

Artículo de revisión

Lo que no sabemos y lo que debemos saber acerca de las pruebas moleculares en el tamiz de infecciones transmitidas por infección en donadores de sangre en México

Héctor A Baptista-González*

Resumen

Los algoritmos para el tamiz de los donadores de sangre se basan principalmente en estudios serológicos mediante técnicas inmunoenzimáticas, principalmente ELISA, forman parte del esquema más racional y con mejor resultado costo-efectividad, por lo que es la metodología más empleada. Para poder incluir una nueva prueba en el tamiz de los donadores de sangre, se deben cumplir obligadamente, ciertos criterios epidemiológicos y técnicos para poder lograr un impacto favorable en la modificación de la historia natural de la enfermedad, lograr la factibilidad y viabilidad de la intervención con el menor costo económico posible, evaluado mediante un estudio integrativo de costo-eficiencia favorable. Las pruebas suplementarias (p24, anti-HBc) o moleculares, que han generado un valor agregado en este proceso de escrutinio con resultados variables. No existe información suficiente que demuestre en términos técnicos científicos, al igual que otras intervenciones en salud, las ventajas de los estudios moleculares mediante una estrategia universal en el tamiz de donadores de sangre. El conocimiento del proceso del escrutinio de donadores y los reportes per-

Abstract

The algorithms to screening the blood donors are based primarily on serologic tests by immunoenzyme techniques, mainly ELISA, comprise of the most rational scheme and with a better result cost-effectiveness reason why using is the methodology more. In order to be able to include a new test in the screening of blood donors, we must complete compulsorily, certain epidemiologists and technicians criteria to be able to obtain a favorable impact on modification of natural history of the disease, to obtain the feasibility and viability of intervention evaluated by an integrative study of favorable cost-efficiency. The additional tests (p24, anti-HBc) or molecular techniques have generated an added value in this process of screening with variable results. Sufficient information that does not exist it demonstrates in scientific technical terms, like other interventions in health, the advantages of the molecular studies by a universal strategy in testing blood donors. The knowledge of the process to study blood donors, and the persistent reports of the high seroprevalence, indicate to evident faults in tactically important points of education for the health, promotion of blood donation and medical evaluation in the selec-

* Hematología Perinatal. Instituto Nacional de Perinatología. Medicina Transfusional y Banco de Sangre, Médica Sur.

sistentes de la elevada seroprevalencia, señala evidentes fallas en los puntos críticos de educación para la salud, promoción de la donación y evaluación médica en la selección de donadores, en un marco legal ineficiente que inhibe el desarrollo de donador seguro, para que en conjunto con sus resultados de costo-eficiencia, se establezca una secuencia coherente entre donador seguro y sangre segura en beneficio de la salud de la población.

Palabras clave: Virus transmitidos por transfusión, donador de sangre, banco de sangre, transfusión sanguínea.

tion of blood donors, in an inefficient legal frame that inhibits the development of safe donor, so that altogether with his results of cost-efficiency, it settles down a coherent sequence between safe donor, and safe blood to the benefit of population health.

Key words: Transfusion transmitted virus, blood donors, blood banks, blood transfusion.

Para incluir una nueva prueba en el tamiz de los donadores de sangre se deben cumplir, obligadamente, ciertos criterios epidemiológicos y técnicos para lograr un impacto favorable en la modificación de la historia natural de la enfermedad, así como la factibilidad y viabilidad de la intervención con el menor costo económico posible, evaluado mediante un estudio integrativo de costo-eficiencia favorable (Cuadro I). Si es-

tos criterios no son tomados en cuenta en el contexto local de cada banco de sangre o institución, se tenderán a repetir errores históricos, los cuales constan en los antecedentes de la medicina mexicana.

Los distintos reportes sobre la prevalencia de reactividad entre los marcadores serológicos de enfermedades infecciosas, en donadores de sangre, representan un sesgo de auto-selección, pues la probabilidad de acudir a

Cuadro I. Variables que intervienen en el perfil de una prueba de escrutinio.

Criterios epidemiológicos:

- Prevalencia de la enfermedad (si la frecuencia de detección es demasiado baja, el costo por caso podría ser elevado, consecuentemente con una escasa reducción de la morbilidad y mortalidad)
- Tasa de incidencia de la enfermedad
- Duración promedio de la fase preclínica
- Tamiz previo en los donadores (donador voluntario o reposición, de primera vez o repetición, con selección médica o con serológica dirigida, etc.)

Criterios técnicos:

- Evaluación de desempeño de la prueba (pruebas diagnósticas, esperando obtener la máxima sensibilidad e ideal, pero no obligadamente, también una máxima especificidad, que genere una tasa baja de falsos positivos, pues los valores predictivos dependen de la prevalencia de la enfermedad)
 - Validez interna y externa comprobada
 - Puntos claros de corte
 - Disponibilidad opcional de prueba suplementaria
 - Disponibilidad de prueba confirmatoria
 - Estrategia de tamiz en pruebas en paralelo o en serie
- Criterio de integración:
- Documentación sobre la evidencia de costo-eficiencia

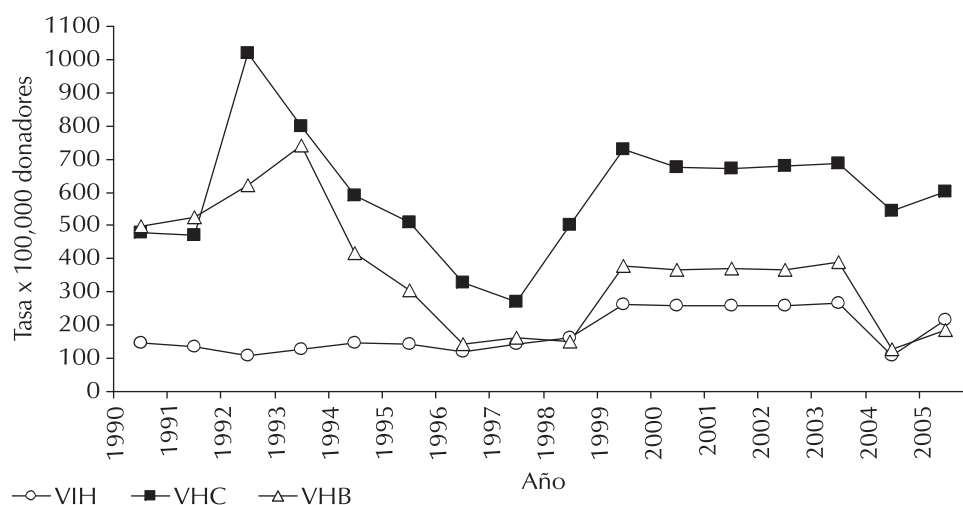


Figura 1. Dinámica en la tasa de seroprevalencia reportada en donadores de sangre 1990-2005.

tamiz (participar) es mayor en sujetos más saludables y con menor riesgo de enfermedad. Sin embargo, frecuentemente se emplea la seroprevalencia de donadores para referirse al comportamiento poblacional de un marcador, como se muestra en la compilación de los reportes presentados sobre la prevalencia serológica de diversos estados de la República Mexicana, en el periodo 1990-2005, expresados en tasa por 100,000 donaciones (Figura 1).

Los marcadores para anti-VHC, son entre 4 y 5 veces más frecuentes que anti-VIH y el Ags-HB. Es decir, a pesar de que existe una serie de filtros que selecciona y elimina posteriormente a más del 50% de los sujetos que se presentan a donar, algunos quedan sin detectar; por ejemplo, en el caso de VIH se adquirieron mediante prácticas sexuales de riesgo. Las pruebas moleculares se desarrollaron para integrarse a una estrategia de estudio en la población de donadores de sangre. Las políticas institucionales o nacionales han sido distintas, con resultados ampliamente variables, debido a que la identificación de virus transmitidos por transfusión también se engloba en el esquema «Norte-Sur». Los países industrializados han hecho un gran esfuerzo por identi-

ficar el riesgo de transmisión del VHC, VHB y VIH. Con la introducción de las técnicas moleculares el riesgo residual se limita a un caso entre 2,135,000 donaciones (tasa cero para VIH-2), 1:1,935,000 para VHC y para VHB es de un caso entre 205,000-488,000 donaciones, y comparados con otros países latinoamericanos el riesgo residual actual varía de 1:4,957, 1:496,712 y 1:24,179, para cada marcador respectivamente.¹ Así pues, en esta revisión presentaremos algunos de los aspectos biológicos, epidemiológicos y técnicos que sirven de marco en este análisis.

Los algoritmos para el tamiz de los donadores de sangre se basan fundamentalmente en estudios serológicos. Las pruebas inmunoenzimáticas, principalmente ELISA, forman parte del esquema más racional y con mejor resultado costo-efectividad, por lo que es la metodología más empleada, aunque se tienen pruebas suplementarias (p24, anti-HBc), o moleculares, que han generado un valor agregado en este proceso de escrutinio con resultados variables. En la comparación entre diferentes metodologías y reactivos de diferentes fabricantes, en triple detección molecular, evaluando panel de seroconversión, existen diferencias significativas en la sensibi-

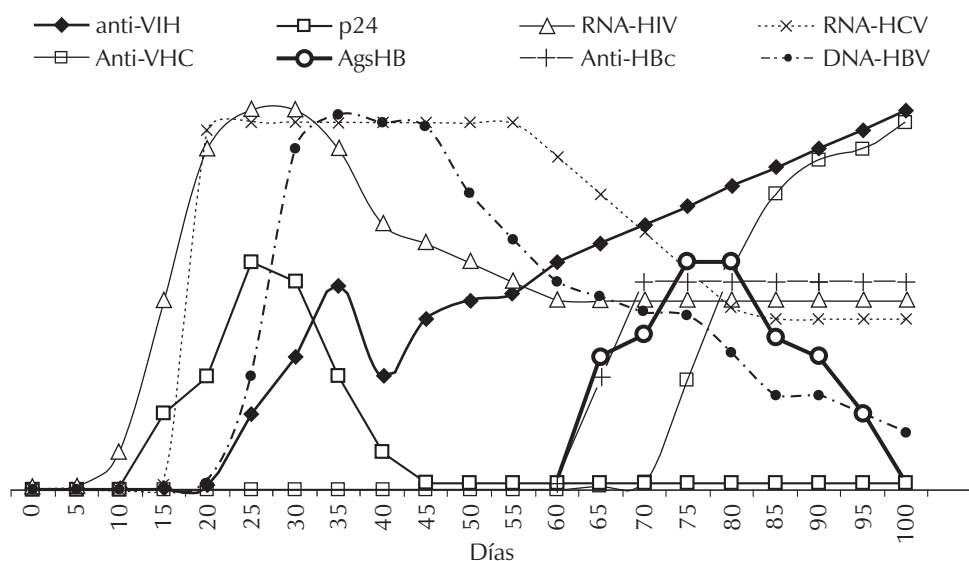


Figura 2. Cinética en la detección serológica y molecular en la infección aguda de VIH, VHC, VHB.

lidad y eficiencia en la detección de periodos de ventana (Figura 2). Esto significa que la presencia de RNA o DNA viral no es detectado inmediatamente después del inóculo, tiempo que varía entre 7, 11 y 21 días promedio para VIH, VHC y VHB, respectivamente. En el mismo sentido, la respuesta serológica es relativamente temprana para VIH, 22 días, pero más prolongada para VHB y más aún para VHC.

Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

A la inoculación del virus, sigue una etapa de replicación viral, que puede ser detectada hacia el día 10-11 de la infección, mediante la identificación del VIH-RNA en el plasma del donador. Entre los días 10-16 es posible identificar en el laboratorio la presencia sérica del antígeno p24 del VIH. La etapa sin detección de anticuerpos o periodo de ventana serológica, se extiende hasta el día 21-22 del inóculo donde el anti-VIH aumenta paulatinamente su concentración hacia el día 40, para posteriormente seguir una rampa rápida de ascenso. El escrutinio legal y práctico de los

donadores es mediante la búsqueda de anticuerpo anti-VIH en suero. La prueba suplementaria para detectar una etapa previa es mediante la detección de p24 y la prueba confirmatoria tradicional es la inmunoelectrotransferencia (Western blot), misma a la que puede adicionarse la detección molecular del VIH-RNA. Esto significa que para el escrutinio de VIH se puede emplear la estrategia de pruebas paralelas (anti-VIH, p24, VIH-RNA) o en serie, que puede ser de una sola prueba o en combinaciones.

Virus de la hepatitis B (VHB)

La mejoría tecnológica para la identificación en los donadores de sangre del VHB, ha disminuido significativamente el riesgo de transmisión por transfusión de la infección por el VHB: un evento por cada 153,000 a 500,000 donaciones. Sin embargo, esta mejoría es aparente, pues el riesgo es de 10 a 100 veces mayor al compararse con la probabilidad de infección transfusional del VIH o VHC.² Existen propuestas sobre agregar al tamiz con AgsHB, la detección del anticuerpo contra la porción central del VHB (anti-HBc), la amplifica-

ción de los ácidos nucleicos del VHB o VHB-DNA o diferentes combinaciones de las tres pruebas.^{4,5} Se han efectuado diferentes estudios para la validación de las pruebas moleculares en el periodo de ventana serológica de la infección aguda de la enfermedad y el estado de portador crónico o infección oculta por el VHB.⁶ La relevancia de estos hechos se debe a que la infección crónica por el VHB se presenta en cerca del 90% de los donadores AgsHB. El criterio para definir al portador inactivo del VHB debe incluir la persistencia serológica del AgsHB, con negatividad para el AgeHB pero sí con su anticuerpo correspondiente, anti-HBe, con valores normales de ALT y niveles séricos de VHB DNA menores a 10,000 copias/mL o < 2,000 IU/mL, para unos y < 1.5 veces el límite superior de ALT y < 100,000 copias/mL para VHB-DNA.⁷ La comparación entre los diversos valores de VHB-DNA se genera con las diferentes metodologías o técnicas disponibles. Las causas por las que no es posible identificar mediante NAT para VHB-DNA, incluyen la presencia de los genotipos A (56%) y D (4%), sujetos AgsHB identificados mediante pruebas ultrasensibles, periodos de ventana con muy baja carga viral, sujetos con patrón fluctuante de VHB-DNA y anti-HBs (infección recuperada) y sujetos con anti-HBc pero sin anti-HBs o portador crónico asintomático.⁸

Virus de la hepatitis C (VHC)

Luego de la inoculación, la detección del VHC-RNA tiene un periodo silente de aproximadamente 12 días, para posteriormente generar un efecto de ascenso muy rápido para una carga viral elevada hacia los días 18-20. Posteriormente, y hacia el día 60, ocurre una caída significativa de la carga viral para mantenerse en efecto de meseta durante un periodo prolongado. El desarrollo del anticuerpo ocurre

hacia el día 70 luego del inóculo, obteniéndose un efecto de meseta con máxima concentración de anti-VHC hacia los días 85-90.

Junto con la aparición de seroconversión en sujetos receptores de sangre negativa en pruebas moleculares para marcadores virales, es indicado que la transmisión del VHC puede ser causada por donaciones que escapen a la detección de ácidos nucleicos, a pesar de estudiarse en muestras individuales.⁹ La comparación con diferentes pruebas nos lleva a resultados que no necesariamente reflejan la sensibilidad esperada e implica la necesidad de emplear material y reactivos estandarizados que representen a todos los genotipos del VHC.⁹

Treponema pallidum

Es una bacteria del grupo de las espiroquetas, un organismo helicoidal cuyo genoma fue secuenciado por completo en 1998 y consta de 44 secuencias de tRNA organizado en 8 racimos de 25 genes y 19 genes sencillos y dos operones de rRNA. La virulencia de la espiroqueta está incluida en 12 proteínas de membrana.

La infección adquirida por transmisión sexual presenta un periodo de incubación promedio de tres semanas, para aparecer las lesiones luéticas de la sífilis primaria. En la lesión secundaria se tiene disponible en nuestro medio pruebas no treponémicas (VDRL, RPR) y treponémicas, con amplia variabilidad en términos de especificidad. Sin embargo, en legislaciones como la nuestra no se hace diferencia en aceptación o rechazo de un donador que es reactivo a pruebas no treponémicas, pero negativo a las treponémicas. La preparación biológica de referencia (PBR) propuesta por la OMS para *T. pallidum* (WHO 1st IS (#HS), de 47 UI por ampula y establecida en 1957, está próxima a agotarse y existen

propuestas para reemplazarla con una preparación de IgG a partir de una mezcla de plasmas de pacientes con sífilis latente.

Infecciones por *Plasmodium* (Paludismo)

Las situaciones particulares en las pruebas basadas en DNA del parásito están relacionadas en lo peculiar de su ciclo vital que afecta la expresión clínica de la enfermedad. El periodo de latencia, de la inoculación hasta la parasitemia, se estima en 9-21 días, dependiendo de multitud de factores, como la especie de *Plasmodium*. Luego del inóculo, el parásito permanece en el hígado durante 7-9 días, mientras los sujetos permanecen asintomáticos. Al periodo entre la estancia en el hígado (parasitemia) hasta la producción de anticuerpos se deben agregar de 4-7 días más. No se tiene claro el significado de la presencia de anticuerpos contra el *Plasmodium* en el donador sin parasitemia, recordando una etapa de recuperación. La dosis infectante se estima de 1 a 10 parásitos por unidad de sangre, dosis que puede ser difícil de detectar en las técnicas de PCR. Su punto de corte varía en los 90 parásitos por unidad, dependiendo del reporte consultado. No queda claro aún el confirmar o descartar la existencia de parasitemia en sujetos asintomáticos, situación que ocurre en otras condiciones como leishmaniasis o toxoplasmosis. Las investigaciones sobre paludismo en las pruebas basadas en DNA del parásito se han orientado hacia la farmacovigilancia, genotipaje, variación de las variaciones antigénicas en la población de estudio y, recientemente, la eficacia de la vacuna. Sin embargo, las pruebas moleculares no han mostrado el impacto esperado, debido a que se tiene escasa experiencia al respecto. La OMS tiene una PBR (1st IS p. *Falciparum* DNA, #047176 ECBS 2006), aún con dificultades para definir su mejor estrategia de detección

basado en la identificación del RNA o DNA del parásito. La metodología de PCR en tiempo real puede detectar una sola copia del parásito en una uL de sangre, (alrededor de 250 parásitos/unidad) pero también está muy por encima de la dosis infectante, aunque estas técnicas muestran la ventaja de poder identificar al parásito al menos 5-7 días antes de que pueda verse en el microscopio. Las técnicas de microarreglos, aunque ya en proceso, no están accesibles para el campo clínico, pero diferencian claramente a cada especie de *Plasmodium*. Los donadores asintomáticos que hayan viajado a zonas endémicas, presentan una parasitemia extremadamente baja (< 90 parásitos por unidad) que escapa a la detección molecular. La identificación directa, realizada por verdaderos expertos, puede identificar entre 5 a 50 parásitos/uL. Otra limitante es que los estudios se han dirigido hacia la especie *Falciparum* y con menor intensidad al ovale, pero prácticamente sin información en las especies knowlesi o malarie. No se recomienda que la metodología de PCR sustituya a la detección sexológica.⁴

Trypanosoma cruzi

La enfermedad de Chagas es propia de la marginación y pobreza que afecta aproximadamente a 11 millones de latinoamericanos y se extiende en estimaciones superiores a los 100,000 inmigrantes ilegales seropositivos en USA y Canadá. En estos países, la FDA liberó en el 2006 los reactivos para efectuar la detección de la respuesta inmunológica en *T. cruzi* en donadores de sangre y órganos. A pesar del inicio reciente del tamiz en donadores y de la gran población serológicamente reactiva que pudieran convertirse en donadores de sangre, son realmente aislados los casos documentados de infección postransfusional (siete casos) o con donación de órganos

(cinco casos). En México no existe registro alguno que proporcione siquiera una aproximación sobre el riesgo real de transmisión o casos comprobados de infección postransfusional de *T. cruzi*; solamente se cuenta con casos esporádicos reportados en la literatura de esta asociación.¹⁰

La prueba aprobada por la FDA se basa en la captura del anticuerpo anti-*T. cruzi*, empleando lisado del epimastigote¹⁰ y debido a la escasa experiencia en esta prueba, si se compara con sífilis por ejemplo, su validación aún es inconsistente, además de no existir paneles de seroconversión de *T. cruzi* y las pruebas iniciales se efectuaron en lotes de muestras de seroteca hasta con 10 años de conservación y más de una sesión de descongelamiento. La recomendación de la AABB y FDA es dar destino final a las unidades y excluir a los donadores repetidamente reactivos. Rastreo de los receptores de las unidades previamente donadas de los sujetos repetidamente reactivos. Adicional a las pruebas de tamiz, se debe efectuar la confirmación con pruebas de radioinmunoprecipitación (RIPA), inmunofluorescencia indirecta (IFA) u otras disponibles que han sido evaluadas con pruebas suplementarias como las técnicas de inmunomancha.¹⁰ Aunque ninguna de ellas tiene aprobación de la FDA como tal o está en proceso la validación de los algoritmos.

Un problema no resuelto en el estudio de los donadores de sangre es la reactividad cruzada de los anticuerpos contra *T. cruzi* y contra *Leishmania*. La AABB está empleando un sistema de rastreo basado en una página de Internet para la enfermedad de Chagas, que incluye el resultado serológico del donador y los datos demográficos, especialmente en aquellas instituciones que no están aplicando este tamiz serológico. Es decir, existen diversas estrategias para generar seguridad sanguínea respecto a la ITT por *T. cruzi*, que inclu-

ye el tamiz en todos los donadores, tamiz en la primera donación y de acuerdo al resultado serológico y factores de riesgo, no efectuar subsecuentes pruebas, identificación de la procedencia o residencia del donador en zonas endémicas y factores ambientales que favorecen la transmisión de la enfermedad.

Virus del Oeste del Nilo (VON)

El VON se transmite por artrópodos y pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* y está relacionado con los virus de la encefalitis japonesa, encefalitis de San Luis y encefalitis del Valle Murray. Hasta el 18 de julio de 2007, se reportó la CDC, 23 presuntos casos de infección por VON en humanos, más de la mitad localizados en los estados fronterizos de California y Texas. En México se cuenta con un programa especial para la atención de la infección por VON, tanto en animales como en humanos (www.cenave.gob.mx/von/), y hasta el mes de diciembre de 2006 se reportan 203 casos evaluados, pero uno solo en ser humano se identificó con la infección por VON. Por supuesto que no existe a la fecha reporte alguno de la adquisición postransfusional de esta infección en nuestro medio. La infección del VON no ha tenido el impacto epidémico debido a que son esporádicos los reportes de enfermedad equina, humana y aviar en América Latina y el Caribe,¹¹ pero sin tener un comportamiento epidémico mundial, como ha ocurrido en otros casos.

El estudio serológico del VON incluye la detección de anticuerpos específicos IgG e IgM, así como la detección del RNA viral. Hasta el día 2-3, luego del inóculo, se documentan las concentraciones máximas del RNA viral, para disminuir hacia el día siete. La producción de anticuerpos inicia desde el día 5 y alcanza su punto máximo el día siete. El periodo de ventana del VON es muy corto, no

más de dos días. El problema con las pruebas serológicas es su inespecificidad, pues presenta reactividad cruzada en aquellos sujetos con infección por virus del dengue, debido a que las estructuras de ambos virus son muy semejantes y es posible la existencia de inmunidad cruzada. Bajo distintos sistemas de detección del VON, se encuentra que la sensibilidad analítica del 95% varía entre 8.2 a 9.8 copias/mL (PROCLEIX y TIGRIS), con reproducibilidad superior al 99%. Aun cuando existen pruebas serológicas y moleculares, las características propias de la enfermedad (viremia muy temprana y periodo de incubación corto), no existe algún estudio clínico (no patrocinado por la industria) que demuestre las supuestas bondades de la prueba molecular.

Limitaciones en las características de las pruebas

La detección del laboratorio de VHC en muestras de plasma bajo un programa de control externo de calidad tiene una variación hasta del 18% en la cuantificación de concentraciones bajas de VHC, fuera del valor medio de 0.5 logaritmos.¹² La transmisión del VHC puede ser causada por donaciones que escapan a la detección de ácidos nucleicos, a pesar de estudiarse en muestras individuales.⁹ La comparación con diferentes pruebas nos lleva a resultados que no necesariamente reflejan la sensibilidad esperada e implica la necesidad de emplear material y reactivos estandarizados que representan a todos los genotipos del VHC.⁹ La metodología para PCR en tiempo real muestra más ventajas en términos de mayor precisión, sin subestimar o sobreestimar la carga viral,¹³ además de mantener linealidad para VHC entre 10 a 10,000,000 de UI/mL para los genotipos 1-6 y con mayor eficiencia para detectar concentraciones de HVC-RNA < 6,000 UI/mL que otros sistemas.¹⁴

En la validación de nuevos calibradores de referencia para VIH, VHC y DNA-VHB en la prueba de amplificación de ácidos nucleicos contra estándar internacional, ambos sometidos a diluciones seriadas, se ha podido establecer adecuada concordancia en la detección de VIH y HVC, pero no así en VHB, como material de referencia.¹⁵ Para el caso de VIH-RNA la estabilidad de la carga viral en la muestra de plasma es adecuada, almacenándose a temperatura de 4-22 GC hasta por una semana. En el mes de junio del presente año, la OMS presentó su plan estratégico para el desarrollo de PBR donde se incluye a los patógenos con impacto en la seguridad sanguínea. Esto surge como una necesidad urgente para atender el problema de control de calidad en el escrutinio serológico o molecular de los disponentes. Se espera que estos consensos sobre PBR sean efectivos en términos de validación y sensibilidad analítica, para lograr la armonización en estudio y diagnóstico de la enfermedad.

Linearidad de la carga viral

Una situación problemática es la dificultad técnica que representa el emplear técnicas o metodologías en el Banco de Sangre o laboratorio clínico que presenten linealidad con la eficiencia suficiente para detectar a sujetos en la etapa de tolerancia inmune, con niveles muy elevados de ADN-VHB (> 10⁸-10⁹ UI de partículas virales) o bien en la etapa de control inmune con valores extremadamente bajos del ADN-VHB (< 10⁵). Los reactivos comerciales disponibles presentan rango de linealidad desde 2.3 x 10³-1 x 10⁸, 1.4 x 10⁵-1.7 x 10⁹, 2 x 10²-2 x 10⁵ hasta 1.7 x 10²-6.4 x 10⁸, según del fabricante que se trate.⁵ Las diferencias en la sensibilidad analítica se combinan con los cambios dinámicos y la habilidad para mantener la linealidad en

variabilidad extrema en la concentración de partículas virales e identificar a los diferentes genotipos entre las diferentes metodologías. Mediante la prueba Procleix WNV Assay, comparando el método semiautomatizado contra el completamente automatizado, se muestran límites de detección del 95% de 8.2 copias/mL 9.8 copias/mL, respectivamente. Con especificidad del 99.9% en muestras de plasma y reproducibilidad > 99.1% a tres concentraciones diferentes (0, 30 y 100 copias/mL). Se han desarrollado pruebas de microarreglos múltiples para la detección del VHB, VHC y VIH, con secuencias variables de oligonucleótidos. Con esta prueba se detecta 1, 10 y 20 IU de VHB, VHC y VIH-1, respectivamente, permitiendo discriminar la presencia de 2 ó 3 virus en una sola muestra.¹⁶

¿Pruebas individuales, dos o tres en uno?

La evaluación de la eficiencia y eficacia de las diferentes estrategias y metodologías, se ha evaluado empleando distintos paneles de seroconversión o en el estudio de donadores de sangre. En ambas situaciones, los resultados son distintos. El riesgo postransfusional del VHB, a pesar de las medidas de control ampliamente conocidas, es más alto que para el caso del VHC o VIH. El agregar la detección de ácidos nucleicos (NAT) en donadores individuales podría reducir el riesgo de ITT más allá de lo que se obtiene con la prueba más sensible disponible para AgsHB. Sin embargo, en los grupos con baja prevalencia del VHB se ha demostrado que el NAT en minipool podría ser más eficiente para

Cuadro II. Sensibilidad analítica en sistema de triple detección.²¹

Sistema	VIH-1-RNA	VHC-RNA	VHB-DNA
Procleix Ultrio (Katsoulidou A, 2007)	100%: > 50 copias/mL 41%: < 50 copias/mL	100 %: > 520 UI/mL 11%: < 50 UI/mL	96%: > 250 copias/mL 80%: < 250 copias/mL
Procleix Ultrio (McCormick K, 2006)	> 95%: 100 copias/mL	> 95%: 30 UI/mL	> 95%: 15 UI/mL
Procleix Ultrio Koppelman MH (2005)	95%: 26 (16-58) UI/mL	95%: 4.6 (3.7-6.5) UI/mL	95%: 11 (7.3-22) UI/mL

Cuadro III. Estrategia molecular en el tamiz de donadores. Variables relacionadas.

- Marcador único o combinado con dos o tres más
- Pruebas en serie: sólo incluir aquéllos con estudio serológico negativo. Con o sin pruebas suplementarias previas
- Pruebas en paralelo: Correr simultáneamente molecular y serológico
- Ajustes a la endemidad local del marcador
- Evaluación de inmunoensayos de alta sensibilidad
- Técnicos
 1. Metodología
 2. Técnica de concentración viral
 3. Muestras sencillas
 4. Tamaño del minipool, igual o distinto para cada marcador
 5. Sensibilidad analítica
 6. Tipo de calibrador

detectar la viremia del VHB.¹⁷ Adicionalmente, la detección de VHB-DNA en muestras individuales es más efectiva que en minipool. El empleo del NAT en muestras individuales debería ser más efectivo para detectar la infección del VHB en periodo de ventana, aunque aún no está disponible comercialmente un equipo totalmente automatizado para tal efecto.¹⁸ La capacidad mejorada de detectar el antígeno p24 AG sugiere que estos nuevos análisis combinados para la detección de antígenos y anticuerpos del VIH podrían sustituir al análisis del antígeno p24 solamente en las situaciones para el tamiz de donadores cuando las pruebas moleculares no sean factibles ni comparables.¹⁹ Empleando panel de seroconversión: Cobas ((R)) TaqScreen MPX: se evalúan dos paneles distintos con sensibilidad para VIH-1 y VHC de 100 y 95%, mientras que para VHB varía entre el 90-95%.²⁰ Los límites de detección del 95 y 50% con metodología de triple identificación (Procleix Ultrio.®) son de 53.7 (32.9-117.2) y 8.6 (6.2-12.1) geq/mL para VIH-1 RNA, 30.3 (19.0-62.4) y 5.2 (3.7-7.2) geq/mL para VHC RNA y de 393.7 (147.9-6978) y 54.5 (22.4-143.8) geq/mL para VHB DNA, señalando variabilidad en la sensibilidad analítica, especialmente en los casos con carga viral baja (*Cuadro II*). La habilidad de este triple sistema para detectar VHB-DNA cuando se presenta un sujeto con carga viral baja y generar resultados falsos negativos, puede ser mejorada al procesar los sujetos en muestras individuales de plasma.²¹

No existe información suficiente que demuestre en términos técnicos científicos, al igual que otras intervenciones en salud, las ventajas de los estudios moleculares mediante una estrategia universal en el tamiz de donadores, aunque en la literatura existen diversas variantes de esta actividad (*Cuadro III*).

Costo-beneficio

No está determinada la evaluación del costo-beneficio al emplear metodologías inmunoenzimáticas ultrasensibles comparada con la identificación molecular.¹⁸ No se tiene información sobre la comparación del efecto de las técnicas de inactivación de patógenos, como una alternativa novedosa a una metodología de primera elección.

El conocimiento del proceso del escrutinio de donadores y los reportes persistentes de la elevada seroprevalencia, señala evidentes fallas en los puntos críticos de educación para la salud, promoción de la donación y evaluación médica en la selección de donadores, en un marco legal ineficiente que inhibe el desarrollo de donador seguro, para que en conjunto con sus resultados de costo-eficiencia, se establezca una secuencia coherente entre donador seguro y sangre segura en beneficio de la salud de la población.

Referencias

1. Schmunis G, Cruz RJ. Safety of the blood supply in Latino America. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 12-29.
2. Schmidt M, Nubling CM, Scheiblauber H, Chudy M, Walch LA, Seifried E, Roth WK, Hourfar MK. Anti-HBc screening of blood donors: a comparison of nine anti-HBc tests. Vox Sang 2006; 91: 237-243.
3. Allain JP. International collaborative study proposal for the characterization of occult hepatitis B virus infection identified by nucleic acid or anti-HBc screening. Vox Sang 2007; 92: 254-257.
4. Kitchen AD, Chiodini PL. Malaria and blood transfusion. Vox Sang 2006; 90: 77-84.
5. Kessler HH. Comparison of currently available assays for detection of hepatitis B virus DNA in the routine diagnostic laboratory. Expert Rev Mol Diagn 2005; 5: 531-536.
6. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, Minegishi K, Kanemitsu K, Nishioka K et al. HBV NAT positive [corrected] blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. Vox Sang 2005; 88: 77-86.
7. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. Hepatology 2007; 45: 507-539.
8. Brojer E, Grabarczyk P, Liszewski G, Mikulska M, Allain JP, Letowska M. Polish Blood Transfusion Service Viral Study Group. Characterization of HBV DNA+/HBsAg- blood donors in Poland identified by triplex NAT. Hepatology 2006; 44: 1666-1674.

9. Kretzschmar E, Chudy M, Nübling CM, Ross RS, Kruse F, Trobisch H. First case of hepatitis C virus transmission by a red blood cell concentrate after introduction of nucleic acid amplification technique screening in Germany: a comparative study with various assays. *Vox Sang* 2007; 92: 297-301.
10. Cheng KY, Chang CD, Salbilla VA, Kirchhoff LV, Leiby DA, Schochetman G et al. Immunoblot assay using recombinant antigens as a supplemental test to confirm the presence of antibodies to *Trypanosoma cruzi*. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 355-361.
11. Komar N, Clark GG. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica* 2006; 19: 112-117.
12. Chalker VJ, Rossouw A, Mee Z, Patel P, Vaughan H, James VL. External quality assessment for the molecular detection of Hepatitis C virus. *J Clin Virol* 2007; 39: 141-144.
13. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM. Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method. *Hepatology* 2007; 46: 22-31.
14. Fytily P, Tiemann C, Wang C, Schulz S, Schaffer S, Manns MP et al. Frequency of very low HCV viremia detected by a highly sensitive HCV-RNA assay. *J Clin Virol* 2007; 39: 308-311.
15. Pisani G, Marino F, Cristiano K, Bisso GM, Mele C, Luciani F, Wirz M et al. Collaborative study for the calibration of HCV RNA, HBV DNA and HIV RNA reference preparations against the relative international standards. *Ann Ist Super Sanita* 2007; 43: 69-76.
16. Hsia CC, Chizhikov VE, Yang AX, Selvapandian A, Hewlett I, Duncan R et al. Microarray multiplex assay for the simultaneous detection and discrimination of hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency type-1 viruses in human blood samples. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 1017-1023.
17. Comanor L, Holland P. Hepatitis B virus blood screening: unfinished agendas. *Vox Sang* 2006; 91: 1-12.
18. Kuhns MC, Busch MP. New strategies for blood donor screening for hepatitis B virus: nucleic acid testing versus immunoassay methods. *Mol Diagn Ther* 2006; 10: 77-91.
19. Ly TD, Ebel A, Faucher V, Fihman V, Laperche S. Could the new HIV combined p24 antigen and antibody assays replace p24 antigen specific assays? *J Virol Methods* 2007; 143: 86-94.
20. Wiedmann M, Kluwick S, Walter M, Fauchald G, Howe J, Bronold M et al. HIV-1, HCV and HBV seronegative window reduction by the new Roche cobas ((R)) TaqScreen MPX test in seroconverting donors. *J Clin Virol* 2007; 39: 282-287.
21. Katsoulidou A, Moschidis Z, Sypsa V, Chini M, Papatheodoridis GV, Tassopoulos NC et al. Analytical and clinical sensitivity of the Procleix Ultrio HIV-1/HCV/HBV assay in samples with a low viral load. *Vox Sang* 2007; 92: 8-14.

Correspondencia:

Héctor A Baptista-González

Hematología-Perinatal, Subdirección de Investigación Clínica. Montes Urales Núm. 800, Lomas Virreyes, Delegación Miguel Hidalgo, Ciudad de México, D.F., 11000, E-mail: baptista@infosel.net.mx