

Pág. 1: Estudio de la sensibilidad de un método para detección de anticuerpos contra hepatitis C

Pág. 3: Colesterol y lipoproteínas: actualización - Parte I

Pág. 4: Agenda de Congresos

Año XXXV - Noviembre 2001

Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.

<http://www.wiener-lab.com.ar>

Director: Gustavo A. Capriotti - Redactor: Cristina M. Crepaldo - E.R.: Wiener Laboratorios S.A.I.C. - Ed. Latinoamérica - 2000 ejemplares

Desde la identificación del virus de la hepatitis C (HCV) como el agente etiológico más común de las hepatitis postransfusionales no A no B, se han dilucidado muchos aspectos de su epidemiología, virología molecular y el curso natural de la enfermedad. Los métodos ELISA han demostrado ser altamente sensibles y específicos y representan el ensayo de diagnóstico primario y la herramienta más práctica para el descarte de sangre infectada en centros de transfusión. En este trabajo se presenta un estudio de sensibilidad de un kit ELISA para anticuerpos contra hepatitis C, utilizando paneles comerciales con muestras negativas y positivas en un amplio rango de lectura.

Estudio de la sensibilidad de un método para detección de anticuerpos contra hepatitis C

Felcaro M.V., Gariglio R.C., Crepaldo C.M..

Wiener Laboratorios S.A.I.C., Riobamba 2944, 2000 Rosario, Santa Fe, Argentina

Fax: (54-341) 4323200 - E-mail: cibio@wiener-lab.com.ar

Se estima que alrededor de 170 millones de personas en el mundo se encuentran infectadas con HCV. La seroprevalencia es alrededor del 1% en Europa Occidental y América del Norte, en algunos países asiáticos y mediterráneos es del 3-4%, alcanzando el 10-20% en algunas regiones de África Central y Egipto. Los métodos de diagnóstico desarrollados para detectar esta infección han mostrado tener una gran sensibilidad. Con la introducción del screening de sangre y productos derivados en los '90, los nuevos casos de hepatitis postransfusional fueron virtualmente desapareciendo y en muchos países, el uso de drogas endovenosas se convirtió en el modo de transmisión identificable más frecuente.

El descarte en bancos de sangre se realiza por técnicas de detección de anticuerpos (ELISA). Si bien estas técnicas tienen aún limitaciones metodológicas, han mejorado paulatinamente

desde su aparición en la década pasada, aumentando notablemente su sensibilidad y especificidad. Cuanto más sensible sea la técnica utilizada, menor será la posibilidad de que una sangre infectada se transfunda sin ser detectada. Si bien debido a las características propias de la metodología ELISA, un resultado positivo debe ser confirmado por una técnica como el immunoblotting recombinante (RIBA) o técnicas de amplificación (PCR, branched DNA, etc.) para un diagnóstico cierto, el resultado positivo en la prueba de screening, permite al banco de sangre, tomar decisiones tendientes a la seguridad de la sangre transfundida.

El estudio de la sensibilidad y especificidad de las técnicas ELISA se efectúa por medio del ensayo de muestras de paneles de sueros. En el presente trabajo se muestran los resultados del estudio de sensibilidad de un método de detección de anticuerpos contra hepatitis C (Hepatitis C (anti HCV) ELI-

SA - Wiener lab.) utilizando diversos paneles internacionales.

Características de los paneles utilizados

Boston Biomedica, Inc.

a) *Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel (PHV205)*: conjunto de 25 alícuotas de plasma y suero no diluidos con reactividades comprendidas entre los negativos y los altamente positivos para anti-HCV.

b) *Worldwide HCV Performance Panel (WWHV301)*: 18 alícuotas con reactividad hacia anti-HCV y dos muestras negativas como control. Incluye muestras caracterizadas como provenientes de tipos 1,2,3 y 4 además se muestran no tipificables.

c) *Anti-HCV Low Titer Performance Panel (PHV 103)*: 15 alícuotas de muestras de sueros y plasmas de ocurrencia natural con reactividades comprendidas entre los negativos y los modera-

damente positivos. Algunas de las muestras de títulos bajos, reaccionan con una sola proteína en las pruebas complementarias y podrían ser interpretadas como indeterminadas. Estas muestras en ciertos casos son indicativas de seroconversión temprana pero pueden representar una reactividad inespecífica no asociada a HCV. No se incluyen en este panel muestras con reactividad a C100-3 exclusivamente debido a la creciente evidencia que indica que sus patrones de reactividad no se encuentran asociados con la infección por HCV.

En todos los casos las unidades fueron identificadas utilizando métodos de screening y confirmatorios actualmente aprobados por las autoridades de la FDA (Food and Drug Administration) para su comercialización en Estados Unidos.

Q panel

Panel 2 HCV: panel de sueros específicos para anti-HCV. contiene sueros estables positivos con reactividades variables para anti-HCV y sueros negativos.

La reactividad de todos los sueros positivos fue caracterizada por tres kits comerciales de detección serológica y por un método de immunoblotting complementario, los cuales fueron realizados siguiendo las instrucciones de cada uno de los fabricantes.

Resultados

Los resultados obtenidos al ensayar los paneles a) y b) de Boston Biomedica Inc y el Q Panel con el kit en estudio se muestran en los cuadros 1,2 y 3 respectivamente.

El resultado para el Low Titer Panel de Boston Biomedica, Inc. (panel c) merece una discusión particular. Este panel, contiene, como ya dijimos, muestras con concentraciones negativas a moderadamente positivas. Una de las muestras resultó negativa tanto para el kit en estudio como para el resto de los métodos empleados en la confección del panel. Doce de las 14 restantes resultaron reactivas con el kit en ensayo

Cuadro 1: Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel (PHV 205) Boston Biomedica, Inc.

PHV 205: Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel	Wiener lab.		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	23	0	23
Negativo	0	2	2
Total	23	2	25

para los de tercera generación. La otra muestra, se encontró indeterminada para los métodos de segunda generación (tanto screening como confirmatorios) y débilmente positiva para los de tercera generación.

Conclusiones

El diagnóstico de hepatitis C se basa en ensayos serológicos de detección de anticuerpos anti-HCV y en estudios moleculares que detectan RNA viral. Los métodos ELISA han demostrado ser altamente sensibles y específicos y representan el ensayo de diagnóstico primario y la herramienta más práctica para el descarte de sangre infectada en centros de transfusión. El trabajo continuo de investigación en este terreno ha permitido ir perfeccionando estos métodos que se presentan cada vez con mejor sensibilidad. Su utilización ha permitido, en los últimos años, dismi-

nuir drásticamente los casos de hepatitis no A no B postransfusionales. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el kit en ensayo es un ELISA de excelente performance apto para su empleo en banco de sangre.

Cuadro 2: Worldwide HCV Performance Panel (WWHV 301) Boston Biomedica, Inc.

WWHV 301: Worldwide HCV Performance Panel	Wiener lab.		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	18	0	18
Negativo	0	2	2
Total	18	2	20

Cuadro 3: Panel de Referencia: Panel 2 HCV - Q Panel - Assessoria e Controle de Qualidade - São Paulo - Brasil

Panel 2 HCV Q Panel	Wiener lab.		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	7	0	7
Negativo	0	2	2
Total	7	2	9

y coinciden con la tipificación del panel. Dos de las muestras arrojaron lecturas comprendidas en la zona gris o zona de indeterminación para el método en estudio, es decir muy cercanas al valor cut off. Al estudiar los datos suministrados por el Panel para estas muestras se observa que una de ellas da negativa para los métodos de screening y confirmatorios de segunda generación e indeterminada para

nuir drásticamente los casos de hepatitis no A no B postransfusionales.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el kit en ensayo es un ELISA de excelente performance apto para su empleo en banco de sangre.

Referencias

- Morandpour, D. et al. - Swiss Med. Wkly 131:291-298, 2001.



Colesterol y lipoproteínas: actualización

Parte I

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults

El tercer informe del ATP actualiza las recomendaciones para el seguimiento clínico de los niveles altos de colesterol. Cada uno de los paneles de expertos reunidos hasta el presente tuvo un tema central. El ATP I realizó el bosquejo de una estrategia primaria para la prevención de la enfermedad cardíaca coronaria (ECC) en individuos con niveles elevados de colesterol unido a lipoproteína de baja densidad (C-LDL). El ATP II afirmó la importancia de esta premisa y agregó una nueva característica: el manejo intensivo de C-LDL en personas con ECC ya establecida. El ATP III agrega una nueva inquietud: un llamado a intensificar la terapia que disminuya el nivel de LDL en ciertos grupos de riesgo, basándose en las evidencias de las últimas experiencias clínicas.

Algunas de las características más importantes compartidas por los tres informes se muestran en la Tabla 1.

Mientras el ATP III mantiene atención en el tratamiento intensivo de pacientes con ECC, su característica nueva y más sobresaliente es el enfoque sobre la prevención primaria en personas con

El Tercer Informe del Panel de Expertos en Detección, Evaluación y Tratamiento del Nivel Alto de Colesterol en Adultos (Adult Treatment Panel III o ATP III) constituye el conjunto de lineamientos clínicos acerca de la detección y manejo de colesterol del National Cholesterol Education Program (NCEP) basados en la experiencia clínica acumulada hasta el presente. Estos lineamientos tienen por intención informar y no reemplazar el juicio clínico que en última instancia debe ser el que determine el camino a seguir en cada caso en particular.

múltiples factores de riesgo. Muchas de estas personas se beneficiarían con tratamientos más intensivos que los recomendados en el documento anterior. En la Tabla 2 se muestran las características más sobresalientes de este nuevo informe.

C-LDL : el objetivo primario de la terapia

Las investigaciones a partir de animales de experimentación, estudios de laboratorio, epidemiología y formas genéticas de hipercolesterolemia indican que el C-LDL elevado es el mayor causante de la ECC. Además, estudios clínicos recientes claramente muestran que una terapia de disminución de las LDL reduce el riesgo de ECC. Por estas razones, el ATP III continúa identificando al C-LDL como el objetivo primario de la terapia.

Estimación del riesgo: primer paso en el manejo del riesgo

Un principio básico de prevención es que la intensidad de la terapia de re-

ducción de riesgo debe ajustarse a los factores de riesgo de cada persona en particular.

Por esto, el primer paso en la selección de la terapia de disminución de LDL es estudiar el estado de riesgo en que se encuentra el individuo. Esto requiere el estudio de LDL y el resto de los factores que puedan estar acompañando a la LDL elevada.

En todos los adultos de 20 años en adelante debe obtenerse un perfil lipídico completo cada 5 años. Este perfil consta de: colesterol total, C-HDL, C-LDL y triglicéridos.

La relación entre C-LDL y ECC es continua a lo largo de un rango de valores de LDL desde bajo a alto. Por lo tanto, el ATP III adopta la clasificación de niveles de colesterol que se muestra en la Tabla 3, que también muestra la clasificación de colesterol total y C-HDL. Los determinantes de riesgo, relacionados con el nivel de C-LDL incluyen la presencia o ausencia de ECC, otras formas clínicas de enfermedad aterosclerótica y factores como hipertensión, hábito de fumar, historia familiar de ECC y edad.

Tabla 1 - Características comunes a los ATP I, II y III

- ◆ Disminución del C-LDL como objetivo primario de la terapia.
- ◆ Consideración del C-LDL alto (≥ 160 mg/dl) como potencial objetivo para una terapia reductora de LDL con los siguientes casos:
 - En personas con múltiples factores de riesgo cuyos niveles de LDL se encuentran elevados luego de la dieta, se recomienda una terapia con drogas.
 - En personas con factor de riesgo entre 0 y 1, la consideración de una terapia con drogas luego de la dieta es opcional para valores de LDL entre 160 y 189 mg/dl y recomendable para LDL > 190 mg/l.
- ◆ Énfasis en la terapia reductora de LDL en personas con enfermedad cardíaca coronaria establecida.
- ◆ Identificación de tres categorías de riesgo para diferentes objetivos e intensidades de terapia reductora de LDL:
 - ECC u otras formas de enfermedad aterosclerótica a las que se considera riesgo equivalente a ECC.
 - Factores de riesgo múltiples
 - Factores de riesgo entre 0 y 1
- ◆ Identificación de subpoblaciones, además de hombres, más allá de la mediana edad para detección de niveles altos de C-LDL (y otros marcadores lipídicos de riesgo) y para intervención clínica: adultos jóvenes, mujeres postmenopáusicas y personas de edad avanzada.
- ◆ Énfasis en la pérdida de peso y la actividad física para disminuir el riesgo en personas con LDL colesterol elevado.

Tabla 2 - Nuevas características del ATP III

Enfoque sobre factores de riesgo múltiples

- ◆ Coloca a las personas con diabetes sin ECC, la mayoría de las cuales tiene múltiples factores de riesgo al mismo nivel de los de riesgo equivalente a ECC.
- ◆ Utiliza las proyecciones Framingham de riesgo absoluto de ECC de 10 años (por ejemplo porcentaje de probabilidad de tener ECC en 10 años) para identificar a ciertos pacientes con factores de riesgo múltiples para un tratamiento más intensivo.
- ◆ Identifica personas con múltiples factores de riesgo metabólicos como candidatos para un cambio terapéutico de los hábitos de vida.

Modificaciones en la clasificación de lípidos y lipoproteínas

- ◆ Identifica al colesterol unido a LDL menor de 100 mg/dl como óptimo.
- ◆ Eleva la categoría del colesterol unido a HDL (C-HDL) bajo, de < 35 mg/dl a < 40 mg/dl ya que este último es una mejor medida del colesterol disminuido.
- ◆ Disminuye los niveles de superiores admisibles de triglicéridos para dar más énfasis a aumentos moderados.

Soporte para la implementación

- ◆ Recomienda un perfil lipoproteico completo (colesterol total, C-HDL, C-LDL y triglicéridos) como pruebas de referencia inicial, en lugar de determinar sólo colesterol total y C-HDL.
- ◆ Impulsa el uso de sustancias vegetales (esteroles) y fibras como opciones dietéticas terapéuticas para favorecer la disminución del C-LDL.
- ◆ Presenta estrategias para promover la adición a cambios terapéuticos en el estilo de vida y la terapia con medicamentos.
- ◆ Recomienda tratamientos más allá de la disminución de LDL en personas con triglicéridos mayores o iguales a 200 mg/dl.

Basado en estos factores, el ATP III establece tres categorías de riesgo que pueden afectar o modificar las estrategias de terapia de disminución de LDL.

Tabla 3 - Clasificación de colesterol total, C-HDL y C-LDL del ATP III

LDL-Colesterol	
< 100	óptimo
100 - 129	cercano o > a lo óptimo
130 - 159	entre valor límite y alto
160 - 189	alto
≥ 190	muy alto
Colesterol Total	
< 200	deseable
200 - 239	límite alto
≥ 240	alto
HDL-Colesterol	
< 40	bajo
≥ 60	alto

La Tabla 4 define estas categorías. La categoría de mayor riesgo es la de ECC u otra enfermedad aterosclerótica preexistente equivalente a la ECC. Esta última acarrea un riesgo de un evento cardíaco en la misma medida que la ECC. También se incluyen en esta categoría procesos como enfermedad arterial periférica, aneurisma de aorta, enfermedad sintomática de la arteria carótida y diabetes. En el caso especial de los pacientes diabéticos, se necesita desarrollar una estrategia de prevención más intensa debido a que en estos casos se ha visto un porcentaje inusualmente alto de muerte inmediatamente o en corto plazo luego de un infarto de miocardio. En todas estas condiciones se observa que la

probabilidad de desarrollo de ECC en 10 años, supera el 20%.

La segunda categoría consiste en personas con dos o más factores de riesgo asociados. En estas personas se espera un porcentaje de riesgo de ECC a lo largo de 10 años menor o igual al 20%. La tercera categoría abarca personas con factores de riesgo 0 - 1. Con escasas excepciones, las personas en esta categoría tienen un índice de riesgo a 10 años menor del 10%. Su objetivo para C-LDL es menor de 160 mg/dl. Como dijimos, el principio básico de la implementación de una terapia de prevención para la reducción del riesgo, es que ésta debe ser ajustada para cada individuo. La adhesión a los lineamientos expresados por el ATP III, tanto por parte de los pacientes como por los especialistas, así como la concientización acerca de la necesidad de crear nuevos hábitos de vida, constituyen la clave para poner en evidencia la magnitud de los beneficios hallados en los estudios poblacionales acerca de la terapia reductora de C-LDL.

Tabla 4 - Categorías de riesgo y objetivos de terapia

Categorías de riesgo	LDL deseable (mg/dl)
- ECC u otro proceso aterosclerótico	< 100
- Múltiples factores de riesgo (dos o más)	< 130
- Número de factores de riesgo entre 0 - 1	< 160

Referencias

- JAMA - 285/19:2486-2497, 2001

Agenda de Congresos

✓ AACC Anual Meeting 2002

Se llevará a cabo en Orlando, Florida, USA, entre el 28 de Julio y el 1° de Agosto de 2002.

El encuentro estará organizado conjuntamente con la American Society for Clinical Laboratory Science, American Society for Clinical Pathology y la International Association of Medical Laboratory Technologists.

Lo invitamos cordialmente a visitar nuestro stand.

Informes: <http://www.aacc.org>

✓ II° Expo-Congreso Bioquímico de Rosario

Organizado por el Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Santa Fe, IIª circunscripción, se llevará a cabo en el Hotel Plaza Real, Santa Fe 1632 de la Ciudad de Rosario, Santa Fe, Argentina, desde el 12 al 15 de Junio de 2002.

Para mayores informaciones consultar por fax a la Secretaría del Congreso: 54-(0)341-4408800
www.colebioqsf2.org.ar