27). Los ensayos fueron realizados con los controles y con muestras de diferentes niveles de reactividad en el ELISA. Se realizaron 2 ensayos diarios evaluando cada muestra por duplicado y durante el transcurso de 20

Tabla II. Población estudiada para evaluación de la especificidad

Población		Número de muestras
Banco de sangre		1.364
Hospitalaria	Centro 1	969
	Centro 2	691
Individuos con diferentes condiciones clínicas que podrían ser causantes de reacciones inespecíficas	Embarazadas	46
	Hemodializados	58
	Autoanticuerpos <sup>a</sup>	72
	Enfermedades virales <sup>b</sup>	209
	Enfermedades bacterianas o parasitarias <sup>c</sup>	171

<sup>a</sup> Con autoanticuerpos anti-gliadina (AGA), anti-mitocondriales (AMA), anti-cardiolipinas (ACA), anti-tiroides (ATA), antinucleares (FAN), factor reumatoideo (FR) y otros.

<sup>b</sup> Con anticuerpos contra los virus de hepatitis A (HAV), hepatitis B (HBV), Epstein Barr (EBV), citomegalovirus (CMV), *Herpes Simplex* (HSV), Varicela Zoster (VZV), inmunodeficiencia humana (HIV), Linfotrópico Humano (HTLV) y otros.

<sup>c</sup> Con anticuerpos contra *Treponema pallidum*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Toxoplasma gondii*, *Toxocara canis*, *Trypanosoma cruzi*, y otros microorganismos.

días (n=80).

## Resultados

#### SENSIBILIDAD EN PANELES DE DESEMPEÑO

En el estudio realizado con diferentes paneles comerciales internacionales, se obtuvieron los siguientes resultados, resumidos en la Tabla III.

Tabla III. Resultados de HCV ELISA 3ª generación obtenidos con paneles internacionales de desempeño

Panel	Muestras reactivas	Muestras detectadas
PHV 103	14	14
PHV 105M	12	12
PHV 106	14	13
PHV 205	23	23
PHV 206	23	23
PP 0404	16	16
PP 0405	16	16
PP 0406	16	16

#### SENSIBILIDAD EN PANELES DE SEROCONVERSIÓN

En el estudio realizado con paneles de seroconversión de *Boston Biomedica Inc* (BBI, EE.UU.) se obtuvieron los siguientes resultados, que se resumen en la

Tabla IV. Resultados de HCV ELISA 3ª generación con paneles de seroconversión

Panel	Número de muestras	HCV 3ª generación*	RIBA*	Patrón de seroconversión	Genotipo
PHV 901	11	9 (97)	9 (97)	NS3-NS4	1a
PHV 906	7	5 (7)	7 (0)	NS3-NS4	1b
PHV 910	5	3 (8)	3 (8)	core	1b
PHV 912	3	1 (7)	1 (7)	core	2b/3
PHV 920	10	7 (13)	7 (13)	core-NS3	1a

\* Se indica el número de muestras reactivas con cada método. El número entre paréntesis indica el número de días entre el sangrado inicial y la primera muestra reactiva.

Tabla IV.

## SENSIBILIDAD A DIFERENTES GENOTIPOS

En la evaluación del *Worldwide HCV Performance Panel WWHV 302* (BBI. EE.UU), se detectaron las 14 muestras reactivas. Además, se detectaron 14 muestras del genotipo 1, 5 del genotipo 2 y 4 del genotipo 4 de un panel interno.

## SENSIBILIDAD CLÍNICA EN PANELES DE MUESTRAS REACTIVAS ANTI-HCV

En un estudio realizado sobre 190 muestras con infección por HCV, confirmada por diferentes métodos, se encontraron reactivas con *HCV ELISA 3ª generación* la totalidad de las muestras. En otro estudio con 356 muestras reactivas provenientes de diferentes instituciones hospitalarias, se detectaron 355 muestras. La sensibilidad en la totalidad de las muestras evaluadas fue 99,82%.

Tabla V. Resumen de sensibilidad con el HCV ELISA 3ª generación

Paneles	Número de muestras	Sensibilidad
Genotipos	37	100%
Interno	190	100%
Institución hospitalaria	356	99,72%
<i>Total</i>	<i>719</i>	<i>99,72%</i>

En la Tabla V se muestra un resumen de la sensibilidad obtenida con las diferentes poblaciones y paneles.

## EVALUACIÓN DE REACTIVIDAD EN DILUCIONES DE MUESTRAS HCV POSITIVAS

Se analizó la reactividad de este nuevo ensayo con muestras HCV positivas en dilución. Se pudieron detectar diluciones de hasta 1/3.200, dependiendo del título inicial de la muestra. La mayoría de las muestras fuertes fue detectada hasta un título de 1/400. No se observaron diferencias entre la dilución en suero bovino o matriz humana negativa.

Los anticuerpos sintetizados en la fase temprana de la seroconversión y los que aparecen en la fase tardía

de la enfermedad pueden diferir en sus propiedades funcionales. Por lo tanto, es importante destacar que estas diluciones artificiales de sueros altamente reactivos (con anticuerpos tardíos) no equivalen a sueros naturales con bajo título. Estos últimos se prefieren para estudiar la sensibilidad clínica o diagnóstica, ya que reflejan el cuadro serológico real en la fase temprana de la infección por HCV (28).

## ESPECIFICIDAD

La especificidad debe ser ensayada separadamente en poblaciones de alto y bajo riesgo, ya que la proporción de falsos positivos aumenta en la población de baja prevalencia. En este caso, la especificidad fue evaluada en muestras frescas de donantes de sangre (baja prevalencia de HCV), y de 2 centros hospitalarios con alta prevalencia de hepatitis C. Todas las muestras discrepantes fueron evaluadas con 2 ELISA para HCV de diferente origen. Las muestras que permanecieron discrepantes

Tabla VI. Especificidad diagnóstica de HCV ELISA 3ª generación

Población		Número de muestras	Especificidad
Banco de sangre		1.364	99,41%
Hospitalaria	Centro 1	969	99,69%
	Centro 2	691	99,42%
<i>Total</i>		<i>3.024</i>	<i>99,50%</i>

fueron estudiadas mediante *Inno-LIA HCV Score*. Los resultados obtenidos se detallan en la Tabla VI.

Además, se estudió la posible aparición de reactividad cruzada evaluando 556 muestras provenientes de individuos con diferentes condiciones clínicas no relacionadas con infección por HCV que podrían ser causantes de reacciones inespecíficas para el ensayo *HCV ELISA 3ª generación*. La especificidad obtenida para esta población fue de 98,38%. Los resultados detallados se resumen en la Tabla VII.

## PRECISIÓN

Tabla VII. Especificidad analítica de HCV ELISA 3ª generación

Condición clínica		Número de muestras	Falsos positivos
Embarazadas		46	–
Hemodializados		58	–
Autoanticuerpos	Anti-gliadina	10	–
	Anti-microsomales	13	–
	Anti-cardiolipinas	17	–
	Anticuerpos contra tiroides	21	1
	Factores reumatoideo y antinucleares	11	–
Enfermedades virales	Hepatitis A	14	1
	Hepatitis B	73	2
	Virus <i>Epstein-Barr</i>	15	1
	Herpes virus	4	–
	Citomegalovirus	11	–
	HIV	55	2
	HTLV	29	–
	Virus de la Varicela zoster	5	–
	Otros	3	–
Enfermedades bacterianas y parasitarias	Sífilis	39	2
	Micoplasma	64	–
	Bartonella y <i>Helicobacter pylori</i>	8	–
	Chagas	43	–
	Toxoplasmosis	10	–
Toxocarosis	7	–	
<i>Total</i>		556	9

Se evaluó la precisión de la prueba según el protocolo EP5-A recomendado por la CLSI, tal como se indica en Materiales y Métodos. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla VIII.

La detección de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C es de suma utilidad en la identificación de pacientes infectados y en el tamizaje de donantes de sangre. La presencia de estos anticuerpos indica una infección por HCV sin diferenciación de su estadio.

En las últimas décadas el riesgo de transmisión post-transfusional de HCV ha disminuido notablemente. Con la introducción del primer ensayo para detectar anti-HCV el riesgo de transmisión por cada unidad de

## Discusión y Conclusiones

Tabla VIII. Coeficientes de variación intra e inter-ensayo obtenidos con HCV ELISA 3ª generación

Muestras	Media de absorbancia	Intra-ensayo		Inter-ensayo	
		D.E.	CV	D.E.	CV
Muestra 1	0,330	0,026	7,92%	0,038	11,42%
Muestra 2	0,405	0,031	7,73%	0,050	12,37%
Muestra 3	0,579	0,044	7,53%	0,075	13,02%
Muestra 4	0,976	0,076	7,76%	0,102	10,42%
Muestra 5	0,516	0,049	9,48%	0,077	14,95%
Control Positivo	1,297	0,082	6,30%	0,164	12,64%
Control Positivo (2)	1,295	0,109	8,38%	0,158	12,23%
Control Negativo	0,047	0,004	9,38%	0,007	14,86%
Control Negativo (2)	0,047	0,005	11,43%	0,007	15,72%

D.E.: desviación estándar. CV: coeficiente de variación.  
(2) Los controles fueron ensayados por duplicado.

sangre transfundida se redujo de 0,45% a 0,03% (29). Las generaciones crecientes de ELISA han reducido aún más el período de ventana y el riesgo de transmisión transfusional de HCV (30-32). Sin embargo, debido al tiempo prolongado que transcurre entre la infección y la seroconversión, los niveles de anti-HCV pueden ser indetectables en las fases tempranas de la infección. Así, un resultado no reactivo en un ELISA no excluye la posibilidad de infección por HCV, y es necesario recurrir a pruebas de detección de ácidos nucleicos para obtener una mayor seguridad transfusional (19) (33).

Wiener-lab desarrolló un nuevo ELISA de 3ª generación para la detección de anticuerpos contra las regiones *core*, NS3, NS4 y NS5 del HCV. Presenta un anticuerpo monoclonal anti-IgG humana como conjugado, revelador listo para usar, y reactivos coloreados, para permitir el monitoreo de la adición de muestras y el control de procesos.

En el presente trabajo se evaluaron la sensibilidad, especificidad y precisión de este equipo.

Este nuevo ensayo presentó una especificidad de 99,50% en muestras clínicas y de donantes de sangre.

En individuos con situaciones no relacionadas con infección por HCV y propensos a causar reacciones cruzadas la especificidad fue de 98,38%. Los resultados falso-reactivo pueden deberse a hipergammaglobulinas poli o monoclonales (mieloma, factor reumatoideo), enfermedades hepáticas y autoinmunes, sífilis y otras infecciones virales (HIV, HBV) (10).

La sensibilidad obtenida fue de 99,72% en 719 muestras reactivas ensayadas, incluyendo muestras de paneles, de instituciones hospitalarias y de diferentes genotipos de HCV.

*HCV ELISA 3ª generación* contiene epitopes cuali y cuantitativamente aptos para la detección de anticuerpos específicos contra los distintos genotipos y antígenos virales, aún en baja concentración, como queda demostrado en los resultados obtenidos con paneles de seroconversión, de desempeño, de genotipos y en dilución de muestras.

En los estudios de precisión realizados según el protocolo EP5-A, recomendado por la CLSI, se observó que el coeficiente de variación interensayo con este nuevo ELISA osciló entre 10 y 15%, para muestras reactivas débiles y medianas, mientras que el intraensayo fue menor al 10%.

Estas características de desempeño coincidieron con las descritas en la bibliografía para reactivos de 3ª generación (10) (34).

En conclusión, se presentaron los resultados de la evaluación de desempeño de *HCV ELISA 3ª generación*, desarrollado por Wiener-lab, un equipo que presenta robustez técnica y seguridad operativa debido a la calidad y coloración de sus constituyentes; y cuya sensibilidad, especificidad y precisión son las adecuadas para

su empleo en el diagnóstico serológico y el tamizaje de donantes de sangre.

#### CORRESPONDENCIA

DR. MARCELO DANIEL GARCÍA

Moreno 1850, 2º Piso

C1094ABB CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES

E-mail: mgarcia@wiener-lab.com.ar

#### Referencias bibliograficas

1. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 2004; 39 (1): 5-19.
2. Gómez-Cordero I, Álvarez-García M. Biología y métodos diagnósticos de la hepatitis C. *Rev Bioméd* 2003; 14: 253-68.
3. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LF, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.
4. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, *et al.* An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus for human non A non B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-4.
5. Aach R, Stevens C, Hollinger H, Mosley J, Peterson D, Tylor P, *et al.* Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first and second-generation assays. *New Engl J Med* 1991; 325: 1325-9.
6. Chemello L, Cavalletto D, Pontisso P, Bortolotti F, Donada C, Donadón V, *et al.* Patterns of antibodies to hepatitis C virus in patients with chronic non A non B hepatitis and their relationship to viral replication and liver disease. *Hepatology* 1993; 17: 179-82.
7. Wang JT, Wang TH, Lin JT, Shen JC, Lee CZ, Chen DS. Improved serodiagnostic of posttransfusion hepatitis C virus infection by second generation-immunoassay based multiple recombinant antigens. *Vox Sang* 1992; 62: 21-4.
8. Majid AM, Gretch DR. Current and future hepatitis C virus diagnostic testing: problems and advancements. *Microbes Infect* 2002; 4: 1227-36.
9. Kleinman S, Alter H, Busch MP, Holland P, Tegtmeier G, Nelles M, *et al.* Increased detection of hepatitis C (HCV) infected blood donors by multiple antigens HCV enzyme immunoassay. *Transfusion* 1992; 32: 806-13.
10. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepatitis* 2001; 8 (2): 87-95.
11. Macris K, Kouvelis V, Dracopoulos I, Oikonomou E, Maniatis A. Frequency and characteristics of post-transfusion hepatitis in Greece with emphasis on hepatitis C: comparing second and third generation

- assays. *Transfus Med* 1995; 5: 213-24.
12. Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, Raynard B, Darthuy F, Remire J, *et al.* What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology* 1998; 27: 1700-2.
  13. De Medina M, Schiff ER. Hepatitis C: Diagnostic assays. *Sem Liver Dis* 1995; 15: 33-40.
  14. Lok ASF, Gunaratnum NT. Diagnosis of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26 (suppl 1): 48S-56S.
  15. Vernelen K, Claeys H, Verhaert H, Volckaerts A, Vermynen C. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody. *Lancet* 1994; 343: 853.
  16. Corouce AM, Bouchardeau F, Girault A, Le Marrec N. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody. *Lancet* 1994; 343: 853-4.
  17. Goffin E, Pirson Y, Cornu C, Jadoul M, Van Ypersele de Strihou C. Significance of NS3 and NS5 antigens in screening for HCV antibody. *Lancet* 1994; 343: 854.
  18. van der Poel CL, Cuypers HT, Reesink HW. Hepatitis C virus six years on. *Lancet* 1994; 344: 1475-9.
  19. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, *et al.* NHLBI-REDS NAT Study Group. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion* 2005; 45 (2): 254-64.
  20. Couroucé AM, Le Marrec N, Girault A, Ducamp S, Simon N. Anti-hepatitis C virus (anti-HCV) seroconversion in patients undergoing hemodialysis: comparison of second. and third-generation anti-HCV assays. *Transfusion* 1994; 34: 790-5.
  21. Vrieling H, van der Poel CL, Reesink HW, Zaaijer HL, Lelie PN. Transmission of hepatitis C virus by anti HCV negative blood transfusion. Case report. *Vox Sang* 1995; 68: 55-6.
  22. Vrieling H, Zaaijer HL, Reesink HW, Lelie PN, van der Poel CL. Comparison of two anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays. *Transfusion* 1995; 35: 601-4.
  23. Vrieling H, van der Poel CL, Reesink HW, Lelie PN. Comparison of two anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays: Wellcozyme VK 45 and Ortho2.0. *Infusionsther Transfusionsmed* 1995; 22: 164-7.
  24. Lavanchy D, Steinmann J, Moritz A, Frei PC. Evaluation of a new automated third-generation anti-HCV enzyme immunoassay. *J Clin Lab Anal* 1996; 10 (5): 269-76.
  25. Vrieling H, Zaaijer HL, Reesink HW, van der Poel CL, Cuypers HT, Lelie PN. Sensitivity and specificity of three third generation anti-hepatitis C virus ELISAs. *Vox Sang* 1995; 69: 14-7.
  26. Corouce AM, Barin F, Botte C, Lunel F, Maisonneuve P, Mainez M, *et al.* A comparative evaluation of the sensitivity of seven anti-hepatitis C virus screening test. *Vox Sang* 1995; 69: 213-6.
  27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A 19/2. 1999
  28. Bondarenko IG, Garrett PE, Savinova IN, Sedunova YA. Lack of correlation between sensitivity characteristics of the tests for hepatitis C virus antibodies estimated with serially diluted and natural low-reactive control specimens. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59 (2): 153-8.
  29. Donahue J, Muñoz A, Ness P, Brown D, Yawn D, Mc Allister H, *et al.* The declining risk of posttransfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 369-73.
  30. Kleinman S, Busch M, Korelitz J, Schreiber G. The incidence/window period model and its use to assess the risk of transfusion-transmitted HIV and HCV viral infection. *Transfus Med Rev* 1997; 11: 155-72.
  31. Tobler L, Busch M. History of posttransfusion hepatitis. *Clin Chem* 1997; 43: 1487-93.
  32. Offergeld R, Faensen D, Ritter S, Hamouda O. Human immunodeficiency virus, hepatitis C and hepatitis B infections among blood donors in Germany 2000-2002: risk of virus transmission and the impact of nucleic acid amplification testing. *Euro Surveill* 2005; 10 (2): 8-11.
  33. Stramer S, Glynn S, Kleinman S, Strong M, Caglioti S, Wright D, *et al.* Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *New Engl J Med* 2004; 351: 760-8.
  34. Scheiblaue H, El-Nageh M, Nick S, Fields H, Prince A, Díaz S. Evaluation of the performance of 44 assays used in countries with limited resources for the detection of antibodies to hepatitis C virus. *Transfusion*



2006; 46: 708-18.

**Aceptado para su publicación el 16 de mayo de 2008**