

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Seroprevalencia de Hepatitis C en el Banco de Sangre Del  
Hospital General San Juan De Dios utilizando pools de suero



Informe de tesis

PRESENTADO POR

Ana Florencia Hogueel Garcia.

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, octubre de 1,994

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
1632

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	Lic.	JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	Licda.	ELEONORA GAYTAN
VOCAL I	Lic.	MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	Lic.	GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	Lic.	MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	Br.	JORGE LUIS GALINDO AREVALO
VOCAL V	Br.	EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO

**DEDICO ESTA TESIS**

**A DIOS PADRE HIJO  
Y ESPIRITU SANTO**

Principio y fin de toda  
sabiduría

**A LA SANTISIMA VIRGEN  
MARIA**

Intercesora de los hombres

**A LA MEMORIA DE MI  
PADRE**

Jesús Rodolfo Moguel Váldez

**A MI MADRE**

Alba América García Morales  
con amor y profundo  
agradecimiento, por que este  
triunfo hoy es de las dos

**A MI ESPOSO**

Lic. Raul A. Paniagua  
Con infinito amor y  
admiración.

**A MIS HERMANOS**

Humberto Rodolfo y Heydi  
Luis Andrés y Hellen  
Francisco José Moguel

**A MIS SOBRINOS**

Humberto Alejandro  
Luis Rodolfo y María  
Fernanda Moguel Estrada

**A MI FAMILIA  
POLITICA**

Fam. Paniagua Piloña

**A MIS AMIGOS**

Lic. Johana González  
Ing. Ana Bella Escobar  
Fam. Arenas Ramos  
Y a la Comunidad de  
Religiosos  
y Seminaristas de la  
Parroquia San Cayetano

**A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION**

**DEDICO ESTE ACTO:**

Al Sr. Luis Humberto Moguel Jiménez, a quien agradezco su apoyo y sincera amistad en todos estos años.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las personas e Instituciones que colaboraron con la realización de este Trabajo , mi sincero agradecimiento a:

Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar

Dr. Julio Cáceres Figueroa

Lic. Raul Antonio Paniagua Piloña

Al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios

A la compañía Labtronic limitada.

Al departamento de Cito histología, especialmente al Lic. Armando Cáceres y Federico Nave.

## **INDICE**

<b>1. RESUMEN</b>	<b>2</b>
<b>2. INTRODUCCION</b>	<b>3</b>
<b>3. ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
<b>4. JUSTIFICACIONES</b>	<b>18</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
<b>6. HIPOTESIS</b>	<b>20</b>
<b>7. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>21</b>
<b>8. RESULTADOS:</b>	<b>25</b>
<b>9. DISCUSION DE RESULTADOS:</b>	<b>27</b>
<b>10. CONCLUSIONES:</b>	<b>29</b>
<b>11. RECOMENDACIONES:</b>	<b>30</b>
<b>12. REFERENCIAS</b>	<b>31</b>

## 1. RESUMEN

La transmisión post-transfusional de hepatitis C es un problema del cual no se tiene un dato exacto para Guatemala. Esta clase de hepatitis (antes llamada hepatitis no A - no B), produce los mismos efectos y daños que la hepatitis tipo B, sin embargo el virus es diferente.

En el presente estudio se determinó la presencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en un total de 455 donadores de sangre, los que conformaron un total de 91 pooles de suero (cinco donadores por pool). Esto se hizo por medio de dos métodos de ELISA de diferentes casas comerciales (Wellcozyme<sup>R</sup> ANTI-HCV y Abbott<sup>R</sup> HCV EIA).

Se obtuvo una seroprevalencia de 1.01 por ciento y una tasa de 0.55 por ciento por cada mil donadores de sangre, comparando este resultado con otras enfermedades de transmisión sexual cuyas tasas poblacionales son las siguientes: 0.99 por ciento para síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) por cada 10,000 habitantes y 14 por ciento para hepatitis B por cada 10,000 habitantes, se puede concluir que se tiene un porcentaje alto para hepatitis C.

Se determinó que la metodología del pool de sueros es aplicable a países en vías de desarrollo por la economía que representa, en el presente estudio fué de 329 pruebas para cada método, lo que hace un ahorro del 72.3 por ciento.

## 2. INTRODUCCION

La hepatitis C en Guatemala no ha sido estudiada a fondo y no se tiene un dato real de cuál podría ser el porcentaje de las personas que padecen esta enfermedad.

Esta clase de hepatitis (antes llamada hepatitis no A - no B), produce los mismos efectos y daños que la hepatitis tipo B, sin embargo el virus es diferente.

Uno de los principales objetivos en este estudio fue tener un dato que pueda orientar con respecto a la epidemiología de este virus en Guatemala y de esta forma establecer de rutina, en los bancos de sangre, la determinación de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C.

El costo de esta prueba resulta ser elevado, es por eso que se ha estandarizado la técnica de trabajar con pools de suero para evitar el gasto innecesario de reactivos, ahorrar tiempo, dinero y trabajo.

La determinación se realizó en suero de donadores del banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, por medio de dos pruebas de ELISA de tercera generación de diferente casa comercial.



### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1 Generalidades**

##### **3.1.1 Definición del Virus de la Hepatitis C (VHC)**

El virus de la hepatitis C está constituido de un ARN monocatenario, de polaridad positiva, de aproximadamente 10,000 nucleótidos. Mide de 50 a 60 nanómetros de diámetro y está provisto de un recubrimiento de glicoproteínas. Su peso molecular es de alrededor de  $4 \times 10^6$  daltones. Por sus características esta incluido entre los flavivirus (1).

##### **3.1.2 Organización genómica**

Al igual que el flavivirus el VHC tiene:

- Genes de estructura situados en la región 5' que codifican: la nucleocápside (C), proteínas de membrana y glicoproteínas de recubrimiento.
- Genes que codifican las proteínas no estructurales: Ns1, Ns3, Ns4 y Ns5.

Las funciones de estas diferentes proteínas no estructurales son poco conocidas. La NS1 tiene un papel en la fijación del complemento, la región NS2 y NS4 en la fijación a la membrana

celular, la región NS3 tiene una función en la polimerasa o replicasa (1,2).

La proteína utilizada en la prueba inmunoenzimática que se ensaya actualmente para la investigación de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C, corresponde a una proteína no estructural llamada C-100-3, codificada por una parte del genoma correspondiente a las regiones NS3 - NS4. Es sobre todo en la región 3' que el virus de la hepatitis C presenta homología a las estructuras con los flavovirus, sin embargo la región 5' es bastante diferente (1,3).

Algunos pacientes afectados por la hepatitis noA-noB, no presentan anti-VHC detectables con el método inmunoenzimático (ELISA), mientras que la detección del ARN viral es positiva, lo que indica la existencia de cepas diferentes o subtipos del VHC. Esta hipótesis podría explicar las raras reacciones serológicas negativas con las pruebas disponibles en la actualidad (2,4).

### **3.1.3 Caracteres antigénicos**

Hasta ahora los antígenos del VHC no han sido caracterizados, solamente los antígenos fabricados por recombinación genética y utilizados en las pruebas serológicas son los conocidos, se trata de antígenos de estructuras del virus core o cápside C22-3 (de la casa Ortho) y NC450 (de la casa Pasteur) y

de antígenos no estructurales (C-100-3, C 5-11, C33c -ORTHO- y 409-11 -Diagnósticos Pasteur-) codificados por las regiones NS3 NS4 del genoma (5).

### **3.2 Epidemiología**

La distribución geográfica del virus de la hepatitis C (VHC) no es bien conocida, los estudios de prevalencia del anticuerpo contra antígenos no estructurales (C-100-3) solamente se han hecho en algunas regiones del globo terráqueo. Parece ser que el VHC tiene una distribución mundial, la prevalencia de anticuerpos anti VHC en la población general esta evaluada a grosso modo. En Francia 1 por ciento , Europa y los Estados Unidos (0.5-1.5 %), mientras que en Africa las cifras parecen ser más elevadas (cercanas al 10 %). En Asia, la presencia del VHC en la población parece menos elevada, 2 por ciento en Taiwan y más de 1 por ciento en Japón (4).

La transmisión del VHC parece ser parecida a la de hepatitis B, el hombre es el único reservorio del virus. La infección puede ser transmitida por la sangre que contiene grandes concentraciones de virus, así como también por medio de las secreciones cervicovaginales, semen y saliva. La transmisión puede ser percutánea (piquetes, heridas, lesiones cutáneas) y por contacto con las mucosas (proyección de sangre en el ojo, uso de cepillos de dientes, relaciones sexuales). Las heces no son una fuente de

contaminación importante y la transmisión oro-fecal parece ser insignificante (3,6).

En Guatemala no se han realizado estudios específicos sobre hepatitis C, los datos que actualmente se encuentran se refieren a hepatitis noA-noB, pero este dato no puede aplicarse a hepatitis C específicamente. Según estudios realizados en la Universidad de Costa Rica con muestras proporcionadas por la Cruz Roja Guatemalteca se estableció un dato preliminar donde la incidencia era del 0.6 por ciento para donadores de sangre y el 6 por ciento para pacientes politransfundidos.

En estudios realizados en Somalia en septiembre de 1992, se llegó a la conclusión que la condición socioeconómica es un factor predisponente, ya que se encontró que el 1.6 por ciento de la población que vive en barrios marginales dio un resultado serológico positivo para HCV, mientras que la población que vive en barrios residenciales fue un 0 por ciento (7).

En un estudio realizado en Tailandia en mayo de 1992, se propuso la hipótesis de que el VHC estaba ligado con pacientes que padecen de anemia aplásica, para dicho estudio la población fue de 57 pacientes que no habían sido transfundidos, dando 5.7 por ciento de positividad con la polimerasa de reacción en cadena para HCV, dicho estudio concluyó, que no se descarta la posibilidad de que el HCV tenga relación con pacientes que padecen de anemia aplásica, ya

que parece ser que la familia del flavivirus del HCV, se encuentra relacionado con el paramyxovirus que se ha propuesto como un fuerte candidato en anemias aplásicas (8).

En Japón, se publicó un informe que la prevalencia de HCV incrementa significativamente con la edad aproximadamente en 1.4 por ciento, este estudio se hizo comparando los resultados de donadores de sangre con niños de edad escolar (9).

### **3.3 Formas de transmisión**

#### **3.3.1 Transmisión parenteral post-transfusional**

La transmisión post-transfusional del VHC es la mejor documentada, antes del advenimiento de la prueba serológica, la incidencia de hepatitis noA-noB post-transfusional, se estimaba de 2 a 14 por ciento según los estudios (6); la responsabilidad del VHC en las hepatitis no A no B no podía determinarse sin la ayuda de la prueba de ELISA que detecta los anticuerpos anti-HVC de aparición retardada en relación al inicio de la hepatitis (6,10).

La reciente utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido poner en evidencia secuencias del VHC en el hígado o en el suero durante las hepatitis agudas antes de la aparición de anticuerpos e igualmente en ciertos casos de hepatitis crónicas que presenten anti-VHC negativas. De esta forma

se han podido identificar auténticas hepatitis C anti-C-100-3 negativas (11).

La prevalencia entre los donadores de sangre de anticuerpos anti VHC es inferior al 1 por ciento en los países desarrollados. En varios estudios publicados recientemente, se encuentra una seroconversión anti-C-100-3 en un 50 a 90 por ciento de las hepatitis post-transfusionales no A - no B. Estos resultados sugieren la posibilidad de hepatitis C en muestras seronegativas de hepatitis noA noB noC, las concentraciones del factor VIII son igualmente responsables en la transmisión de hepatitis noA noB. Una gran proporción (2/3 en promedio) de los hemofílicos tienen anticuerpos anti-VHC, sin embargo en aquellos hemofílicos tratados únicamente con solvente-detergente que se usa actualmente en Francia, no se observó ninguna seropositividad, lo que confirma la eficiencia de este tipo de procedimiento en el tratamiento de las fracciones de coagulación para la destrucción de virus encubiertos (9,11,12).

### **3.3.2 Transmisión percutánea por medio de drogas intravenosas**

Numerosos estudios han encontrado una elevada prevalencia de anticuerpos anti-C-100-3 en los utilizadores de drogas intravenosas, las cifras descritas actualmente se sitúan alrededor del 70 por ciento (13).

### **3.3.3 Transmisión no parenteral llamada esporádica**

Las hepatitis llamadas esporádicas representan un 30 por ciento de las hepatitis noA-noB. El término esporádico agrupa de hecho los diferentes modos hipotéticos de contaminación , aún mal definidos, entre los cuales se encuentra la contaminación sexual, percutánea y materno-fetal, y sobre todo los modos de transmisión aún no conocidos de este virus (10).

#### **3.3.3.1 Transmisión sexual**

La transmisión sexual del VHC parece poco significativa. se han descrito pocos casos de contaminación al cónyuge (13).

#### **3.3.3.2 Transmisión familiar**

Se han descrito numerosos casos de hepatitis C dentro de familias de personas infectadas. Esta forma de transmisión podría dar cuenta de los casos esporádicos (6,14).

#### **3.3.3.3 Transmisión materno-fetal**

Existen en la actualidad pocos argumentos a favor de una transmisión materno-fetal del VHC (6,14).

### **3.4 Patogénesis**

#### **3.4.1 Cáncer primario del hígado**

En los pacientes afectados de hepato carcinoma, la prevalencia de anticuerpos anti-VCH es elevada entre 20 y 50 por ciento y sugiere que el VHC podría jugar un papel importante en la aparición del cáncer primario del hígado. Aunque el VHC es un virus ARN que no se integra al genoma de la célula huésped y que por lo tanto no puede ser directamente oncogénica, podría actuar en asociación con el VHB, o solamente por medio de las lesiones cirróticas (15).

#### **3.4.2 Hepatitis B**

La prevalencia de anti-VHC es alta en los pacientes afectados de hepatitis crónica B (10-20%), especialmente en aquellos afectados por una sobreinfección Delta. Estas proporciones elevadas están probablemente vinculadas a las similitudes epidemiológicas de los virus B y C y a su gran prevalencia en las poblaciones de riesgo, en particular los utilizadores de drogas intravenosas. Durante el transcurso de las hepatitis B crónicas, la coinfección y la sobreinfección por el virus C está aparentemente asociada a una disminución de la replicación del virus B y a un aumento de la severidad de la afección hepática (10,15).



### **3.4.3 Cirrosis alcohólica**

La prevalencia de la infección causada por el virus C parece más significativa entre los alcohólicos sobre todo en aquellos que padecen de cirrosis. El VHC es sin duda también responsable en un cierto número de pacientes que desarrollan cirrosis (15,16).

### **3.4.4 Enfermedad hepática auto-inmune**

La asociación de hepatitis autoinmunes y la presencia de anti-VHC, parece frecuente (más de un 50 por ciento de los casos), sin embargo, las reacciones falsamente positivas pudieron haber sido responsables por las cifras elevadas de prevalencia de anticuerpos anti-C-100-3. De hecho estos resultados no han sido aún confirmados por los análisis de radioinmuno-electroforesis en papel secante (RIBA) (16).

Solamente los resultados de la investigación de una réplica del virus C por PCR pueden determinar el verdadero papel del VHC en estas patologías.

## **3.5 Formas de la Hepatitis C**

### **3.5.1 Hepatitis agudas**

A causa del apareamiento retardado en algunas ocasiones de

los anticuerpos anti-C-100-3, el diagnóstico de la hepatitis aguda noA-noB, se basa esencialmente en la exclusión de otras posibles causas de hepatitis (3,16)

La eliminación de diversos virus hepatotrópicos importantes, se basa en la actualidad en los siguientes criterios:

3.5.1.1 Eliminación de una infección por el virus de la hepatitis A.

3.5.1.2 Eliminación de una infección por el virus de la hepatitis B: ausencia del antígeno HBs, de la IgM anti-HBc y del ADN del virus B en el suero, aun cuando no haya Ag Hbs.

3.5.1.3 Eliminación de una infección por citomegalovirus (CMV):ausencia de IgM anti-CMV.

3.5.1.4 Eliminación de una infección por el virus de Epstein-Bar (EBV):ausencia de IgM anti-VCA (antígeno viral capsular) y prueba negativa para el virus de la mononucleosis infecciosa (MNI).

Las causas no virales de hipertransaminasemia deben también eliminarse, en especial las hepatitis medicamentosas, alcohólicas y más raramente las hepatitis autoinmunes o cirrosis biliares primitivas, por medio de la investigación sistemática de

anticuerpos anti-tejidos.

Los anticuerpos (anti-VHC) aparecen de manera ligeramente retardada en relación al episodio citolítico agudo, en la mayoría de los casos la prueba resulta positiva durante el primer mes que sigue al episodio agudo.

La prevalencia de la seroconversión anti-VHC en el transcurso de las hepatitis agudas post-transfusionales noA-noB, se sitúa alrededor del 80 por ciento, una vez analizados el conjunto de los resultados de las diferentes encuestas post-transfusionales.

La prevalencia de anticuerpos anti-VHC en el transcurso de hepatitis agudas esporádicas, es menos significativa que aquella descrita en el caso de las hepatitis post-transfusionales. La seroconversión anti-VHC parece más frecuente en las hepatitis agudas evolucionando a un estado crónico, que en aquellas hepatitis agudas resolutivas, y ciertos anticuerpos anti-VHC podrían desaparecer en las hepatitis en curso de resolución (12,17).

### **3.5.2 Hepatitis fulminantes**

La responsabilidad del VHC en las hepatitis fulminantes parece rara o inexistente, aunque difícil de determinar dada la mortalidad de esta afección, la aparición retardada de Ac anti-VHC y por lo tanto la imposibilidad de evidenciar la sero-conversión. Solamente

la detección de secuencias virales por PCR podría ser la prueba de la responsabilidad del VHC en ciertos casos de hepatitis fulminantes (4,18).

### **3.5.3 Hepatitis crónicas**

Las hepatitis crónicas no A - no B se definen por la existencia de un incremento prolongado superior a 6 meses de la alanina aminotransferasa (ALAT), a más del doble de su valor normal, después de la exclusión de otras posibles causas de citólisis crónica.

Su incidencia varía de 30 a 70 por ciento según los estudios de las hepatitis post-transfusionales y de 10 a 40 por ciento para las formas esporádicas de las mismas.

Los estudios publicados concuerdan en situar la prevalencia de anti-VHC en las hepatitis crónicas noA-noB (NANB), alrededor del 90 por ciento. Esta prevalencia parece ligeramente más elevada en el curso de las hepatitis NANB esporádicas. Las tasas de anticuerpos en general son superiores al 2 por ciento. Las que podrían disminuir durante el curso de la evolución de la enfermedad, especialmente en las formas resolutivas, con la normalización de las aminotransferasas (5,16).

#### **3.5.4 Cirrósisis**

En el transcurso de las cirrosis post-hepáticas no B, llamadas criptogénicas, la prevalencia de anti-VHC está cercana al 50 por ciento (5).

### **3.6 Diagnóstico**

#### **3.6.1 Prueba serológica**

Las pruebas utilizadas para el diagnóstico que pueden ser sensibles y específicas para el virus VHC son de segunda y tercera generación, siendo más utilizados las de tercera generación.

La proteína recombinante (C-100-3) utilizada en la primera prueba serológica fue fabricada por recombinación genética en levaduras, a partir del primer clon aislado de VHC. Los análisis efectuados con ELISA (tercera generación) permiten la detección de anticuerpos dirigidos contra otras proteínas diferentes de la proteína C, que fueron comercializados en 1991. Estos son fabricados a partir de clones correspondientes a otras regiones (estructurales o no estructurales) del genoma del VHC.

Las proteínas recombinantes que corresponden a estos clones son codificadas por regiones no-estructurales (NS3-NS4 para las proteínas C33C -Ortho-, C-200 y 409-11 -Diagnóstico Pasteur/Genebals-) y estructurales para las proteínas C 22-3 y NC 450.

También se encuentra en el mercado la prueba de RIBA, este ensayo utiliza una técnica de "inmuno-blotting" permitiendo la detección cualitativa de anticuerpos dirigidos contra dos proteínas no estructurales del virus de la hepatitis C. En las pruebas de segunda generación se utilizan cuatro proteínas recombinantes, (C100-3, 5-1-1, C33C y C 22-3).

El RIBA parece más específico que el ELISA aunque quizá menos sensible. El ELISA detecta los anticuerpos dirigidos contra las proteínas C-100-3, C-200 y C 22-3. El RIBA de confirmación permite identificar en inmunoblotting los anticuerpos anti-VHC dirigidos respectivamente contra las proteínas 5-1-1, C-100-3, C33C y C 22-3.

Estos análisis serológicos son muy sensibles y se positivizan de manera más precoz luego de una hepatitis aguda. También es posible que persistan por más tiempo los anti C-100-3, aun en caso de cura de la hepatitis, en particular para los anti C 22-3 (19).

### **3.6.2 Detección de ARN viral por amplificación del genoma**

La utilización de la amplificación del genoma por la reacción en cadena con polimerasa de ADN (PCR) para poner en evidencia el ARN viral en el suero y/o en el hígado, parece extremadamente interesante, ya que permite afirmar la existencia de una réplica viral aun cuando no se haya detectado anticuerpos anti-VHC. Ella sola es capaz de evaluar la infectividad de los materiales biológicos en particular de los derivados sanguíneos (17,19).

#### 4. JUSTIFICACIONES

En Guatemala, la hepatitis C, es una enfermedad de la cual no se conoce un dato exacto de su incidencia, especialmente en pacientes politransfundidos y en donadores de sangre . Sin embargo se le ha dado muy poca importancia. Debido a esta falta de información, no existe al momento un programa de control y la prueba no se realiza de rutina, ya que se cree que en Guatemala su incidencia no es alta. Uno de los principales factores es el económico, es por eso la idea de trabajar con muestras a partir de un pool de sueros, lo que implica reducción del costo y tiempo de trabajo, de esta manera se ayudará a los bancos de sangre, ya que podría implementarse de rutina la prueba para la detección de hepatitis C.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 GENERAL**

Demostrar la prevalencia de hepatitis C en donadores de sangre.

### **5.2 ESPECIFICOS**

5.2.1 Implementar la técnica de pool de sueros, para disminuir los costos de la prueba y tiempo de trabajo, y de esta forma realizar de rutina la determinación de la hepatitis C.

5.2.2 Conocer ventajas y desventajas de trabajar con un pool de sueros para la determinación de hepatitis C.



## **6. HIPOTESIS**

- 6.1 La utilización del pool de sueros no interfiere en la sensibilidad para la determinación de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C, a la vez que disminuye costos y tiempo de trabajo.
  
- 6.2 La prevalencia de hepatitis C es menor del uno por ciento en donadores voluntarios.

## **7. MATERIALES Y METODOS**

### **7.1 Universo de trabajo**

El universo de trabajo estuvo constituido por Donadores de Sangre del Hospital General San Juan de Dios elegidos al azar.

### **7.2 Recursos**

#### **7.2.1 Humanos**

El trabajo de investigación fue realizado por la estudiante de la carrera de Química Biológica: Ana Florencia Moguel García, contando con la asesoría del Dr. Julio Cáceres y el Lic. Jorge Pérez Folgar.

#### **7.2.2. Institucionales**

La recolección y procesamiento de las muestras se realizó en el Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios.

#### **7.2.3 Materiales**

##### **7.2.3.1 Cristalería y equipo**

Tubos de ensayo

Beacker  
Erlen meyer  
Probetas  
Tubos de forma cónica  
Pipetas Pasteur  
Espátula  
Jeringas  
Agujas # 22  
Liga  
Bulbo de caucho succionador  
Centrífuga  
Lector de ELISA

#### **7.2.3.2 Reactivos**

Juego comercial de ELISA ( Abbot)  
Juego comercial de ELISA ( Wellcozyme)  
Amortiguador de solución de lavado  
Solución de trabajo  
Cromógeno  
Sustrato comercial para la técnica de ELISA  
Alcohol

### **7.3 Procedimiento**

#### **7.3.1 Recolección de las muestras**

Se escogieron al azar 455 donadores de sangre, de los cuales se tomaron 10 ml de sangre, luego se separó el suero, el cual se guardó en viales congelándose a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la realización de la prueba.

#### **7.3.2 Preparación de los pools de suero**

Cada pool de sueros se preparó con cinco sueros de donadores diferentes escogidos a través de una tabla de números aleatorios, se utilizaron 10  $\mu\text{l}$  de cada uno de ellos, obteniendo 50  $\mu\text{l}$  de volumen final.

#### **7.3.3 Metodología**

La determinación de los anticuerpos anti-VHC se realizó por medio los métodos de Wellcozyme<sup>R</sup> HCV y Abbott<sup>R</sup> HCV EIA, ambos métodos presentan sus metodologías características, sin embargo son similares en:

- Incubación de la muestra con el antígeno y una solución tampón.

- Fase de lavado, con una solución tampón y un surfactante.
- Incubación con el anticuerpo marcado (conjugado).
- Fase de lavado, con una solución tampón y un surfactante.
- Incubación para el desarrollo de color del substrato.
- Lectura de las absorbancias de las muestra y los controles por medio de un espectrofotómetro.
- Cálculo de los valores de corte.

#### **7.4 Diseño de la investigación:**

Se realizó un estudio ciego, transversal , en el cual el pool de sueros, fue corrido por la técnica de ELISA, de dos casas comerciales, el número total de muestras fué de 455 que hicieron un total de 91 pooles. El número de muestras fué calculado de la siguiente forma:

$$z = 1.96 \quad \alpha = 0.05$$

$$d = 1\% \quad p = 0.5$$

$$q = 0.5$$

Formula  $n=(z/d)^2pq$  Dando un n de 480, siendo 96 pooles.

## 8. RESULTADOS:

Se trabajó con un total de 455 sueros de donadores, los cuales formaron 91 pooles, estos fueron corridos por el método de ELISA de dos casas comerciales.

Por medio del método ELISA Wellcozyme ANTI-HCV se obtuvieron cinco pooles positivos, los cuales fueron corridos por duplicado brindando el mismo resultado, estos representan un 5.5 por ciento de positividad.

El otro método de ELISA utilizado fué el de Abbott, por medio del cual se obtuvieron cinco pooles positivos, brindando un 5.5 ciento de positividad.

**Tabla No.1**

Resultados de 91 pooles de sueros corridos por el método  
ELISA-HCV de dos casas comerciales

Casa Comercial	No. pooles	Negativos	Positivos	Dupl. positivos
WELLCOM	91	86	5	5
ABBOTT	91	86	5	5

Se obtuvo un resultado positivo en cinco pooles diferentes, tanto en el ELISA de Abbott como en el de Wellcom, luego se

corrieron los sueros que conformaba cada uno de los pooles positivos, dando como resultado cinco sueros positivos de donadores diferentes ( uno para cada pool), representando un 1.01 por ciento de positividad para la presencia de anticuerpos contra el VHC, con un rango de 0.54-1.48 para un intervalo de confianza del 95 por ciento. La tasa poblacional es de 0.55 por ciento por cada 1000 donadores de sangre.

**Tabla No.2**

Resultados individuales de los pooles positivos

por el método de ELISA-HCV

Casa Comercial	No. pooles	No. sueros	No. sueros positivos	No. sueros negativos
WELLCOM	5	25	5	20
ABBOTT	5	25	5	20

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS:

Según los datos obtenidos se tiene una prevalencia del 1.01 por ciento con un rango de  $\pm$  0.54-1.48 para un intervalo de confianza del 95 por ciento, para anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en donadores de sangre, este dato es más alto de reportado en un estudio preliminar realizado por la Cruz Roja Guatemalteca. Este porcentaje de prevalencia es similar a los reportados en: Francia 1.0 por ciento, Estados Unidos y Europa 0.5-1.5 por ciento, sin embargo este es más bajo que el reportado por Africa (10 por ciento) y Taiwan (2 por ciento) (4-8).

La metodología del pool de sueros es aplicable a países en vías de desarrollo por la economía que representa, por el ahorro en el número de pruebas, en el presente estudio fué de 329 para cada método, ésto es importante para los hospitales nacionales, los cuales no cuentan con los fondos necesarios para que se efectúe rutinariamente; sin embargo es importante hacer estudios sobre la concentración mínima detectable de anticuerpo ya que ésto puede constituir una desventaja en la utilización del pool, por que a bajas concentraciones de éste no se sabe si disminuye la sensibilidad de las pruebas diagnósticas.

Con respecto a las metodologías de las diferentes casas comerciales, es importante que éstas presenten antígenos de la porción del core, región NS3, NS4 y NS5 por que la prueba resulta ser más específica.



Se obtuvo un tasa de población del 0.55 por ciento para hepatitis C por cada mil donadores . Comparando este resultado con otras enfermedades de transmisión sexual cuyas tasas poblacionales son las siguientes: 0.99 por ciento para síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) por cada 10,000 habitantes y 14 por ciento para hepatitis por cada 10,000 habitantes, se puede concluir que se tiene un porcentaje alto para hepatitis C.

## **10. CONCLUSIONES:**

- 10.1 Se obtuvo un 1.01 por ciento de prevalencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C con un rango de 0.54-1.48 para un intervalo de confianza del 95 por ciento
- 10.2 La metodología del pool de sueros es confiable, obteniéndose un ahorro en el número de pruebas del 72.3 por ciento.
- 10.3 Las pruebas de las dos casas comerciales presentaron una buena correlación, sin embargo la de Abbott presenta una metodología más fácil y un mejor apoyo técnico.

## **11. RECOMENDACIONES:**

- 11.1 Es importante implementar la determinación de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis C en los Bancos de Sangre.
- 11.2 Se deben realizar más estudios de prevalencia, para determinar cuál es la situación a nivel nacional de la enfermedad.
- 11.3 Antes de implementarse la metodología del pool de sueros, deben realizarse estudios sobre si existe una disminución en la sensibilidad de los métodos diagnósticos, de esta manera determinar la concentración mínima detectable de anticuerpo en el pool de sueros.
- 11.4 Se aconseja utilizar metodologías de ELISA de tercera generación que presenten antígenos de la porción core, NS3, NS4 y NS5.

## 12. REFERENCIAS

1. Centers for disease control. Hepatitis C Virus. A comprehensive strategy for elimininating transmission : Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP) MMWR 1991:40 (No .RR-13)
2. Scheing R. Hepatitis C: Who's at risk? Med Asp Hum Sex 1991;(March):22.
3. Margolis HS, Alter MJ, Hadler SC. Hepatitis C: Envolving epidemiology and implications for control. Sem Liv Dis 1991; 11:84-92.
4. Alter MJ, et al. Epidemiology of Hepatitis C. JAMA 1990; 263:1218-1222.
5. Centers for Disease Control. Protection Against Viral Hepatitis C: Recommendation of the immunization Practices Advisory Committee(ACIP). MMWR 1990; (Feb ):39:1-23.
6. Iwarson S, Wejstal R. Mother to infant transmission of hepatitis C virus infection. J Med Virol 1990; 30:178-180.
7. Khalif B, Mohamud C. The risk for hepatitis A,B,C at two institutions , with different socioeconomic conditions. Am J Trop Med Hyg. September 1992; 47:357-364.
8. Hibbs J, Issaragrissli Y. High prevalence of hepatitis C viremia among Aplastic Anemia Patients and controls from Thailand. Am J Trop Med Hyg. May 1992; 46(6):564-570.
9. Tanaja E, Takeshi S, Tajuro Y. Prevalence of Antibody to Hepatitis C Virus in Japanese Schoolchildren: Comparison with adult blood donors. Am J Trop Med Hyg. Apr 1992; 46(4):460-464.
10. Alter MJ, et al. Risk factirs for acute non-A, non -B hepatitis and association with hepatitis C virus infection. JAMA 1990; 264: 2231-2235.
11. Alter HJ, et al. Detection of Antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipientes with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1989; 321:1494-1500.
12. Tremolada F, et al. Antibody to Hepatitis C in post-transfussion hepatitis. Ann Inter Med 1991; 114:277-281.
13. Coleman PJ, et al. Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis C. N Eng J Med 1989; 282: 1201-1205.

14. Giovannini M, et al. Maternal- infant trnsmission of hepatitis C virus and HIV infections: A possible interaction. Lancet 1990; 335:1166.
15. Centers for Disease Control. Public Health Service Inter-Agency Guidelines for Screening Donors of Blood, plasma, Organs, Tissues, and Semen for evidency of Hepatitis B and Hepatitis C. MMWR 1991;(April 19):40:8.
16. Van der Poel CL, et al. Infectivity of blood seropositive for hepatitis C virus antibodies. Lancet 1990; 335:558-560.
17. Knodell RG, Davis Gl, Alert JH. HCV and Liv Dis. 1991;may/jun: 57-58.
18. Choo QL, et al. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non -A, non-B hepatitis genome. Science 1989; 244:359-361.
19. Alter, Hj. An Assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of Human Hepatitis C. Science 1989; 244:362-364.



---

**Ana Florencia Moguel Garcia**

**Estudiante**



---

**Lic. Jorge Rodolfo Perez Folgar**

**Asesor**



---

**Lic. Gerardo Arroyo Catalan**

**Director de Escuela**



---

**Lic. Jorge Rodolfo Perez Folgar**

**Decano**

**PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**Biblioteca Central**