



VI CONGRESO DEL GCIAMT

LIMA -PERÚ

6 al 11 de junio 2009

“Hepatitis Virales: Nuevos enfoques e implicancias en la Seguridad Transfusional”

JORGE REY

**HOSPITAL DE CLÍNICAS – UNIVERSIDAD DE
BUENOS AIRES**



HBV

La hepatitis por el virus B (HBV) es un problema de salud de repercusión mundial y primera causa de cirrosis y carcinoma hepatocelular. Es la novena en importancia como causa de muerte en el mundo. La hepatitis crónica por HBV afecta >5% de la población mundial

HCV

Distribución mundial

Alrededor de un 3.0% (o 227 millones de individuos) han sido infectados con HCV. Entre el 85-90% desarrollan infección crónica con el virus. Hay más de 150 millones de portadores crónicos de HCV.

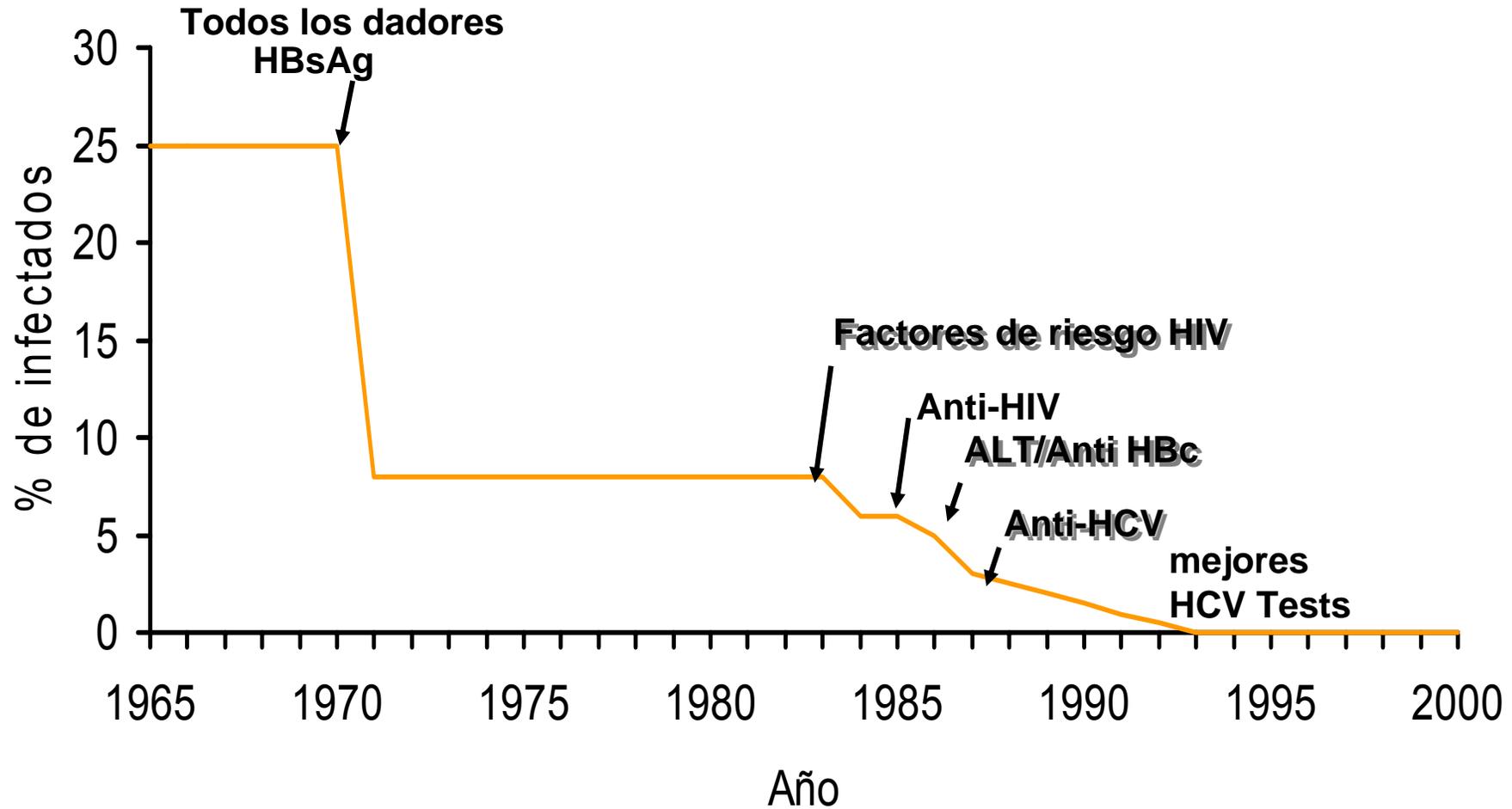
INTRODUCCIÓN DE LAS PRUEBAS DE SELECCIÓN PARA HBV Y HCV

<u>Año</u>	<u>Marcador</u>	<u>Tecnica</u>
1975	HBsAg	contra immunoeléctroforesis
1979	HBsAg	hemoaglutinación reversa pasiva
1987	HBsAg	enzimo inmuno ensayo (EIE)
1989*	ALT	enzimática
1989	Anti-HBc	EIA
1991	Anti HCV	EIA 1a GEN
1994	Anti HCV	EIA 3a GEN
2007* *	HBV DNA	TMA (individual)
2007* *	HCV RNA	TMA (individual)

* Discontinuado en 1990

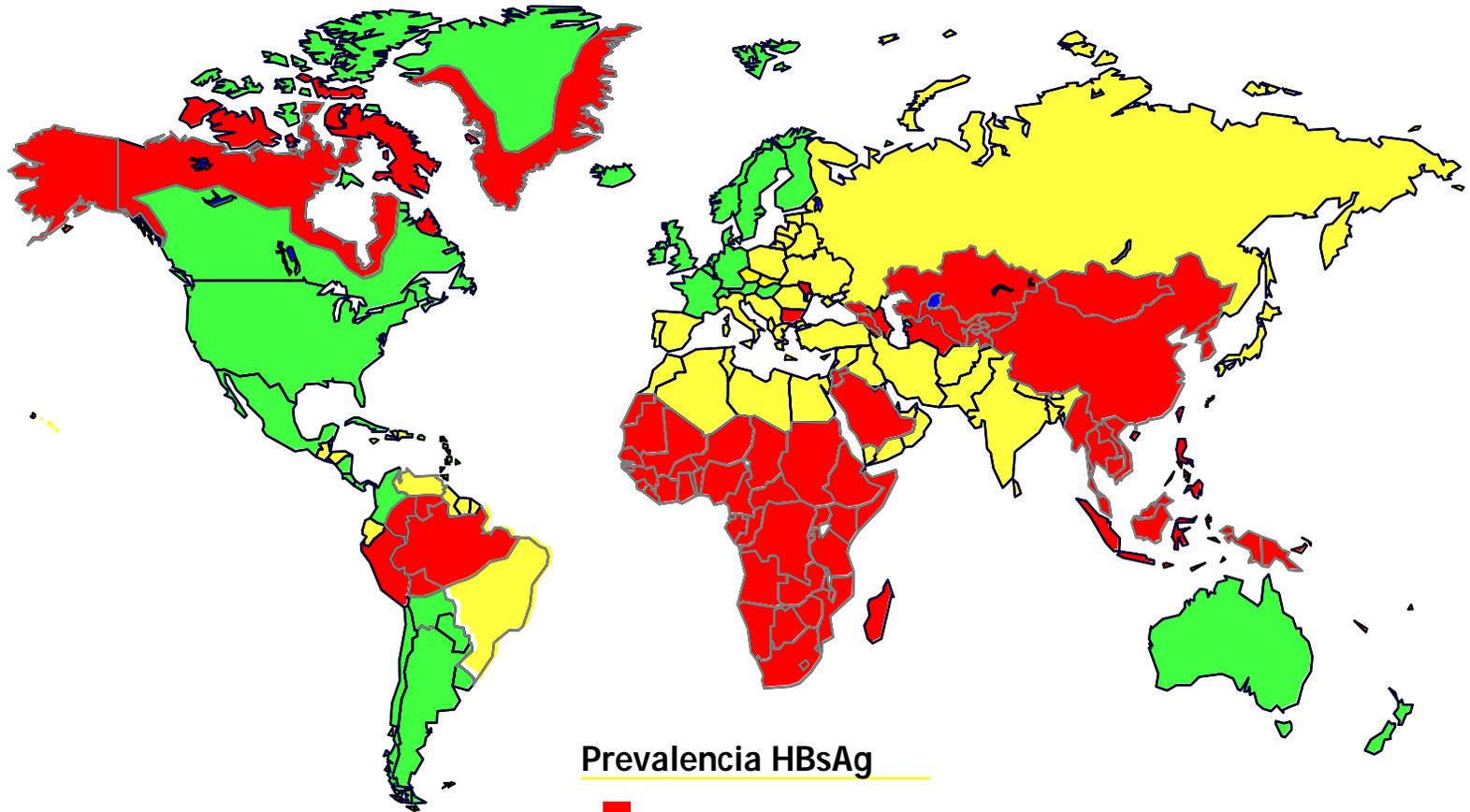
* * TMA: ULTRIO PROCLEIX®

Hepatitis post-transfusional



Adaptado de HJ Alter and Tobler and Busch, Clin Chem 1997

Distribución Geográfica de la Infección Crónica HBV



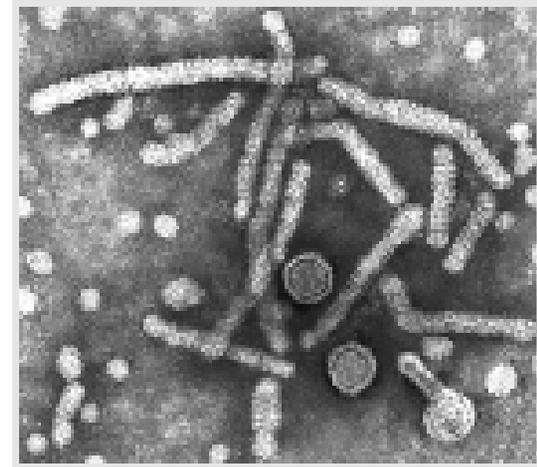
Prevalencia HBsAg

- $\geq 8\%$ - High
- 2-7% - Intermediate
- $< 2\%$ - Low

Marcadores serológicos de la Hepatitis por Virus B

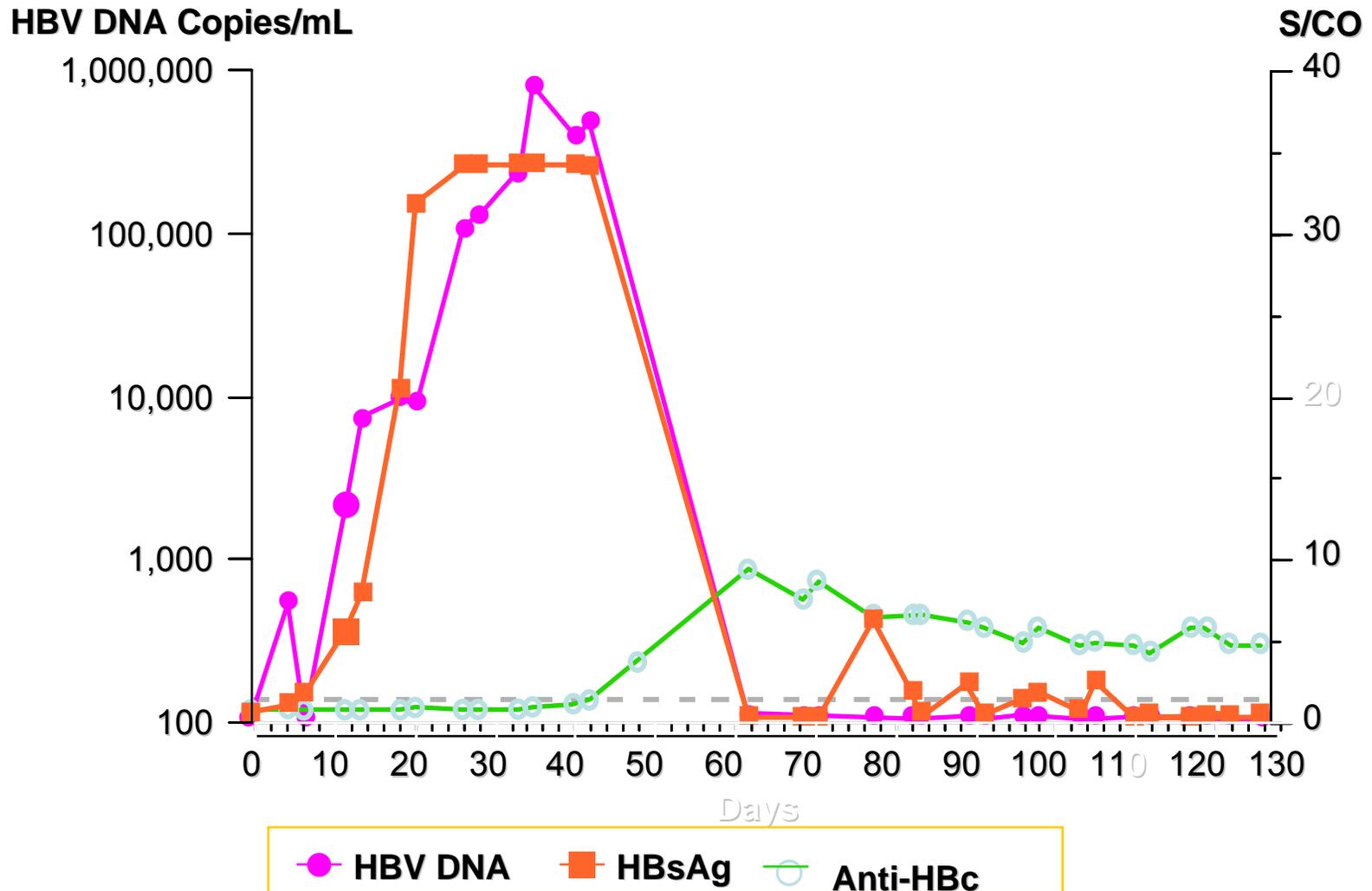
- HBsAg
- Anti-HBs

- HBeAg
- Anti-HBe



- Anti-HBc (IgM)
- Anti-HBc (IgG o total)

Acute HBV Infection Profile



Detección de HBsAg

TÉCNICA

- ✓ Inmunodifusión (ID)
- ✓ Contrainmunolectroforesis (CIE)
- ✓ Aglutinación (AG)
- ✓ Hemaglutinación rev. pasiva (HARP)
- ✓ Enzimoimmunoensayo (ELISA)
- ✓ Radioimmunoensayo (RIA)

SENSIBILIDAD

>5000 ng/ml

>1000 ng/ml

100-500 ng/ml

20-50 ng/ml

1-3 ng/ml (0.10-0.50)

0.1-1 ng/ml

REACTIVIDAD AISLADA PARA HBsAg

Hallado con una frecuencia discreta (1-6%) cuando se utilizan pruebas con sensibilidad inferior a 0.3 ng/ml. **Debe ser confirmado con prueba de neutralización**

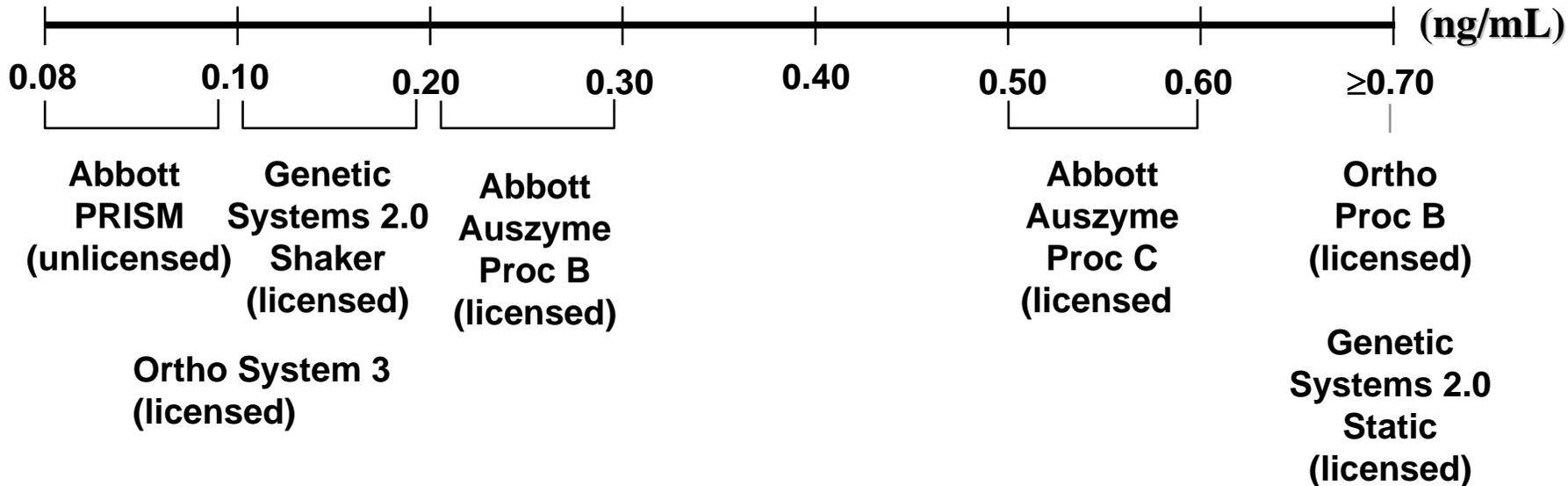
REACTIVIDAD AISLADA PARA HBsAg

CAUSAS:

- 1.- Reacción inespecífica
- 2.-Etapa temprana de infección aguda
- 3.-Infección intra útero o inmunodeprimidos
- 4.-Infección por cepas defectivas en la expresión del transactivador de transcripción
- 5.-Infección por variante hipotética (HBV 2)

SENSITIVIDAD DE LOS DIFERENTES ENSAYOS DE HBsAg

*

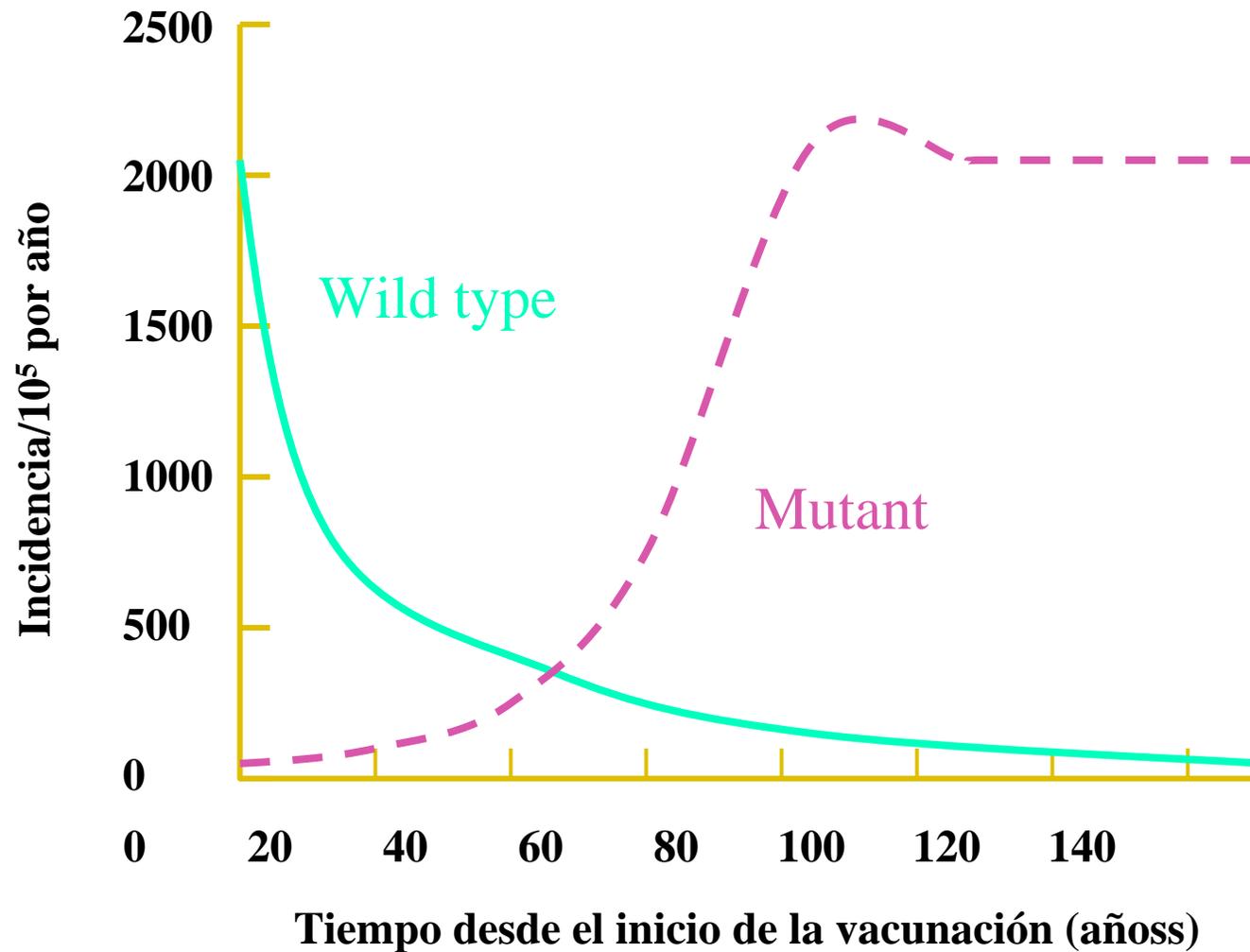


Saw, S.L. y T.C. Aw, 2000. Hepatitis B Surface Antigen Mutant Detection on Four Immunoassay Analysers. *Clin. Chem.* 46 Supl.: A53

Muestra de mutante de AgHBsR a 1 ng/mL	Ensayo A	Ensayo B	Ensayo C	Ensayo D
AgHBs subtipo 'ad'	0.237	3.52	3.28	4.08
Gln129-His	0.182	3.20	2.61	3.50
Pro142-Ser + Gly145-Arg	0.177	4.94	0.454	0.19
Met133-Leu	0.255	4.18	3.08	3.47
Thr126-Ser	0.214	2.93	2.78	3.05
Gly145-Arg	0.161	3.63	0.518	0.20
Asp144-Ala + Gly145-Arg	0.143	5.27	0.580	0.23
Thr126-Ser + Gly145-Arg	0.135	3.99	0.601	0.16
Asp144-Ala	0.202	5.23	3.67	0.28
Pro142-Leu + Gly145-Arg	0.375	8.08	0.542	0.15
Tipo natural – adw2	0.337	5.36	4.37	6.51
AgHBs subtipo 'ay'	0.427	4.41	5.34	8.99
Control negativo	0.000	1.09	0.456	0.13
Unidades	IU/mL	S/N	S/CO	S/CO
Punto de corte reactivo	≥0.050	≥2.00	≥1.00	≥1.00

Predicción de la ocurrencia de mutantes de HBV en una población 90% vacunada

(Carman et al, 1999)



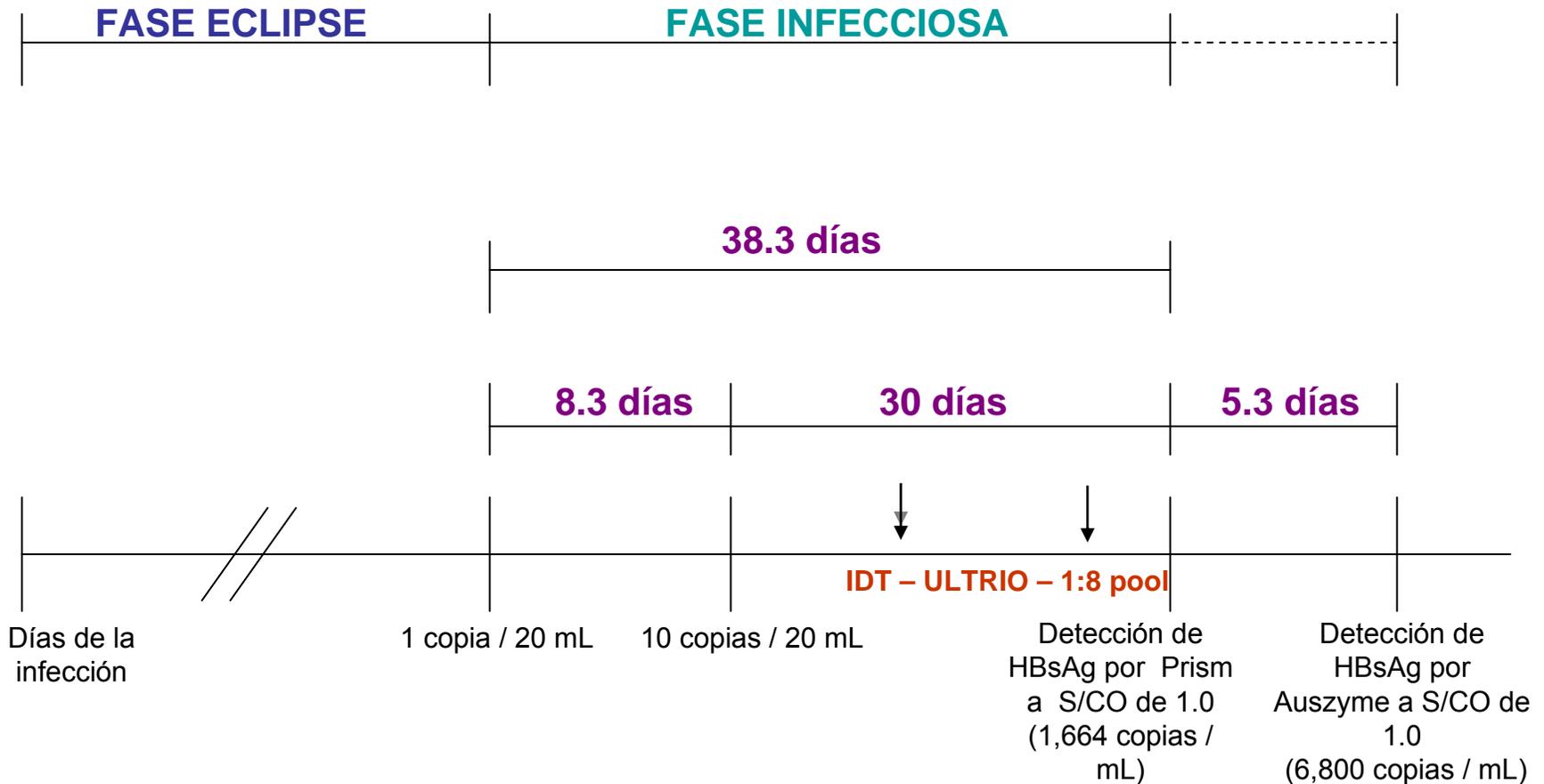
Anti-HBc aislado: Características

- **Anti-HBc+ con valores bajos (MEIA \geq 0.45):**
 - Aparición: 0.5-40%
 - Pobre asociación con memoria inmune
 - Respuesta a dosis “buster” de vacuna <10%
 - Pobre asociación con factores de riesgo
 - Mayor probabilidad de ser falsos positivos
- **Anti-HBc+ con valores altos (MEIA<0.45):**
 - Aparición: 40-75%
 - Están asociados con memoria inmune
 - Respuesta a dosis “buster” de vacuna >53%
 - Asociados a factores de riesgo
 - Mayor probabilidad de ser verdaderos positivos

PERÍODO VENTANA HBV

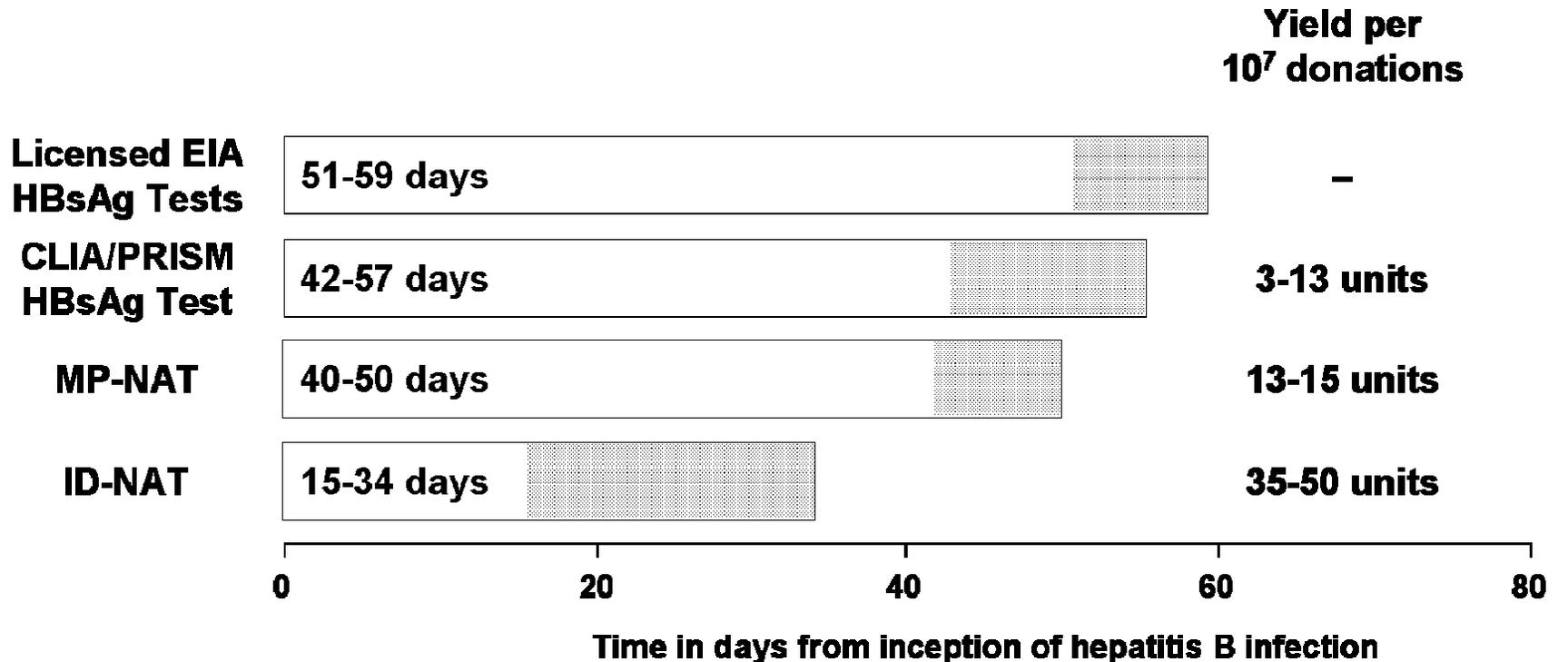
Teniendo en cuenta, la alta sensibilidad del ensayo de HBsAg y la baja concentración viral en el período pre-HBsAg, ~ <1000 copias/ml, la estrategia de pools no permitiría detectar donantes en este período. Esta circunstancia puede variar de acuerdo a la endemividad del lugar

Análisis de la Reducción del Período de Ventana de HBV



Fuente: Kleinman and Busch, J Clin Virol. 2006;36:S23-S29.

Reducción del Período de Ventana y Rendimientos Estimados



NAT = nucleic acid amplification technology for HBV

Range of upper end of window period (assay non-reactive period)

Fuente: Comanor and Holland, 2006, Vox Sanguinis, 91:1-12.

Casos de PV ensayo ROCHE en U.S.

- ➡ Donaciones Estudiadas: **1.205.417**
- ➡ Identificadas :23 HBV DNA Positivas
- ➡ 19 falsas positivas por seguimiento y NAT alternativos
- ➡ 4 períodos de ventana confirmados

	Días de positividad de EIE después de la donación		
Caso	Anti-HBc	HBsAg	Intervalo entre PCR positiva y 1er EIE positivo
1	48	17	17
2	22	Neg 168 days	22
3	26	Neg 54 days	26
4	Neg	14	14

Detección de HBV DNA en dadores de sangre anti-HBc+ en USA

Kleinman et al. AABB 2001

- 5121 unidades sólo anti-HBc +
- 1231 anti-HBc+, anti-HBs <100 IU/mL por Prism
- 395 muestras estudiadas por PCR (<10 IU/mL) y confirmación por 2 PCR en alicuotas separadas
- 4 HBV DNA+ detectados (4/107 anti-HBs-neg)
 - HBV DNA 10-100 copies/mL
- Proyección: 1 HBV DNA+ por cada 48,955 unidades, similar al proyectado para la ventana pre- HBsAg

INFECCIÓN OCULTA POR VIRUS DE LA HEPATITIS B (HBV) EN HEMODONANTES :DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN GENÓMICA PARCIAL

Trinks J; Gambino G;Toledano A et al

110 MUESTRAS ANTI-HBc POSITIVAS/HBsAg NEGATIVAS

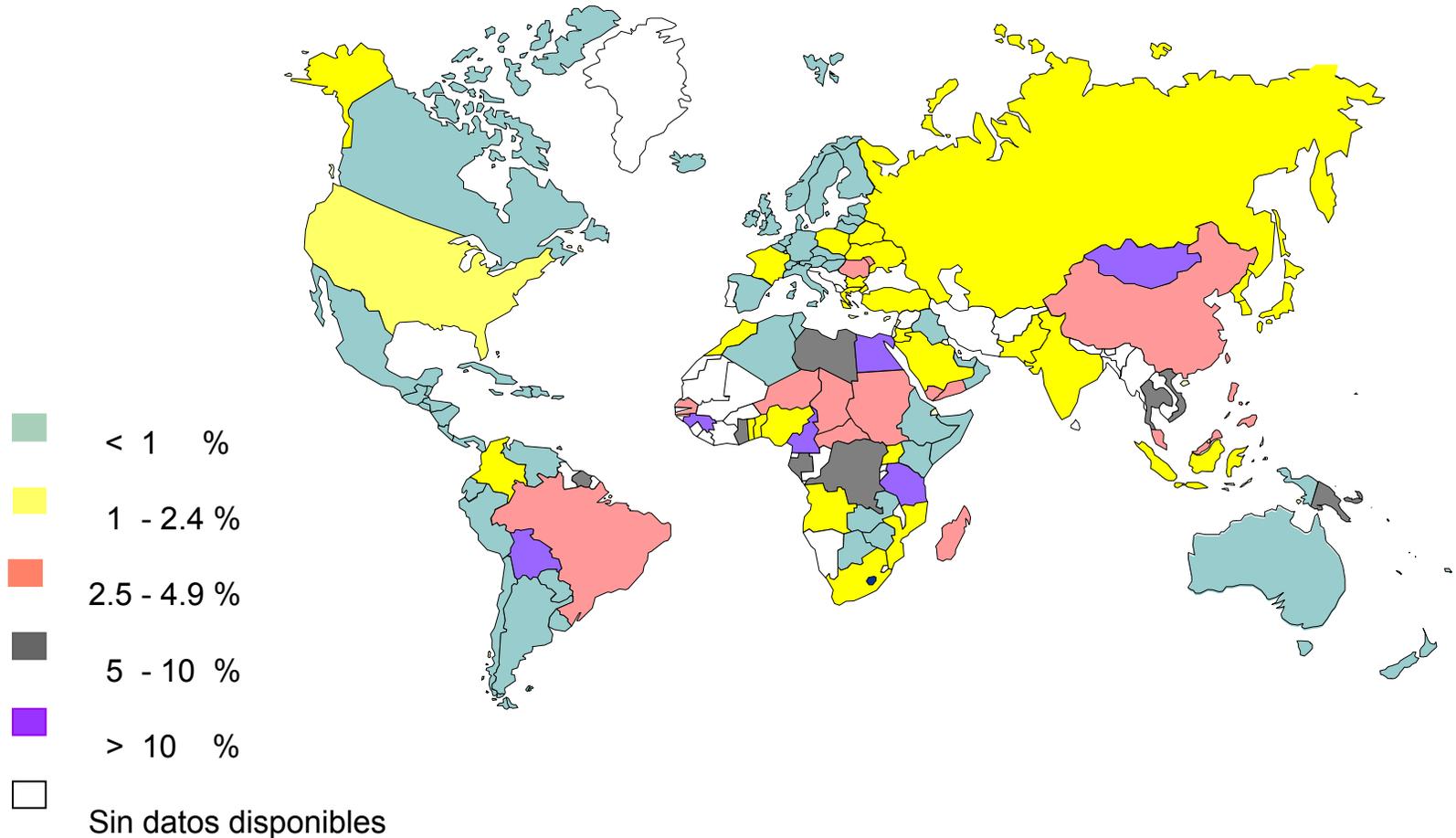


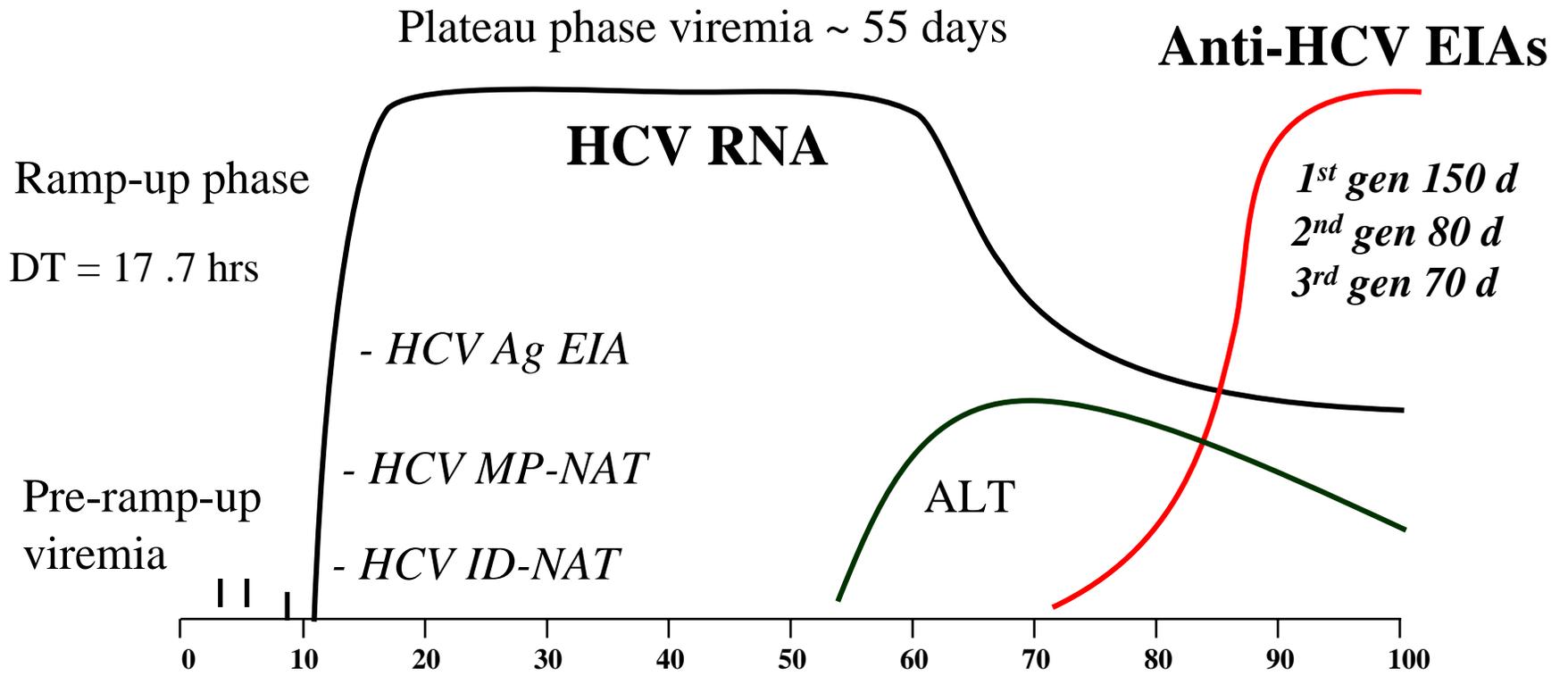
**2 MUESTRAS ULTRIO PROCLEIX® POSITIVAS
(1,8%). Una de ellas Genotipo E**

CONCLUSIONES:

- Documentación de la infección oculta por HBV en donantes de sangre
- Genotipo E mayor divergencia en el determinante “a” con respecto al Genotipo A, lo que implica posibilidad de detección por algunos ensayos serológicos.
- La tecnología NAT permite la detección de portadores del HBV con una mayor sensibilidad

Prevalencia de la infección por HCV





Ventanas de seroconversión para HCV

Prueba	Dias
HCV Ab 1.0	98
HCV Ab 2.0	82
HCV Ab 3.0	70
ALT	53
RNA PCR	14

TESTS COMBO HCV Ag/Ac vs NAT

TABLE 3. Panel 3 results*

Genotype	Mean viral load x10 ⁶ (range)	Proportion detected		Mean S/CO (range)	
		Murex	MONOLISA	Murex	MONOLISA
1a	1.20	1/1 (100%)	1/1 (100%)	2.70	1.08
1b	0.033	1/1 (100%)	0/1 (0%)	1.08	0.80
3a	5.78 (0.002-16.00)	4/6 (67%)	0/6 (0%)	1.26 (0.41-2.16)	0.52
All	4.49 (0.002-16.00)	6/8 (75%)	1/8 (12.5%)	1.42 (0.41-2.70)	0.62 (0.26-1.08)

* Characteristics of the various genotypes of samples which form Panel 3 in terms of the results obtained for viral load and combined antigen-antibody tests.

Ag CORE HCV

- **1pg/ml de Ag Core HCV equivale a alrededor de 8000 IU de HCV RNA.**
- **El test no detecta Ag Core HCV por debajo de un nivel de HCV RNA de 20.000 IU/ml.**

RIESGO RESIDUAL

INFECCIÓN	RIESGO RESIDUAL A PARTIR DE	
	DADORES REPETITIVOS	TODOS LOS DONANTES
HBV	1:205.000	1:144.000
HCV (s/NAT)	1:276.000	1:199.000
HCV (c/NAT)	1:1.935.000	1:1.390.000

Observed yield of HCV NAT (update to 2003)

International Forum J. Coste et al. Vox Sang 2005;88:289-303

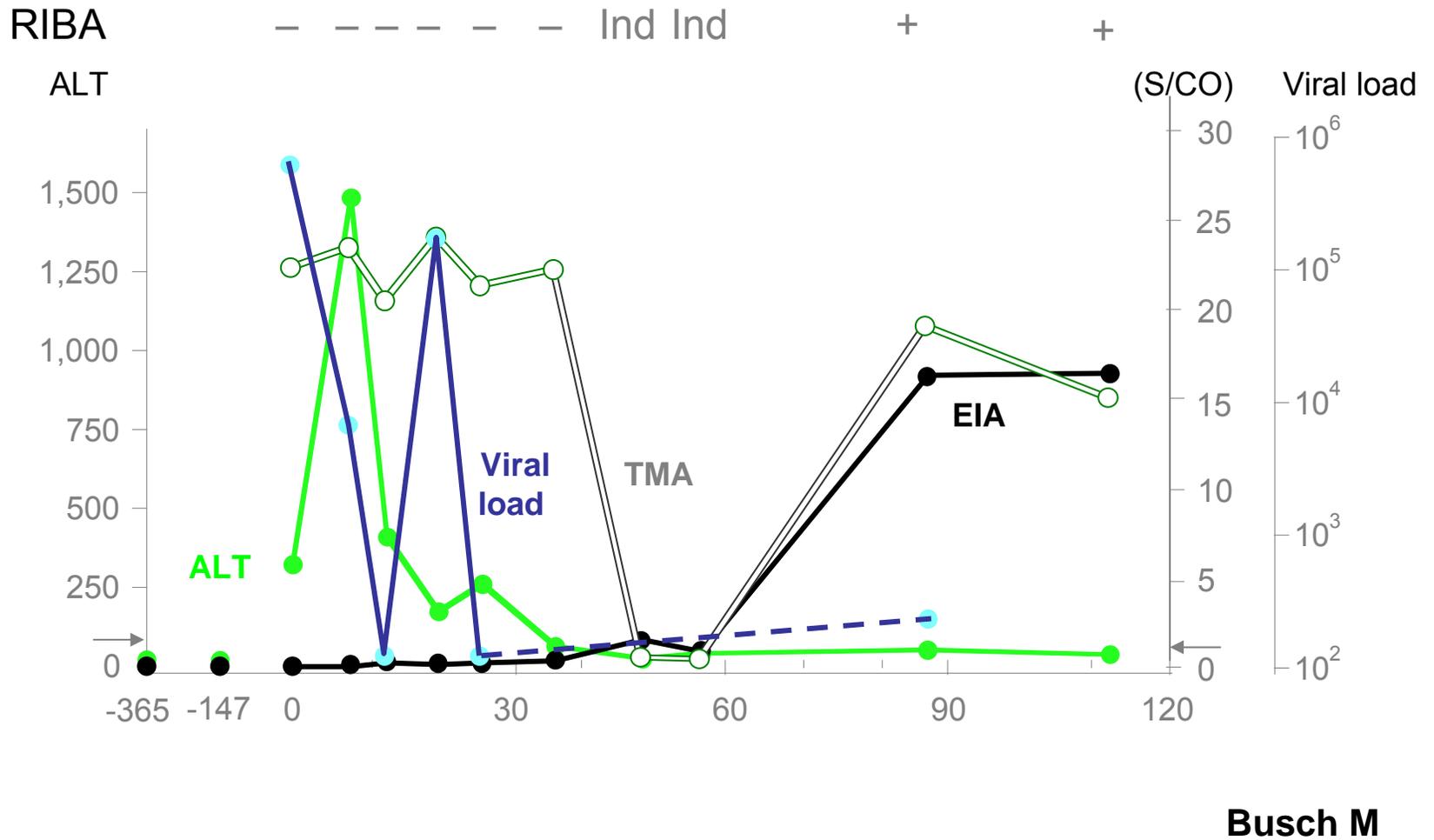
HCV

Observed yield

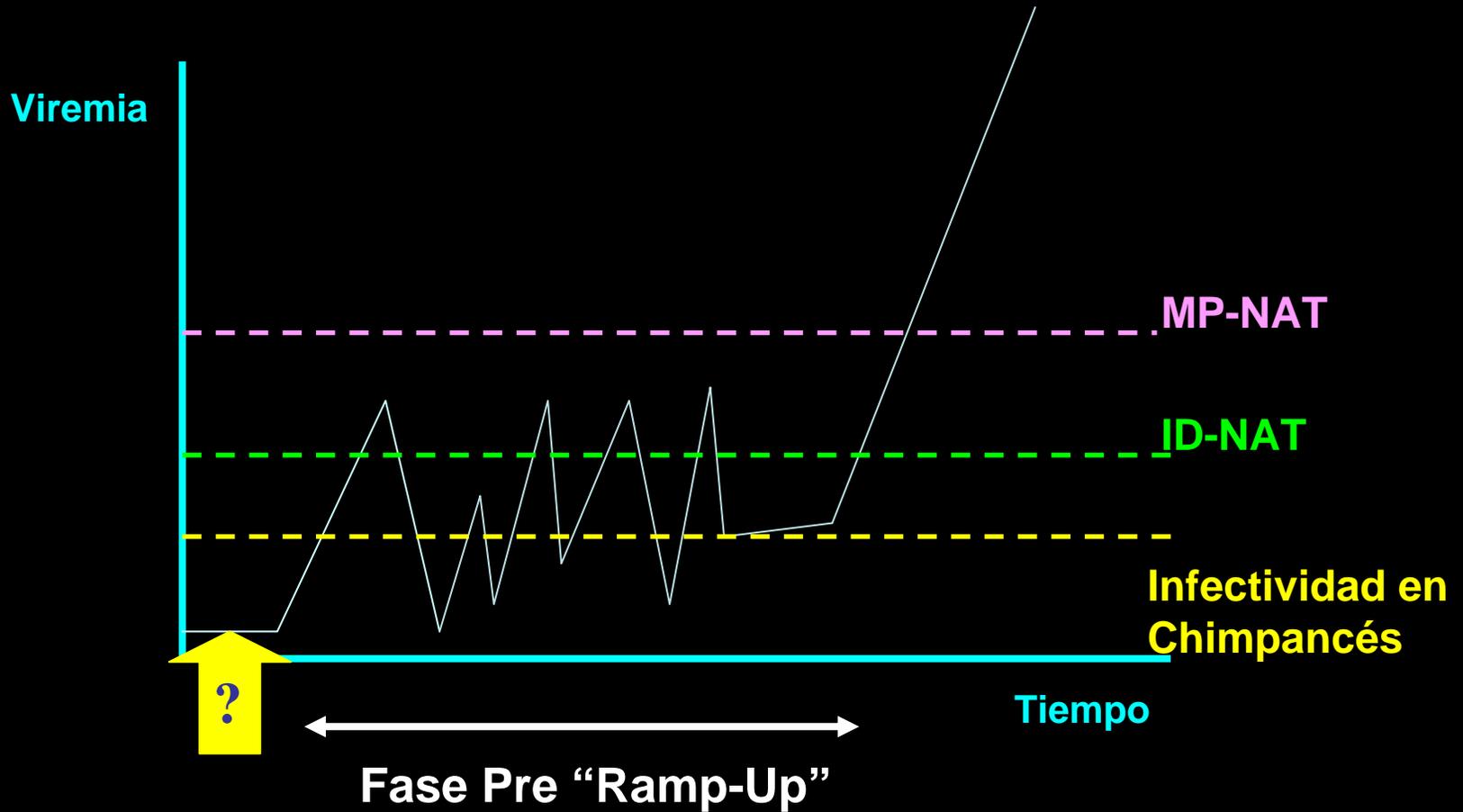
	Per million	<i>N</i> -tested donations	<i>N</i> -observed
Total Europe	0.93	58 386 629	54
North America	3.92	43 595 999	171
Pacific Area	2.37	3 800 861	9

* NAT +/Ab⁻, no other marker

HCV NAT-Positive Donor with fluctuating viremia during plateau-SC phase



Fase pre “Ramp-Up”: Viremia intermitente de bajo tenor que precede a la fase de duplicación exponencial del virus



HCV: Nübling y Cols. Transfusion 2002; 42: 1037-45. Glynn y Cols. Transfusion 2005; 45: 994-1002

HBV: Biswas y Cols. Transfusion 2003; 43: 788-98

HIV: Fiebig y Cols. AIDS 2003; 17: 1871-9

Transmisión de HCV por Sangre Donación Negativa por NAT

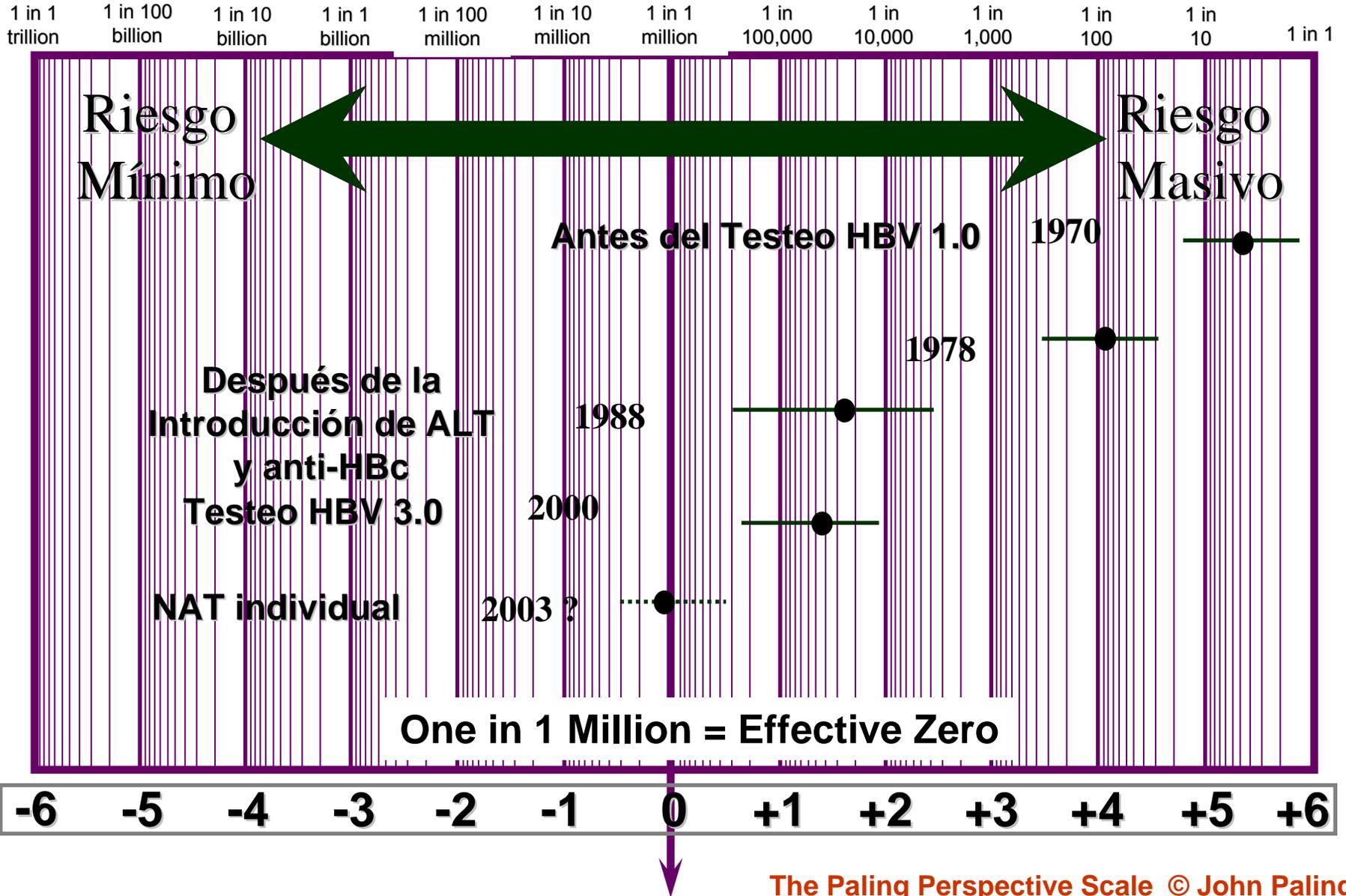
Schüttler CG, et al. Lancet 2000; 355:41-2

- Donación 8 semanas antes de la donación con SC
- Transmisión de HCV por concentrado de plaquetas (~50ml plasma) pero no por CGR (~5mL plasma)
- NAT de PFC, negativo para HCV RNA
- Conclusión: “La realización de NAT no previene totalmente la transmisión de HCV.”

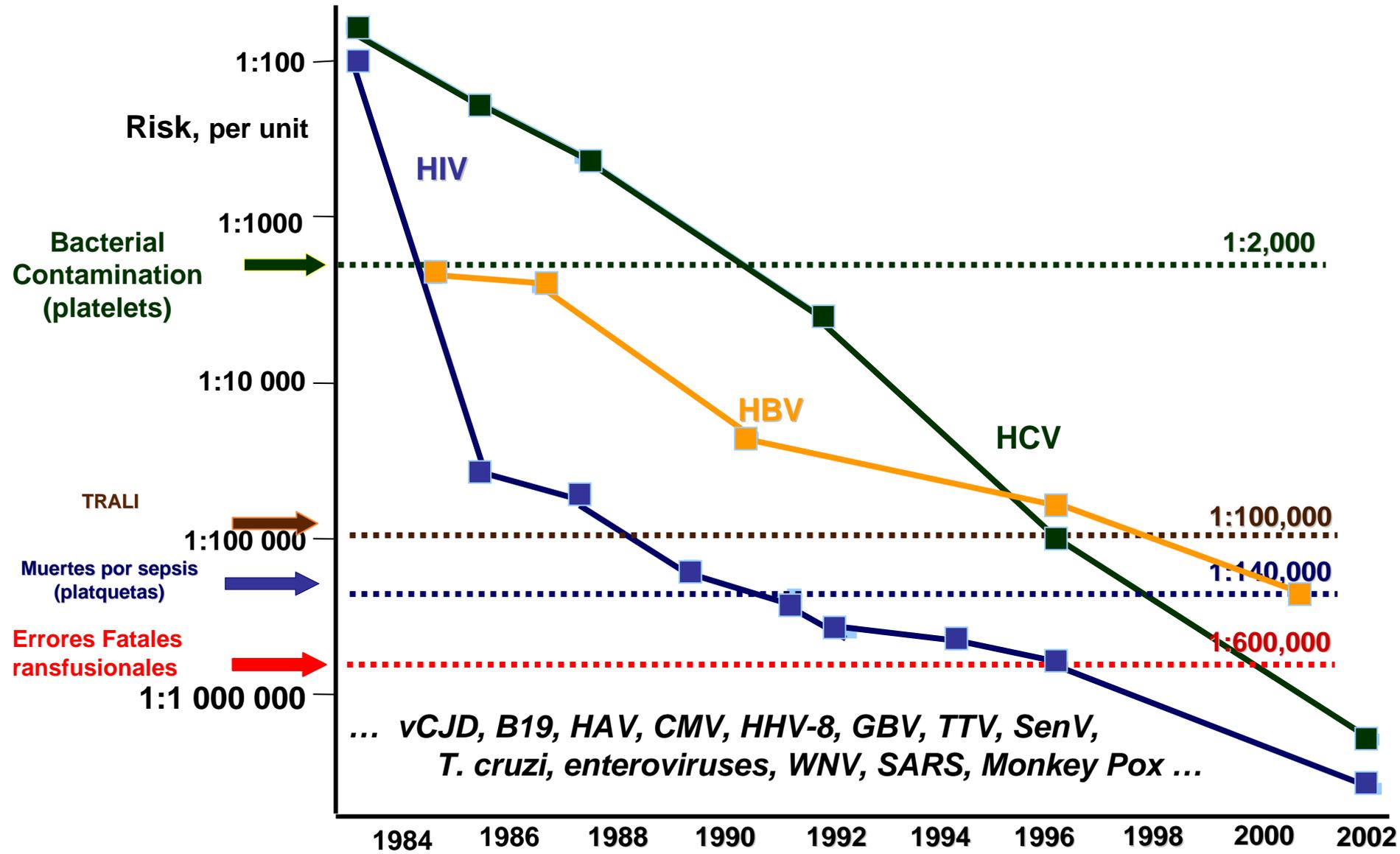
PROCLEIX® System - Probabilidades de detección de HIV-1, HCV y HBV

Prueba múltiple analizada	Ensayo	Probabilidades de Selección	
		50% (Límites de confianza 95%)	95% (Límites de confianza 95%)
[HIV-1 B] copias/ml	Ensayo ULTRIO	8,51 (7,16–10,16)	20,72 (17,68–25,43)
[HIV-1 B] copias/ml	Ensayo dHIV-1	8,47 (7,34–9,88)	17,84 (15,42–21,57)
[HIV estándar OMS (97/656)] UI/ml	Ensayo dHIV-1	8,14 (6,73–9,63)	19,62 (17,15–23,16)
HCV estándar OMS (96/790) UI/ml	Ensayo ULTRIO	1,20 (1,00–1,40)	2,78 (2,44–3,27)
HCV estándar OMS (96/790) UI/ml	Ensayo dHCV	1,00 (0,86–1,16)	1,95 (1,67–2,41)
HBV estándar OMS (97/746) UI/ml	Ensayo ULTRIO	3,18 (2,72–3,76)	7,46 (6,43–8,97)
HBV estándar OMS (97/746) UI/ml	Ensayo dHBV	2,95 (2,49–3,52)	7,42 (6,35–9,02)

Riesgo Transfusional HBV desde 1970



Evolución del Riesgo Transfusional





Muchas gracias!!!!



jrey@hospitaldeclinicas.uba.ar

