

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

Antonio Fuertes Ortiz
Servicio de Microbiología, Hospital Doce de Octubre, Madrid

Las diferentes proteínas producidas durante el proceso de replicación del virus de la hepatitis C (VHC) producen una respuesta serológica muy variada. No ha podido encontrarse una relación precisa entre los diferentes patrones de respuesta inmune y el estadio biológico o clínico de la infección. Únicamente sabemos con certeza que los anticuerpos frente al core (antígeno c22-c o relacionados) y NS3 (c33-c y similares) son los primeros en aparecer en los cuadros de primoinfección.

PRUEBAS SEROLOGICAS DE RASTREO

Los métodos ELISA son los que actualmente están en uso. Contienen una mezcla de péptidos sintéticos o recombinantes, o una combinación de ambos, frente a los que se miden los anticuerpos IgG que tiene la muestra. Cuando se indica que un suero es reactivo con esta metodología se está afirmando que tiene anticuerpos frente a alguno o todos los antígenos empleados en la prueba, pero no sabemos frente a cuál o cuáles. Las pruebas serológicas han evolucionado con el tiempo mejorando su sensibilidad y especificidad. En la actualidad, todas las marcas comerciales poseen diferentes mezclas de antígenos y son considerados de "tercera generación". Incluyen antígenos derivados de la nucleocápside (c22-3), de la región no estructural NS3/NS4 (c33-c, c100-3, C200) y de alguna parte de NS5. Con el empleo de estas pruebas se ha acortado el período de ventana de las primoinfecciones a unas 4 semanas y, en el 80% de los casos, el paciente es seropositivo en la cuarta semana del comienzo de la enfermedad.

Un resultado positivo indica exposición al VHC. En la mayoría de los casos se correlaciona con la presencia de ARN del VHC en la sangre, por lo que es un marcador de alto valor predictivo de infección viral. Esto es especialmente cierto sobretodo en presencia de títulos elevados de anticuerpos obtenidos con ciertas marcas comerciales de ELISA. También puede indicar exposición pasada y curada en un 20-25% de los casos.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TIPO IgM FRENTE AL VHC

Se ha detectado respuesta de tipo IgM contra el antígeno core, NS3 y NS4, que habitualmente coincide en el tiempo con de IgG. La respuesta más intensa de IgM está dirigida contra el antígeno del core y en algunos casos es el primer marcador que aparece tras la infección por el virus. La duración de la respuesta de IgM es habitualmente breve, pero es frecuente seguir detectándola en la fase crónica de la enfermedad. En cualquier caso no se ha demostrado que la determinación de IgM anti-VHC en el diagnóstico de la infección aporte datos claros y concluyentes sobre la biología o estadio de la infección viral.

PRUEBAS CONFIRMATORIAS DE ANTICUERPOS

Estas pruebas están diseñadas para conocer individualmente qué antígenos virales son los responsables de la reactividad obtenida mediante una prueba de ELISA convencional. Algunas también ponen de manifiesto la especificidad de la reacción al poder discernir reactividades debidas a la presencia de antígenos que no son de procedencia viral (SOD en la prueba de RIBA). Se realizan sobre un soporte de nitrocelulosa o nylon a la que se han adherido los péptidos antigénicos en diferentes lugares (bandas). También incluyen diferentes controles para asegurar el funcionamiento correcto de la prueba. La adición de la muestra y su revelado pone de manifiesto frente a qué péptidos existen anticuerpos. La prueba solo puede leerse como:

- **Negativa:** ausencia de bandas de reacción.
- **Positiva:** reactividad al menos para dos antígenos, preferentemente derivados de genes distintos.
- **Indeterminada:** cualquier otro patrón.

El 90-97% de los sueros anti-VHC positivos por ELISA tienen la prueba confirmatoria positiva. Los antígenos más frecuentemente reactivos son c33c y c22-3, aunque son posibles patrones de reacción muy diferentes. Al igual que pasó con los métodos comerciales de ELISA, también estas pruebas han sido mejoradas, tanto en sensibilidad como en especificidad. Un resultado positivo con una prueba de confirmación se asocia estrechamente con la presencia de ARN viral en suero y enfermedad hepática; sin embargo, en algunos pacientes, la amplificación por PCR puede no detectar ARN del virus.

Aún con las pruebas confirmatorias de tercera generación se siguen obteniendo algunos resultados indeterminados. La sensibilidad de las "Pruebas Confirmatorias" para los diferentes anticuerpos es muy variable y, por tanto, el valor predictivo de un indeterminado es limitado o confuso, especialmente en sueros con índices de ELISA bajos. En ocasiones hemos podido observar muestras que con una marca presentaba reactividad única para un péptido y con otra para otro diferente, llegando incluso a ser clasificada como positiva. Esto indica que los resultados clasificados como indeterminados son, al menos, cuestionables y probablemente el paciente posea anticuerpos específicos frente al virus. El análisis de los resultados del presente Control de Calidad demuestra estas afirmaciones.

En muestras con prueba confirmatoria indeterminada o negativa también es posible detectar la presencia de ARN del virus. Esto

último es especialmente cierto en los pacientes inmunodeprimidos o con alteraciones en la respuesta inmune. En el caso de que no exista una patología de este tipo deberá pensarse en una primoinfección.

Nuestra opinión, basada en la experiencia, nos ha llevado al convencimiento de que puede establecerse una correlación entre el índice ELISA y el 99% de positividad de la prueba confirmatoria, es decir, el 98-99% de las muestras con índices superiores a ese valor de la técnica presentan la prueba confirmatoria positiva. El otro 1-2% casi siempre tienen una prueba confirmatoria indeterminada o negativa. Existen muy pocas excepciones a esta regla por lo que aconsejamos determinar cuál es el índice ELISA de nuestra técnica con el que obtenemos una buena asociación estadística con la positividad de la prueba de confirmación.

Nuestro algoritmo de trabajo consiste en la realización de la prueba de ELISA de referencia. Si el resultado es positivo, realizamos otra prueba que tenga diferentes péptidos. Si las dos pruebas son positivas y la primera está por encima de un índice de 4, no realizamos confirmatorio. En cualquier otro caso, la muestra sí se confirma.

Aunque las pruebas confirmatorias y la PCR miden parámetros distintos desde el punto de vista clínico existe la polémica sobre si es más práctico realizar PCR en lugar de una prueba confirmatoria: con un sólo resultado negativo de PCR no podemos garantizar que el paciente no esté infectado por el virus y, además, tampoco podremos asegurar si los anticuerpos son o no específicos. Nuestra opinión es que, primero, se confirmen los anticuerpos que sean susceptibles de confirmación y después, si fuese necesario, estudiar el estado replicativo del virus en el paciente.