

Tamizaje de infecciones por VIH, hepatitis B y hepatitis C en donantes cadavéricos mediante pruebas de inmunoensayo y pruebas NAAT: Revisión sistemática de la literatura

Dr. Klaus Mieth*, Dr. Óscar Muñoz**, Dr. José Navas***, Dr. Camilo Soto****, Dr. Juan Carlos González*****

* Médico ortopedista, epidemiólogo clínico. Director de investigación, Banco de Huesos y Tejidos, Fundación Cosme y Damián. Departamento de Ortopedia, Fundación Santa Fe, Bogotá, Colombia.

** Médico internista, epidemiólogo clínico. Profesor asistente, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

*** Médico ortopedista. Director general, Banco de Huesos y Tejidos, Fundación Cosme y Damián. Departamento de Ortopedia, Fundación Santa Fe, Bogotá, Colombia.

**** Médico ortopedista. Director operativo, Banco de Huesos y Tejidos, Fundación Cosme y Damián. Departamento de Ortopedia, Fundación Santa Fe, Bogotá, Colombia.

***** Médico ortopedista, epidemiólogo clínico. Investigador, Banco de Huesos y Tejidos, Fundación Cosme y Damián. Departamento de Ortopedia, Fundación Santa Fe, Bogotá, Colombia.

Correspondencia:

Dr. Klaus Mieth

Av. 9 No. 116-20 Cons. 717, Bogotá, Colombia.

Tel. (571) 2139312

klaus@cydbank.org

Fecha de recepción: 16 de mayo de 2012

Fecha de aprobación: 20 de septiembre de 2012

Resumen

Introducción: Las pruebas de inmunoensayo y de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) para realizar tamizaje de infecciones por VIH, hepatitis B y hepatitis C se encuentran validadas para donantes vivos de tejidos; sin embargo, el desempeño de estas pruebas en donantes cadavéricos ha sido cuestionado. El propósito de este estudio es determinar las características operativas de las pruebas de inmunoensayo y pruebas NAAT para el tamizaje de infecciones por VIH, hepatitis B y C en donantes cadavéricos de tejidos.

Materiales y métodos: Se realizó una búsqueda sistemática de la información publicada en bases electrónicas (Medline, EMBASE, Cochrane, LILACS y BIREME) y se hizo una revisión manual de las referencias encontradas. Se seleccionaron estudios de pruebas diagnósticas para VIH, hepatitis B y C que compararan las pruebas de inmunoensayo o pruebas NAAT procesadas en sangre post mórtem con un estándar de referencia. Dos autores utilizaron los criterios de inclusión para seleccionar los estudios, evaluaron la calidad de los mismos con la herramienta QUADAS y extrajeron los datos. Se evaluaron las características operativas de las pruebas.

Resultados: Los estudios fueron en general de baja calidad. Hubo heterogeneidad en las poblaciones y en el tiempo de procesamiento de las muestras, por lo que no fue posible sintetizar la información. Hay baja probabilidad de falsos negativos y el riesgo de falsos positivos parece alto, en especial para las pruebas de inmunoensayo de hepatitis B y C; el problema es mayor cuando las muestras se toman y se procesan después de 24 horas post mórtem.

Discusión: Se necesita más información para poder validar adecuadamente las pruebas utilizadas para el tamizaje de donantes cadavéricos.

Palabras clave: Donante cadavérico, tamizaje, VIH, hepatitis.

Nivel de evidencia: III

[Rev Col Or Tra 2012; 26(4): 211-38]

Abstract

Introduction: Immunoassay and Nucleic Acid Amplification Tests (NAAT) to perform screenings looking forward HIV, Hepatitis B and Hepatitis C infections are well validated in donors. However, its uses in cadaveric donors have been questioned. The purpose of this study is to determine the Immunoassay and NAAT Tests operative characteristics for screening HIV, Hepatitis B and Hepatitis C infections in cadaveric donors.

Methods: Systematic review of literature published in electronic databases (Medline, EMBASE, Cochrane, LILACS and BIREME), with manual review of the obtained references were made. Studies of diagnostic tests for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C which compares Immunoassay and NAAT tests processed in postmortem blood samples with a reference standard were selected. Two authors have used inclusion criteria to select the studies included, evaluating its quality, with QUADAS tool, extracting the data from them. Operative characteristics of the tests were evaluated.

Results: Overall quality evaluation of the studies was poor. There was heterogeneity among populations studied and the processing time of the samples, therefore synthesis of the information was not possible. It seems to be a low probability of false negative results. Risk for false positives seems to be high, especially for immunoassay tests for Hepatitis B and Hepatitis C. Major concerns emerge when blood samples were processed after 24 hours postmortem.

Discussion: More information is needed to adequately validate such tests for screening HIV, Hepatitis B and Hepatitis C infections in cadaveric donors.

Key words: Cadaveric donor, screening test, HIV, Hepatitis.

Evidence level: III

[*Rev Col Or Tra* 2012; 26(4): 211-38]

Introducción

Los tejidos musculoesqueléticos, junto con las transfusiones sanguíneas, son los tejidos humanos más frecuentemente trasplantados. Las medidas para garantizar la seguridad de los receptores de tejidos incluyen la cuidadosa evaluación de todos los potenciales donantes mediante una evaluación sistemática y estandarizada de su historial médico, el tamizaje serológico de las principales infecciones potencialmente transmisibles y el monitoreo microbiológico riguroso de los tejidos previo a ser autorizados para trasplante (1).

El tamizaje microbiológico se hace especialmente importante si se considera el potencial de algunos virus de sobrevivir en condiciones de laboratorio durante muchas horas después de la muerte (2), además del potencial de transmisión reportado asociado a transfusiones o trasplantes (3-6) y los casos documentados de transmisión de infecciones (7-9).

El tamizaje microbiológico obligatorio previo al trasplante de tejidos musculoesqueléticos es regulado por las agencias de cada país y debe ser revisado de acuerdo con la evidencia científica en forma continua. Las pruebas recomendadas por la FDA en los Estados Unidos (10) incluyen los tipos 1 y 2 del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la hepatitis B (VHB), la hepatitis C (VHC), la encefalopatía espongiiforme

transmisible humana (TSE), incluyendo la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), el virus linfocítico humano T (HTLV) y el *treponema pallidum* (sífilis). En Colombia, dada la incidencia local de otros gérmenes potencialmente transmisibles, se incluye adicionalmente el tamizaje para la enfermedad de Chagas, sin realizar tamizaje para TSE.

Donantes vivos

Tamizaje para VIH

El tamizaje de donantes vivos o donantes en muerte encefálica para VIH es relativamente sencillo, y se hace con pruebas de inmunoensayo que, cuando se realizan apropiadamente, tienen excelentes características operativas con sensibilidad y especificidad muy cercanas al 100 % (11). Las únicas infecciones que las pruebas de inmunoensayo no detectan son las infecciones muy tempranas. Dado que posterior a la exposición hay un periodo de 1 a 2 semanas donde el virus solo se replica en la mucosa o en los tejidos linfáticos, durante este periodo no existen marcadores séricos que puedan ser determinados. La viremia finalmente alcanza la circulación 11 días después de la primo-infección y puede en ese momento ser detectada mediante pruebas de RNA (también conocidas como pruebas de amplificación de ácidos nucleicos o NAAT, por su sigla en inglés) o mediante pruebas de DNA o de antigenemia p 24 después de 15 días (figura 1).

El lapso de tiempo durante el cual no se pueden detectar los anticuerpos contra el VIH se conoce como periodo de ventana inmunológica, y puede tener una duración diferente de acuerdo con la generación de la prueba de inmunoensayo que se esté utilizando (figura 1). En la actualidad se utilizan las pruebas de segunda a cuarta generación con periodos de ventana inmunológica que van entre 17 y 42 días; este periodo es menor en las pruebas de última generación (13).

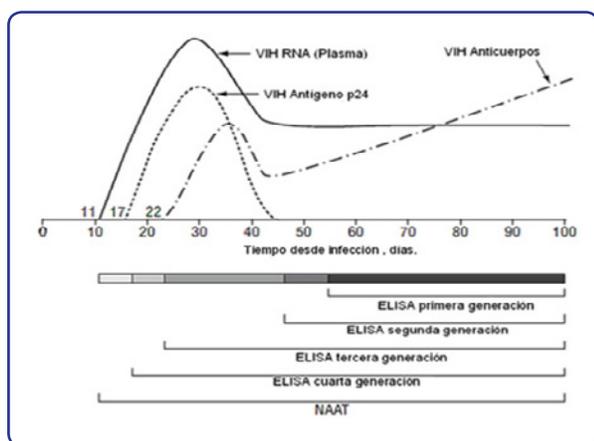


Figura 1. Ventana de detección de diferentes marcadores tempranos de infección por VIH y periodos de ventana de diferentes pruebas de inmunoensayo, comparadas con las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT). Traducido de Fiebig y cols. (12).

En general, las pruebas de inmunoensayo detectan una reacción específica entre una proteína o péptido, en este caso del VIH, con anticuerpos específicos producidos contra el mismo por las personas infectadas. Las pruebas de segunda generación utilizan preparaciones de antígeno recombinantes derivadas de *Escherichia coli*. Este antígeno es entonces detectado por la inmunoglobulina G específica del paciente y puede de esta forma ser detectado. Las pruebas de segunda generación pueden tener falsos positivos derivados de proteínas bacterianas contaminantes de la misma *E. coli*.

Las pruebas de tercera generación, disponibles desde 1990, utilizan a diferencia de las de segunda generación una técnica de “sándwich” con un antígeno conjugado que permite detectar todas las clases de inmunoglobulinas, incluyendo la inmunoglobulina M que aparece más temprano que la inmunoglobulina G, dándole a la prueba un menor tiempo de ventana inmunológica, cercano a los 25 días, lo que mejora la sensibilidad sin afectar la especificidad.

Las pruebas de cuarta generación detectan de forma simultánea tanto los anticuerpos como el antígeno p 24 del VIH y están diseñadas para disminuir aún más el periodo de ventana inmunológica (14), dado que el antígeno p 24 aparece en la sangre a partir del día 17 de la primo-infección. Como se trata de una combinación de pruebas existe un ligero aumento en la probabilidad de falsos positivos, lo que condiciona una pequeña disminución de la especificidad (figura 2).

Generación	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta
Antígeno	Lisado		Recombinante y sintético	
Muestra	Lisado		Recombinante y sintético	
Conjugado	Lisado		Recombinante y sintético	
Señal	Lisado		Recombinante y sintético	
Antígeno	Lisado		Recombinante y sintético	
Especificidad	95–98%	>99%	>99,5%	99,5%
Sensibilidad	99%	>99,5%	>99,5%	>99,8%
Periodo de ventana	8–10 semanas	4–6 semanas	2–3 semanas	2 semanas
Tipo de inmunoglobulina detectada	IgG	IgG	Todas	Todas
Año en que apareció	1985	1987	1991	1997
Plataforma	Pruebas de plato Aglutinación de partículas	Pruebas de plato Plataformas automatizada genéricas Aglutinación de partículas Pruebas rápidas	Pruebas de plato Instrumentos dedicados Pruebas rápidas	Pruebas de plato Instrumentos dedicados Pruebas rápidas

Figura 2. Desarrollo de las pruebas de inmunoensayo para VIH. Generaciones de las pruebas. Modificado de Chappel (11).

Las pruebas de antígeno p 24 solas (sin detección de anticuerpos) ya no se utilizan como pruebas de tamizaje para VIH dado que tienen una sensibilidad menor que las demás pruebas de inmunoensayo descritas y que su ventaja en detectar el antígeno en un periodo más corto de tiempo es superada por las pruebas NAAT que detectan la presencia de infección antes de la aparición del antígeno circulante, alrededor del día 11 de infección.

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) amplifican cantidades mínimas de partículas virales, utilizando *primers* muy específicos (especificidad cercana al 100 %); sin embargo, son dependientes de la calidad del procesamiento de la muestra para lograr una sensibilidad óptima (15). Su uso en tamizaje de infección por VIH en donantes de sangre es ahora muy difundido.

Por último, para el tamizaje de infección por VIH se dispone de pruebas rápidas. Estas pruebas son inmunoensayos en diferentes formatos que tienen como característica la capacidad de dar resultados en menos de 30 minutos y una presentación en forma de dispositivo único que puede ser cargado fácilmente a cualquier entorno para facilitar la toma y procesamiento de las muestras (16). Dadas estas características su uso se ha popularizado en ciertas circunstancias en las que las pruebas de inmunoensayo cuantitativas arriba descritas no están fácilmente disponibles, especialmente en situaciones en donde la velocidad en obtener el resultado es crítica. A pesar de ello, estas pruebas cualitativas pueden ser difíciles de interpretar por personal sin el entrenamiento adecuado y se ha reportado que tienen menor sensibilidad y especificidad (17), por lo que se recomienda que sean confirmadas con las pruebas de inmunoensayo convencionales (15).

Tamizaje para hepatitis B

El tamizaje de donantes vivos o donantes en muerte encefálica para hepatitis B se realiza con pruebas de inmunoensayo (18).

Los antígenos y anticuerpos asociados con la infección con el virus de la hepatitis B incluyen el antígeno de superficie (AgHBs) y el anticuerpo contra este (anti-HBs), el antígeno core (AgHBc) y el anticuerpo contra el mismo (anti-HBc) y el antígeno e (AgHBe) y su anticuerpo (anti-HBe). Para todos ellos existen pruebas serológicas, excepto para el AgHBc, dado que no circula libremente en la sangre (19). Al menos

un marcador serológico está presente durante cada una de las fases de la infección por hepatitis B (figura 3).

El AgHBs es el primer marcador en aparecer, por lo que se utiliza para la identificación de la infección aguda por hepatitis B. Típicamente el AgHBs llegaba a ser detectable entre 6 y 10 semanas después de la exposición. Las pruebas automatizadas de última generación ahora son más sensibles y más específicas, lo que permite acortar el tiempo de ventana inmunológica en aproximadamente 9 días comparado con las pruebas previas. Como ventaja adicional son capaces de detectar cepas mutantes en el antígeno de superficie, aunque con menor sensibilidad. Persiste, sin embargo, un tiempo medio entre la exposición y la detección de aproximadamente 30 días (rango entre 6 y 60 días).

El 70 % de las personas que desarrollan una infección aguda por hepatitis B pasan a una fase de resolución. Durante esta fase, que sucede después de 4 a 6 meses de la primo-infección, los anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti HBs) aumentan mientras disminuyen los niveles de AgHBs. La aparición de los anti HBs implica el desarrollo de inmunidad definitiva en la inmensa mayoría de los afectados (97,6 %). Este anticuerpo es también el que aparece después de la vacunación para la hepatitis B.

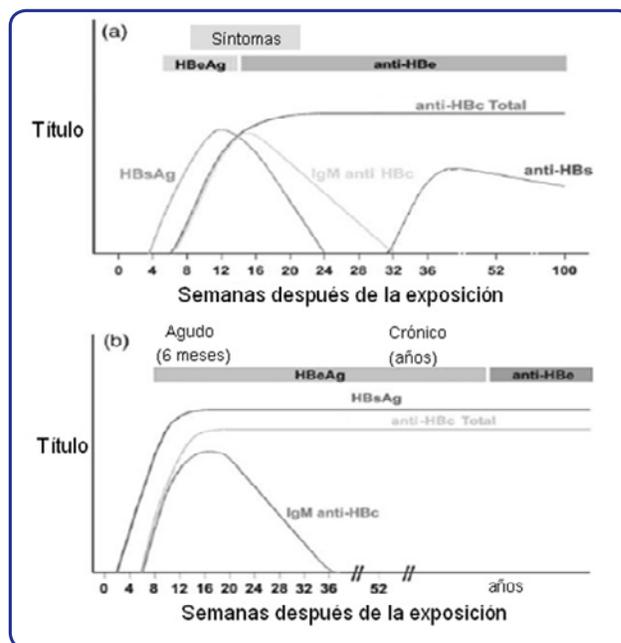


Figura 3. Marcadores serológicos en la infección por VHB. a) Curso serológico típico en la infección aguda por VHB. b) Infección crónica. Modificado del sitio web oficial del CDC (20).

Otro marcador inmunológico de la infección aguda por hepatitis B, que es utilizado durante el periodo de ventana que se presenta luego de la desaparición del AgHBs y antes de que se haga positivo el anti HBs, es el anticuerpo IgM contra el antígeno core, que adicionalmente es detectable durante cortos lapsos de tiempo en la hepatitis crónica. Una vez que este desaparece da paso al anticuerpo IgG contra el antígeno core marcando la resolución de la hepatitis B clínica. Las pruebas actuales detectan al anticuerpo total contra el antígeno core, por lo que se puede inferir que el IgG anti-HBc está presente si el anti-HBc total es detectable y el IgM anti-HBc no lo es.

Por último, el antígeno e (AgHBe) es una proteína sérica que puede ser detectada por pruebas de inmunoensayo durante la fase aguda de la infección por hepatitis B, desde la sexta hasta la décimosegunda semana de la primo-infección, y está asociada a mayor transmisibilidad, infectividad y a replicación viral activa. El momento en el que disminuyen los niveles de AgHBe se asocia a la aparición de anticuerpos contra dicho antígeno (anti-HBe). Si los niveles de antígeno e persisten elevados por más de 4 meses se puede decir que la enfermedad progresó a hepatitis B crónica.

La FDA recomienda realizar el tamizaje para infección por hepatitis B mediante pruebas de inmunoensayo, lo que implica el uso simultáneo de pruebas para detectar el antígeno de superficie (AgHBs) y los anticuerpos totales contra el antígeno core (AntiHBc) (10), dado que estarían presentes tanto en la infección aguda como en la infección crónica por hepatitis B, que son las situaciones clínicas en las que podría ser potencialmente transmisible el virus.

En general no se recomienda realizar solo el tamizaje con antígeno de superficie, dado que una prueba negativa para AgHBs en algunas ocasiones no excluye la infección activa por hepatitis B. Más del 5 % de los donantes de sangre sanos tienen un resultado aislado positivo para anti-HBc. Un resultado positivo aislado para anti-Hbc ha sido asociado a la coinfección con el virus de inmunodeficiencia humana VIH 1 (21). Varios estudios han mostrado que entre el 0,5 % y el 1 % de los pacientes AgHBs negativos/anti-HBc reactivos tienen bajos niveles de DNA de hepatitis B. Otra posible explicación para un resultado aislado positivo para anti-HBc puede ser la presencia de coinfección con hepatitis C o la superinfección con virus de hepatitis B mutantes para el antígeno de superficie, los cuales pueden aparecer durante

la terapia con inhibidores de nucleósido; finalmente, este resultado también puede estar asociado con resultados falsos positivos para pruebas anti-HBs (22).

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos o pruebas NAAT para el diagnóstico de infección por hepatitis B detectan de forma cuantitativa el DNA del VHB mediante diferentes técnicas. Estas incluyen amplificación de señales, amplificación de secuencias de DNA específicas y pruebas de PCR en tiempo real. Esta última técnica es la más aceptada actualmente dado que permite simultáneamente la amplificación y cuantificación del genoma viral, obviando la necesidad de manipulaciones posteriores al PCR. Adicionalmente, se realiza más rápidamente y tiene una alta sensibilidad con capacidad de detectar genoma desde 10 copias por mililitro (23).

Las pruebas de detección de DNA del VHB pueden detectar el virus de hepatitis B en promedio 21 días antes de la aparición del antígeno de superficie contra hepatitis B, con lo que se disminuye el tiempo de ventana inmunológica de forma significativa, incluso en relación con las pruebas de inmunoensayo de última generación. A pesar de esta menor ventana inmunológica, aún no se utilizan en el tamizaje de donantes de sangre ni en el tamizaje de donantes de tejidos porque que el riesgo de transmisión de hepatitis B con las técnicas de inmunoensayo arriba descritas es ya muy bajo y la implementación de estas pruebas de amplificación de DNA tendrían un costo muy alto con un potencial de beneficios mínimo (23).

Tamizaje para hepatitis C

El tamizaje para hepatitis C en donantes vivos y en donantes en muerte encefálica se realiza con la combinación de las pruebas de inmunoensayo y pruebas de detección de ácidos nucleicos, específicamente pruebas para detectar RNA VHC.

De las pruebas de inmunoensayo, la más utilizada es la medición de anticuerpos totales anti VHC. Los anti VHC aparecen en promedio 2 a 8 semanas después de la fase aguda de infección y persisten de por vida en pacientes que desarrollan hepatitis C aguda o crónica (figura 4). Las pruebas de inmunoensayo son muy utilizadas dado que son económicas, fáciles de usar y automatizadas, lo que las hace fácilmente adaptables a altos volúmenes de muestras (24).

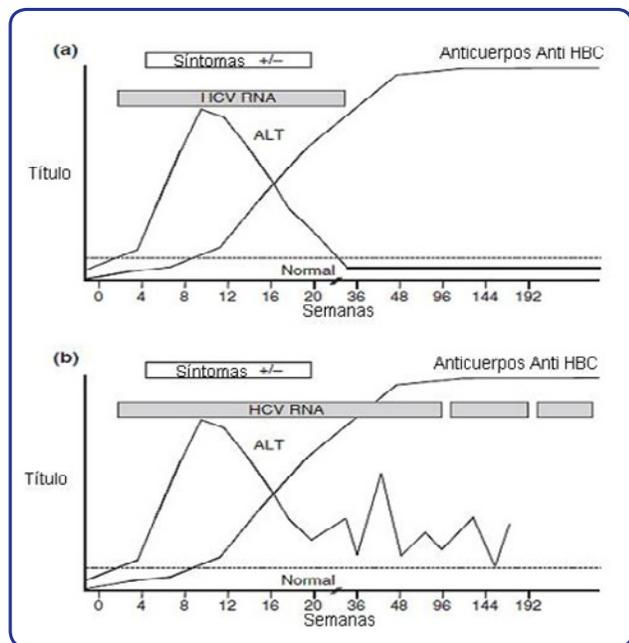


Figura 4. Marcadores serológicos en la infección por VHC. a) Curso serológico típico en la infección aguda por VHC. b) Infección crónica. Modificado de Chevaliez (24).

Una segunda prueba de inmunoensayo disponible es la medición del antígeno core para hepatitis C (AgHCC). Los niveles de AgHCC están significativamente relacionados con los niveles de RNA VHC medidos por técnicas de biología molecular. Se ha propuesto la medición de AgHCC como una alternativa razonable a la medición de RNA VHC, dado que es más fácil de realizar y más económica; sin embargo, la medición de los niveles de AgHCC es menos sensible que las pruebas RNA (25).

Existen pruebas de inmunoensayo que miden simultáneamente los anticuerpos totales para hepatitis C (anti VHC) y el antígeno core (AgHCC); estas pruebas detectan la infección aguda por hepatitis C en promedio 20 días antes que las pruebas para detección de anticuerpos de tercera generación solas, pero se hacen positivas después de las pruebas de RNA VHC. En este contexto las pruebas combinadas de Anti VHC y AgHCC son una alternativa razonable para el tamizaje inicial de donantes en medios donde la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos no esté disponible (26); sin embargo, no reemplaza a las pruebas de ácidos nucleicos RNA.

Así pues, la medición de RNA VHC es necesaria para el tamizaje de infección por hepatitis C. El RNA VHC

puede ser detectado 1 a 3 semanas después de la infección y aproximadamente 4 semanas antes de la aparición de los anti VHC. La presencia de VHC después de 6 meses denota infección crónica por hepatitis C.

Al igual que en las pruebas descritas para hepatitis B, la técnica preferida para detectar RNA VHC es la de PCR en tiempo real, dada su capacidad de detectar el RNA desde concentraciones bajas, del orden de 10 UI/ml a 15 UI/ml. Además, estas pruebas no tienen riesgo de contaminación y por tanto tienen menor riesgo de falsos positivos; por otro lado, pueden ser totalmente automatizadas (24).

En el tamizaje de donantes vivos y en muerte encefálica se usa en la actualidad la combinación de pruebas de inmunoensayo anti VHC totales con pruebas de amplificación de ácidos nucleicos RNA VHC procesadas en grupos de muestras (*pooled samples*). Se ha descrito que aproximadamente 1 de cada 259 000 muestras son RNA VHC positivas pero anti VHC negativas, sugiriendo infección por hepatitis C aguda en fase de ventana inmunológica (23).

Donantes cadavéricos

Prevalencia de infecciones virales en cadáveres

En Colombia la principal fuente de tejidos para trasplante proviene de donantes cadavéricos. La prevalencia de infecciones virales potencialmente transmisibles en cadáveres ha sido reportada en múltiples estudios y está directamente relacionada con las características de la población de la que provienen.

En poblaciones seleccionadas se han reportado bajas prevalencias. Watkins reporta las prevalencias de VIH, hepatitis B y hepatitis C en una población de donantes de cuerpos para investigación y educación médica. En este grupo de bajo riesgo se reportaron prevalencias de 0,25 %, 0,76 % y 1,27 % respectivamente (27). Se trata de una población de pacientes con edad promedio de 70 años, en su mayoría caucásicos, a quienes para ingresar al programa se les solicitaba que no se conociera previamente el diagnóstico de estas infecciones.

La situación es diferente en poblaciones con factores de riesgo. Cattaneo reporta la prevalencia de VIH y hepatitis C en pacientes de 16 a 50 años de acuerdo con la causa de muerte (28). Llama la atención la prevalencia especialmente

alta entre pacientes que fallecieron por sobredosis de drogas endovenosas (76 %) comparada, por ejemplo, con pacientes fallecidos en accidentes de tráfico (13 %).

De forma similar, Tofigi (29) reporta la prevalencia de infecciones por VIH y hepatitis B en adictos a drogas endovenosas y la compara con pacientes sin este factor de riesgo. Reporta una prevalencia de infección por VIH de 6,25 % en usuarios de drogas IV y de 0,5 % en los controles, así como una prevalencia de hepatitis B significativamente mayor en los usuarios de drogas IV, 27,5 % en el grupo de riesgo frente a 3 % en los controles.

Aún en donantes usuarios de drogas ilícitas no endovenosas, como marihuana, también se evidencia una prevalencia de infecciones elevada. Gocke (30) reporta que hasta el 9,68 % de ellos tuvieron seropositividad para alguna infección como VIH, Hepatitis B, Hepatitis C, HTLV o sífilis.

La forma de realizar un tamizaje inicial de factores de riesgo, que disminuya la prevalencia de estas infecciones entre los potenciales donantes, corresponde a la realización de cuestionarios a los familiares, revisión de la historia clínica, el examen cuidadoso al donante y, en muchos casos, el examen de la autopsia en búsqueda de factores de riesgo y de signos de enfermedad para excluir los donantes cuando los riesgos están presentes.

Cattaneo (28) reporta la prevalencia de estas infecciones en asociación con la presencia de factores de riesgo determinada mediante interrogatorio a los familiares. Los factores de riesgo que se pretendían evaluar eran la presencia previa de infección, prostitución o adicción a drogas. Si bien fue evidente una mayor prevalencia de infecciones en pacientes con factores de riesgo conocidos (77 %), llama la atención una prevalencia significativa de casos incluso entre pacientes a los que no se les conocía ningún factor de riesgo (16,2 %). Asimismo, Barnett (31) reporta prevalencias de infecciones virales en donantes de tejidos relativamente bajas –5,6 % por hepatitis B, 1,1 % por hepatitis C y 0,4 % por VIH– cuando se realiza descarte de donantes basado en el interrogatorio exhaustivo y estandarizado a los familiares, previo a la realización de las pruebas.

Estos reportes resaltan la utilidad de realizar los cuestionarios, pero recuerdan que no son suficientes por

sí mismos como métodos de tamizaje. El tamizaje con el cuestionario busca, en resumen, disminuir la probabilidad pretest de las patologías, lo que aumenta el valor predictivo negativo de las pruebas, lo que se asocia a una mayor seguridad del proceso.

Donantes cadavéricos

Garantizar la seguridad microbiológica de los tejidos y minimizar la probabilidad de transmisión de infecciones virales resulta más difícil en los donantes cadavéricos de tejidos que en los donantes vivos dado que con frecuencia no se dispone de una historia clínica completa que contenga datos confiables de factores de riesgo y diagnósticos previos, por lo que, con frecuencia, hay que limitarse a los datos aportados por una tercera persona.

Los donantes cadavéricos pueden ser donantes en muerte encefálica, en los que las muestras para tamizar infecciones virales se toman antes del cese de la circulación, con muestras de sangre de buena calidad, con condiciones similares a las tomadas para tamizaje en transfusiones sanguíneas y con características operativas conocidas. En la mayoría de los casos, las muestras de sangre para las pruebas de tamizaje de los donantes cadavéricos son tomadas después del cese de la circulación. Esto puede asociarse a muestras hemolizadas o autolizadas en las que las características operativas de las pruebas pueden ser diferentes.

Se han propuesto múltiples mecanismos por los que las características operativas de las pruebas de tamizaje pueden resultar alteradas cuando se utilizan en sangre tomada post mórtem (32):

- Dilución del suero del espacio vascular posterior a la muerte que afecta los umbrales de detección de las pruebas.
- Inhibición de las interacciones antígeno anticuerpo, mediada por la hemoglobina libre producida durante la hemólisis post mórtem. Esta inhibición reduce la sensibilidad de la prueba y puede potencialmente producir falsos negativos. El proceso parece estar afectado por los niveles de hemoglobina libre.
- La proteólisis genera productos de degradación capaces de interferir potencialmente en las reacciones antígeno anticuerpo, lo que se puede asociar a falsos positivos en las pruebas.

Tabla 1. Pruebas de inmunoensayo validadas por la FDA para donantes cadavéricos. Tomado del sitio web oficial de la FDA (10).

Nombre comercial	Formato	Especímenes recolectados	Donantes	Productor	Fecha de aprobación
Genetic Systems HIV-1/HIV-2 Plus O EIA	EIA	Vivos: Suero, Plasma Cadavéricos: Suero	Vivos y cadavéricos	Bio-Rad	8/5/2003
ABBOT PRISM HIV O Plus	ChLia	Vivos: Suero, Plasma Cadavéricos: Suero	Vivos y cadavéricos	Abbott	9/18/2009
HIVAB HIV-1/HIV-2 (rDNA) EIA	EIA	Vivos: Suero, Plasma Cadavéricos: Suero	Vivos y cadavéricos	Abbott	7/22/2004

Tabla 2. Pruebas NAAT validadas por la FDA para donantes cadavéricos. Tomado del sitio web oficial de la FDA (10).

Nombre comercial	Formato	Especímenes recolectados	Donantes	Productor	Fecha de aprobación
COBAS AmpliScreen HIV- 1 Test, versión 1.5	PCR	Vivos: Plasma Cadavéricos: Suero, EDTA, Plasma	Vivos y cadavéricos	Roche	5/23/2007
Procleix HIV - 1/ HCV	TMA	Vivos: Plasma Cadavéricos: Suero, EDTA, Plasma	Vivos y cadavéricos	Gen-Probe, Inc.	6/4/2004
Procleix Ultrio	TMA	Vivos: Plasma Cadavéricos: Suero, EDTA, Plasma	Vivos y cadavéricos	Gen-Probe, Inc.	10/3/2006
COBAS TaqScreen MPX Test	PCR	Vivos: Plasma Cadavéricos: Suero, EDTA, Plasma	Vivos y cadavéricos	Roche	12/30/2008

Hay múltiples publicaciones que sugieren que específicamente las pruebas para VIH, hepatitis B y hepatitis C utilizadas como tamizaje en donantes cadavéricos de tejidos pueden resultar alteradas, en especial si ha transcurrido un tiempo largo desde la muerte hasta la recolección del suero, o cuando este se ha hemolizado antes del procesamiento de la muestra.

Una encuesta realizada en el Reino Unido en 1998 a 16 bancos de tejidos, con información de 1831 donantes (33), evidenció falta de estandarización en la práctica de los bancos en lo referente a las técnicas de tamizaje de infecciones virales. Todos ellos aplicaron pruebas serológicas diferentes, y tenían tiempos de toma y procesamiento de las muestras diversos. Si bien la metodología del estudio no es la ideal para sacar conclusiones, los resultados sugirieron que los bancos con mayores tasas de reactividad, y por tanto con mayores proporciones de descarte de tejidos, fueron aquellos que toleraban mayores tiempos entre la muerte, la toma de las muestras y el procesamiento de las mismas (mayor de 48 horas).

En el 2006 Challine (34) publicó un estudio transversal descriptivo que evaluó la asociación entre el tiempo desde la muerte hasta la toma de la muestra, el aspecto macroscópico del suero y la frecuencia de resultados positivos para las serologías de VIH 1 y 2, antigenemia p 24, antígeno HBs, anticuerpos anti-HBc y anti-HBs en donantes de córnea. El estudio encontró asociación significativa entre el aspecto macroscópico del suero (hemolizado) y la probabilidad de obtener resultados positivos o equívocos de los inmunoensayos; este hecho aumentó la proporción de descarte de tejidos de 12,1 % en los sueros de aspecto normal a 33,2 % en los sueros hemolizados ($p < 0,05$). De igual forma se encontró que a mayor tiempo desde la muerte hasta el procesamiento de la muestra era mayor la probabilidad de que el suero se encontrara hemolizado. Hallazgos similares fueron reportados por Bensoussan en el 2010 (35); el autor anota que la probabilidad de descarte era del 17,1 % si el tiempo entre la muerte y el procesamiento de la muestra se encontraba por encima de 8 horas y de solo 4,3 % cuando este era menor.

Estos resultados sugieren claramente que las muestras post mórtem con lapsos de tiempo largos entre la muerte y el procesamiento, y especialmente si se encuentran hemolizadas, tienen una mayor probabilidad de presentar

falsos positivos. La metodología de los estudios no nos permite, sin embargo, evaluar el efecto sobre los falsos negativos, cuyo impacto en la bioseguridad es definitivo.

Chaline publicó un nuevo estudio en el 2008 (36), en el que compara pacientes seropositivos para AgHBs, anti HBs o anti HBc con los resultados de las pruebas NAAT realizadas por técnica de RT-PCR para el DNA del virus de hepatitis B. El estudio confirmó una alta tasa de falsos positivos (77,5 %) de los donantes de córneas con serologías positivas para AgHBs. Este hecho fue explicado por la hemólisis significativa que presentaban las muestras. Tener gran cantidad de falsos positivos implica valores predictivos positivos bajos (12,5 %), lo que genera descarte innecesario de donantes. Resulta prioritario validar las pruebas de tamizaje en sangre post mórtem.

El método ideal para ello sería comparar en forma directa los resultados de las pruebas tomadas pre y post mórtem, haciendo énfasis en que la prueba pre mórtem debería ser tomada inmediatamente antes de la muerte para garantizar que no existan falsos negativos asociados al periodo de ventana inmunológica.

Lograr la realización de estos estudios, sin embargo, ha sido muy difícil dada la limitación de encontrar muestras pre y post mórtem pareadas para realizar los análisis, por múltiples razones.

Para esta situación, la FDA ha hecho recomendaciones específicas, incluyendo la validación de las pruebas mediante el picado de muestras tomadas de pacientes pre y post mórtem, con marcadores de infección (37). Las tablas 1 y 2 muestran respectivamente las pruebas de inmunoensayo y las pruebas NAAT que han sido validadas por la FDA utilizando esta metodología.

Esta metodología de “picado” de muestras pre y post mórtem, o metodologías equivalentes de dilución de sueros positivos en sangre tomada pre y post mórtem de pacientes sanos, ha sido utilizada en estudios publicados recientemente (38) sugiriendo que el comportamiento de las pruebas en donantes cadavéricos es equivalente al obtenido en muestras tomadas pre mórtem. Sin embargo, la validez de esta metodología es discutible, considerando que evalúa el potencial efecto de inhibidores de las reacciones antígeno anticuerpo (entre ellos la hemoglobina libre condicionada por

la hemólisis), pero no evalúa el efecto de la desnaturalización de las proteínas y su potencial para producir falsos positivos de las pruebas.

Más preocupante resulta el panorama si se considera que la inmensa mayoría de los tamizajes en pruebas post mórtem se realiza con pruebas diagnósticas que no están validadas ni siquiera con esta metodología.

Por lo anterior, se decidió realizar una revisión sistemática de la literatura con el objetivo de conocer las características operativas de las pruebas para tamizaje de VIH y hepatitis B y C. Se presenta en forma independiente la metodología y los resultados de la búsqueda de las pruebas para VIH por un lado y para hepatitis B y C por el otro.

Búsqueda sistemática para VIH

Metodología

Se revisó sistemáticamente PubMed, Embase, LILACS, BIREME y las bases de datos de la colaboración Cochrane actualizadas hasta agosto de 2011. Para la búsqueda en PubMed, los términos de búsqueda utilizados fueron: *(cadaveric or postmortem or autopsy) and (immunoassay or PCR) and VIH*. Los términos de búsqueda para EMBASE y Cochrane fueron: *“VIH, cadaveric and donors”* y *“Cadaveric or postmortem or autopsy”* respectivamente. Se revisó además la bibliografía de los artículos relevantes manualmente en busca de artículos adicionales. Se restringieron las búsquedas a artículos publicados en inglés, español, alemán y portugués.

Dos autores de forma independiente seleccionaron los estudios de acuerdo con criterios de selección preespecificados. Los estudios fueron considerados como elegibles para incluirlos en la revisión si presentaban datos sobre pruebas diagnósticas de inmunoensayo o PCR, para VIH, hepatitis B y hepatitis C. Específicamente debían ser procesadas en sangre recolectada post mórtem en las primeras 72 horas después del fallecimiento. Se excluyeron aquellos estudios en los que no se comparó la prueba con un estándar de referencia.

Dos autores extrajeron los datos de forma independiente y estandarizada resolviendo las diferencias por consenso. Los datos extraídos de cada uno de los estudios incluyeron el diseño del estudio, el número de pacientes incluidos y las características de los mismos, el tipo de prueba y referencia de la casa farmacéutica, el tiempo entre la muerte y la

recolección de las muestras, el tiempo hasta el procesamiento de las mismas y el grado de hemólisis determinada por observación si la información estaba disponible. Asimismo se registró el estándar de referencia contra el cual se compararon las pruebas.

Los datos específicos referentes a la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos se calcularon a partir de la información contenida en las tablas. La evaluación de la calidad de los estudios se realizó utilizando la herramienta QUADAS recomendada por la colaboración Cochrane (39).

Se planeó realizar un metanálisis de las características operativas de las pruebas diagnósticas usando un modelo de metanálisis bivariado para calcular la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos promedio, así como el OR (*odds ratio*) diagnóstico (40). Igualmente, se decidió a priori construir la curva jerárquica de resumen de características operativas del receptor (curva ROC) (41) graficando sensibilidad vs. especificidad, así como calcular el área bajo la curva (AUC) realizando este procedimiento solo si se encontraban suficientes datos sin una heterogeneidad clínica significativa. Se evaluó la presencia de heterogeneidad estadística utilizando el test I^2 (42). Se determinaron a priori valores de I^2 de 25 %, 50 % y 75 % como indicadores de heterogeneidad estadística baja, moderada y alta, respectivamente.

Resultados

La figura 5 muestra el flujograma que representa el proceso de selección de estudios.

Específicamente la búsqueda en PubMed generó 208 artículos potencialmente relevantes, de los cuales 24 fueron seleccionados para evaluación después de la revisión de sus títulos y resúmenes (27-29, 32, 33, 35, 38, 43-65). Las búsquedas realizadas en Cochrane y LILACS no identificaron estudios adicionales elegibles para inclusión, a diferencia de EMBASE donde se detectaron 4 artículos adicionales (33-35, 65). La búsqueda manual de las bibliografías de los artículos relevantes permitió detectar 3 estudios más (29, 32, 38). En general, 31 artículos fueron elegibles para inclusión en la revisión. De ellos, 25 estudios fueron finalmente excluidos de la revisión por diferentes causas (tabla 3): 17 fueron excluidos por presentar la prevalencia de la infección sin comparar los resultados de

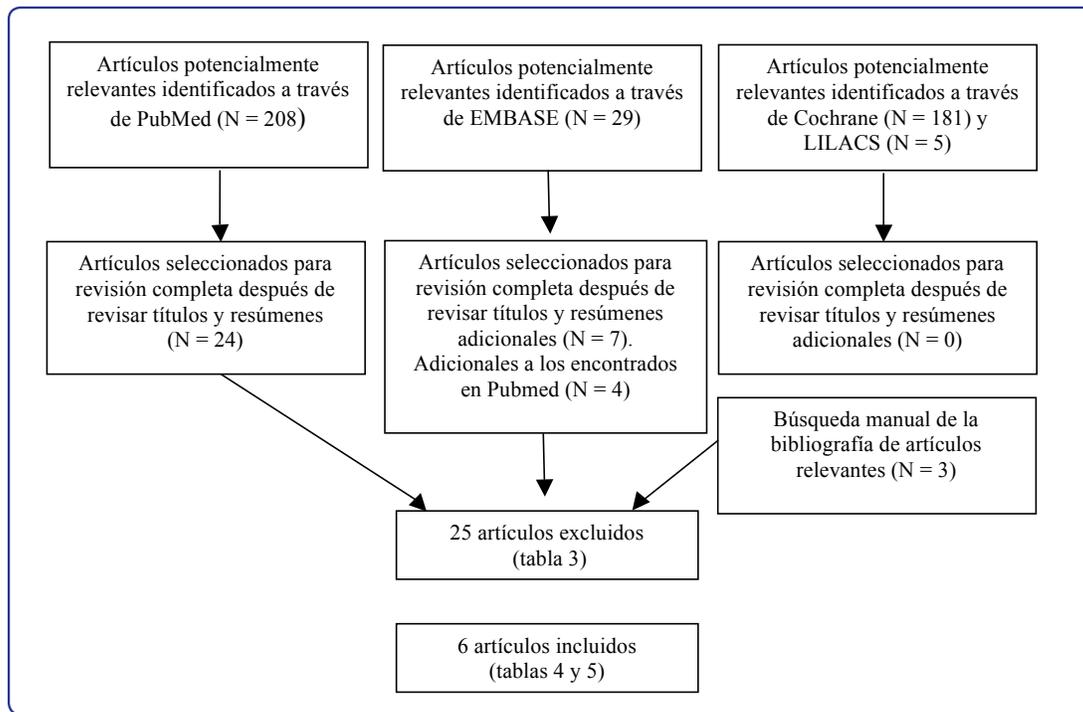


Figura 5. Flujograma del proceso de selección de estudios en la revisión.

las pruebas con un estándar de referencia (27-29, 32-35, 38, 44-47, 49, 62, 63, 65); 2, porque las muestras se tomaron después de 72 horas del fallecimiento (43, 55); 2, porque no presentaron datos del tiempo entre la muerte y la toma de las muestras (59-60); 2 artículos presentaban datos sobre la misma población (57, 64), por lo que se decidió incluir en la revisión solo los datos de la publicación más reciente y con un reporte más completo (57); finalmente, 2 artículos presentaban datos incompletos, por lo que no fue posible calcular las características operativas de las pruebas (51, 54).

Las tablas 4 y 5 presentan las características principales de los 6 estudios finalmente incluidos en la revisión. Cuatro estudios evaluaron exclusivamente pruebas de inmunoensayo (48, 56, 57, 61), uno evaluó la técnica de PCR con 2 diferentes métodos de extracción (53) y un estudio evaluó simultáneamente las pruebas de ELISA y PCR (50). En general, se encontró una gran heterogeneidad clínica entre los diferentes estudios incluidos. La mayoría de los artículos reportaron estudios de casos y controles, incluyendo poblaciones con cadáveres provenientes de diferentes fuentes y por tanto con diferentes niveles de

riesgo. Esta característica hace que la prevalencia de los procesos infecciosos no sea confiable, lo que afecta el cálculo de las características operativas de las pruebas, en especial de los valores predictivos positivos y negativos. Solo 3 estudios utilizaron como estándar de referencia el diagnóstico pre mórtem de VIH (48, 50, 61) y solo en uno de ellos es claro el método que se utilizó para confirmar ese diagnóstico (48). En los demás, se asumió como estándar de referencia otras pruebas procesadas en el mismo suero post mórtem. El utilizar un estándar de referencia no validado en sangre post mórtem hace menos confiables los resultados de la revisión. Si bien se aceptó como criterio de inclusión tiempos entre la muerte y la toma de muestras de máximo 72 horas, la mayoría de los estudios procesaron las muestras en las primeras 48 horas, lo que hace los resultados del estudio más aplicables a los donantes de tejidos. Se evidenció gran heterogeneidad en proporción de muestras hemolizadas entre los estudios que la reportaron, con valores entre el 3 % y más del 50 %. Esta es una fuente de heterogeneidad clínica a la hora de interpretar los resultados. Solo un estudio reportó la asociación de la misma con los resultados (57).

Tabla 3. Causales de exclusión de estudios en la revisión de VIH.

Artículo	Causa de exclusión
Bensoussan y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Yao y cols. (2008)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Challine y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Pianigiani y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Stanworth y cols. (2000)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Watkins y cols. (1998)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Eriksen y cols. (2009)	Muestras tomadas más de 72 horas post mórtem.
Cattaneo y cols. (1999)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Burtonboy y cols. (1996)	Datos insuficientes para calcular las características operativas de las pruebas.
Novick y cols. (1996)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Zehner y cols. (1995)	Datos insuficientes para calcular las características operativas de las pruebas.
Karhunen y cols. (1994)	Muestras tomadas más de 72 horas post mórtem.
Baleriola y cols. (2011)	No hay comparación con un estándar de referencia en todos los pacientes.
Kitchen y cols. (2011)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Tofigi y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Kato y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Webber y cols. (2000)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Penning y cols. (1989)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Tappero y cols. (1988)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Schor y cols. (1997)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Little y cols. (1990)	No presenta tiempo entre muerte y procesamiento de las muestras.
Kringsholm y cols. (1989)	No presenta tiempo entre muerte y procesamiento de las muestras.
Pepose y cols. (1987)	Presenta los mismos pacientes reportados por el autor en su artículo de 1993.
Schleicher y cols. (2005)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Koops y cols. (1992)	No hay comparación con un estándar de referencia.

Tabla 4. Características de los estudios incluidos que evaluaron las pruebas de inmunoensayo.

Artículo	Diseño del estudio	Características de la población	Prueba evaluada	Prueba de referencia	Tiempo muerte- toma de la muestra	Tiempo muestra- procesamiento	Evaluación de hemólisis	Número de pacientes
Heim y cols. (1999) (48)	Serie de casos	Edad entre 39 y 79 años Perfil de riesgo desconocido	ICE HIV-1.0.2 Detection: (Murex Diagnostika)	ICE HIV-1.0.2 Detection: (Murex Diagnostika) Procesada en sangre tomada pre mórtem	< 60 horas	No reportada	1 muestra (3%) reportada como hemolizada	33
Gala y cols. (1997) (50)	Casos y controles prospectivo	- 12 pacientes con dx de SIDA - 5 pacientes VIH negativos Perfil de riesgo desconocido	ELISA - Wellcozyme HIV1+2 (Murex, Wellcome, UK). - Serodia HIV1/2 (Lameris, Fujirebio, Japan)	Dx pre mórtem de VIH (no mencionan método de confirmación)	- < 48 horas	< 48 horas	No reportado	17
Li y cols. (1993) (56)	Cohorte prospectiva	Población de predominio masculino (76 %), raza blanca (53 %). 10 % de las muertes asociadas a sobredosis de drogas	SUDS HIV-1 test (Murex Corporation, Norcross, GA)	ELISA más WB (en muestras con Elisa repetidamente positivo) ELISA (HIV-AB HIV-1/HIV-2, rDNA, Abbott Laboratories, Chicago, IL) Western blot (BioRad, Hercules, CA.)	8 a 30 horas	No reportada	10 % de las muestras hemolizadas	414
Pepose y cols. (1992) (57)	Casos y controles prospectivo	- 35 pacientes con dx de SIDA por autopsia - 118 con factores de riesgo (homosexualidad, prostitución, drogas IV, ETS, presos, transfusiones entre 1978 v 1985) - 258 sin factores de riesgo	ELISA HIV1 (3 diferentes pruebas) 1. Abbott laboratories (North Chicago IL) 2. Electronucleonics (Columbia MD) 3. Organon Technika (Charleston, SC)	Diferente para cada subgrupo de pacientes: Diagnóstico pre mórtem de VIH y autopsia para los VIH positivos WB (Biotech-Dupont, Rocville MD) para el grupo de alto riesgo y los controles	24 a 36 horas en promedio	8 a 36 horas	-204 hemólisis mínima -111 hemólisis moderada a severa - 96 no reportado	411
Klatt y cols. (1989) (61)	Casos y controles prospectivo	- 23 pacientes con dx de SIDA - 5 pacientes VIH negativos Perfil de riesgo desconocido	ELISA HIV1 Abbott laboratories (North Chicago IL)	Autopsia más resultado de inmunoensayos tomados pre mórtem (no se especifica cuáles)	5 a 72 horas*	24 a 1200 horas	No reportado	28 *

Nota. Dx: Diagnóstico.

* Se incluyeron para el análisis solo los pacientes con autopsia realizada hasta máximo 72 horas post mórtem.

Tabla 5. Características principales de los estudios incluidos que evaluaron la prueba de PCR.

Artículo	Diseño del estudio	Características de la población	Prueba evaluada	Prueba de referencia	Tiempo muerte-toma de la muestra	Tiempo muestra-procesamiento	Evaluación de hemólisis	Número de pacientes
Gala y cols. (1997) (50)	Casos y controles prospectivo	- 12 pacientes con dx de SIDA - 5 pacientes VIH negativos Perfil de riesgo desconocido	PCR PCR anidado (Nested PCR) Primers específicos gag y pol.	Dx pre mórtem de VIH (no mencionan método de confirmación)	Menos de 48 horas	Menos de 48 horas	No reportado	17
Essary y cols. (1996) (53)	Casos y controles prospectivo	- 21 pacientes con SIDA - 47 con factores de riesgo (homosexualidad, prostitución, ETS, presos, drogas IV, transfusiones entre 1978 y 1985) - 350 sin factores de riesgo	Amplicor PCR HIV 1 kit DNA (Roche Diagnostic Systems) 2 diferentes métodos de extracción proteinase K y Chelex	ELISA más WB (en pacientes con Elisa repetidamente positivo) ELISA: Recombigen VIH 1 kit (Cambridge Biotek) Western blot: Novopath VIH 1 kit (Biorad)	3 a 42 horas	6 a 51 días	Se excluyeron muestras con hemólisis moderada a severa	418

Nota. Dx: Diagnóstico

* Se incluyen los pacientes a quienes se les realizó PCR en sangre.

En la figura 6 se resumen los resultados de la evaluación de la calidad metodológica de los 6 estudios incluidos en la revisión. Dadas las características de la población en estudio, no existen pérdidas al seguimiento, por lo que no se incluyó ese tópico en la evaluación. En general, se evidenció muy baja calidad metodológica de los estudios incluidos. Los tópicos en donde se encontraron mayores problemas fueron el espectro de enfermedad no representativo, considerando poblaciones de alto riesgo que no son elegibles como donantes de tejidos;

una prueba de referencia inadecuada, dado que se utilizaron en una proporción significativa de estudios pruebas de referencia no validadas en sangre cadavérica, y la falta de reporte del cegamiento de los resultados de las pruebas en estudio o de referencia a la hora de interpretar la prueba complementaria. Adicionalmente, se encontraron 2 estudios en los que no se realizó la prueba de referencia en todos los casos (verificación parcial) o en los que la prueba de referencia era diferente según el nivel de riesgo (verificación diferencial) (56, 57).

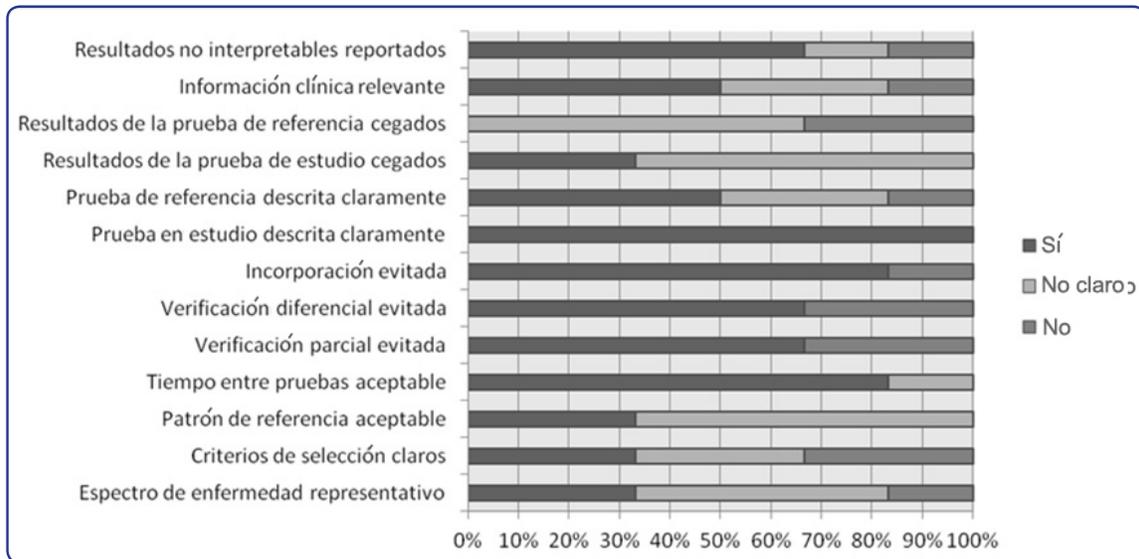


Figura 6. Gráfico de resumen de los hallazgos de la evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos en la revisión.

Tabla 6. Características operativas de las pruebas de inmunoensayo para VIH en sangre cadavérica.

Artículo	Número de pacientes	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Prevalencia
Heim y cols. (1999) (48)	33	NE	93,9 %	NE	NE	NE	2	NE	31	0 %
Gala y cols. (1997) (50)	17	100 %	100 %	100 %	100 %	12	0	0	5	70 %
Li y cols.* (1993) (56)	414	100 %	100 %	100 %	100 %	23	0	0	389	5,6 %
Pepose y cols. † (Grupo 1) (1992) (57)	35	94,3 %‡	NE	NE	NE	33‡	NE	2‡	NE	100 %
		94,3 %¶	NE	NE	NE	33¶	NE	2¶	NE	100 %
		97,1 %**	NE	NE	NE	34**	NE	1**	NE	100 %
Pepose y cols. † (Grupo 2) (1992) (57)	376	NE	NE	NE	NE	NE	0‡	3	NE	NE
		NE	NE	NE	NE	NE	3¶	3	NE	NE
		NE	NE	NE	NE	NE	1**	2	NE	NE
Klatt y cols. (1989) (61)	28	100 %	100 %	100 %	100 %	23	0	0	5	82,1 %

Nota. NE: No evaluable; VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo; VP: Verdaderos positivos; VN: Verdaderos negativos.

* Se calculan características operativas basados en la primera muestra tomada en sangre y procesada durante las 48 horas siguientes a la muerte.

† El estudio de Pepose reportó las características operativas de las pruebas comparándolas con diferentes patrones de referencia en los cadáveres de pacientes con diagnóstico previo de SIDA (grupo 1) y en los cadáveres de pacientes con factores de riesgo o controles (grupo 2). Se reportaron los valores para cada una de las pruebas de inmunoensayo realizadas: ‡ Abbott; ¶ Organon Teknika; ** Electronucleonics.

Características operativas de las pruebas de inmunoensayo para VIH en sangre cadavérica

Cinco estudios evaluaron las características operativas de las pruebas de inmunoensayo para VIH en sangre cadavérica (48, 50, 56, 57, 61) (tabla 6). Considerando la gran heterogeneidad clínica entre los estudios se decidió no realizar metanálisis de los datos.

El estudio de Pepose (57) evaluó de diferente forma los cadáveres de pacientes con diagnóstico de SIDA (grupo 1) de los cadáveres de pacientes con factores de riesgo o controles (grupo 2). Para el grupo 1 el patrón de referencia fue el diagnóstico de VIH previo a la muerte asociado a los resultados de autopsia, mientras que para el grupo 2 el patrón de referencia fue el resultado de Western blot en sangre tomada post mórtem.

En general se observan valores de sensibilidad y valores predictivos negativos del 100 %. Solo el estudio de Pepose (57) reportó una sensibilidad menor en pacientes con diagnóstico pre mórtem de VIH (grupo 1), dados por dos falsos negativos de las pruebas.

Se evaluó la especificidad de las pruebas en 4 estudios (48, 50, 58, 61), siendo en 3 de ellos del 100 %. Heim (48) reportó una especificidad menor asociada a 2 falsos positivos, uno de ellos asociado a una importante hemólisis de la muestra, según lo reporta el autor. Pepose (57) también reportó 3 falsos positivos de las pruebas entre pacientes con factores de riesgo o controles (grupo 2); sin embargo, no fue posible calcular la especificidad y el VPP para este subgrupo, dada la insuficiente calidad en el reporte de los datos.

El estudio de Pepose reportó las características operativas de las pruebas comparándolas con diferentes patrones de referencia en los cadáveres de pacientes con diagnóstico previo de SIDA (grupo 1) y en los cadáveres de pacientes con factores de riesgo o controles (grupo 2). Se reportan los valores para cada una de las pruebas de inmunoensayo realizadas: Abbott, Organon Teknika y Electronucleonics.

Características operativas de las pruebas NAAT para VIH en sangre cadavérica

Dos estudios evaluaron las características operativas de las pruebas NAAT para VIH en sangre cadavérica (50, 53) (tabla 7); ninguno de ellos utilizó la prueba de PCR en tiempo real.

La especificidad y el valor predictivo positivo fueron del 100 % en ambos estudios. Por el contrario, la sensibilidad y el valor predictivo negativo fueron menores, especialmente en el estudio de Gala (50) con valores de 58 % y 50 % respectivamente. Dada la importante heterogeneidad estadística se decidió no realizar metanálisis de los datos.

Búsqueda sistemática para hepatitis B y C

Metodología

Se revisó sistemáticamente PubMed, Embase, LILACS, BIREME y las bases de datos de la colaboración Cochrane actualizadas hasta agosto de 2011. Para la búsqueda en PubMed los términos de búsqueda utilizados fueron: (*cadaveric or postmortem or autopsy*) and (*immunoassay or PCR*) and (*Hepatitis B or Hepatitis C*). Los términos de búsqueda para EMBASE y Cochrane fueron: "*Hepatitis B or hepatitis C, cadaveric and donors*" y "*Cadaveric or postmortem or autopsy*" respectivamente. Se revisó además la bibliografía de los artículos relevantes manualmente en busca de artículos adicionales. Se restringieron las búsquedas a artículos publicados en inglés, español, alemán y portugués.

Dos autores de forma independiente seleccionaron los estudios de acuerdo con criterios preespecificados. Los estudios fueron considerados como elegibles para incluirlos en la revisión si presentaban datos sobre pruebas diagnósticas de inmunoensayo o PCR para hepatitis B y hepatitis C. Específicamente, las pruebas debían ser procesadas en sangre recolectada post mórtem. Se excluyeron aquellos estudios en los que no se comparó la prueba con un estándar de referencia aplicado a los pacientes.

Dos autores extrajeron los datos de forma independiente y estandarizada resolviendo las diferencias por consenso. Los datos extraídos de cada uno de los estudios incluyeron el diseño del estudio, el número de pacientes incluidos y las características de los mismos, el tipo de prueba y la referencia de la casa farmacéutica, el tiempo entre la muerte y la recolección de las muestras, el tiempo hasta el procesamiento de las mismas y la información acerca del grado de hemólisis determinada por observación, si estaba disponible. Asimismo, se registró el estándar de referencia contra el cual compararon las pruebas.

Los datos específicos referentes a la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos se calcularon directamente de la información contenida en las tablas. La evaluación de la calidad de los estudios se realizó utilizando la herramienta QUADAS recomendada por la colaboración Cochrane (39).

Se planeó realizar un metanálisis de las características operativas de las pruebas diagnósticas usando un modelo de metanálisis bivariado para calcular la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos promedio, así como el OR (*odds ratio*) diagnóstico (40). Asimismo, se decidió a priori construir la curva jerárquica de resumen de características operativas del receptor (curva ROC) (41) graficando sensibilidad vs. especificidad, así como calcular el área bajo la curva (AUC) realizando este procedimiento solo si se encontraban suficientes datos sin una heterogeneidad clínica significativa. Se evaluó la presencia de heterogeneidad estadística utilizando el test I^2 (42).

Se determinó a priori valores de I^2 de 25 %, 50 % y 75 % como indicadores de heterogeneidad estadística baja, moderada y alta, respectivamente.

Resultados

La figura 7 muestra el flujograma del proceso de selección de estudios en la revisión para hepatitis B.

Tabla 7. Características operativas de las pruebas de PCR para VIH en sangre cadavérica.

Artículo	Número de pacientes	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Prevalencia
Gala y cols.*	17	58,3 %	100 %	100 %	50 %	7	0	5	5	70 %
Essary y cols. (1996) (53)	418	90 %†	100 %†	100 %†	99,2 %†	27	0	3	388	7,1 %
		97 %‡	100 %‡	100 %‡	99,7 %‡	29	0	1	388	

Nota. VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo; VP: Verdaderos positivos; VN: Verdaderos negativos.

* Se calculan características operativas basados en la primera muestra tomada en sangre y procesada durante las 48 horas siguientes a la muerte. Essary reportó las características operativas para 2 diferentes métodos de extracción de DNA: † Proteinase K, ‡ Chelex

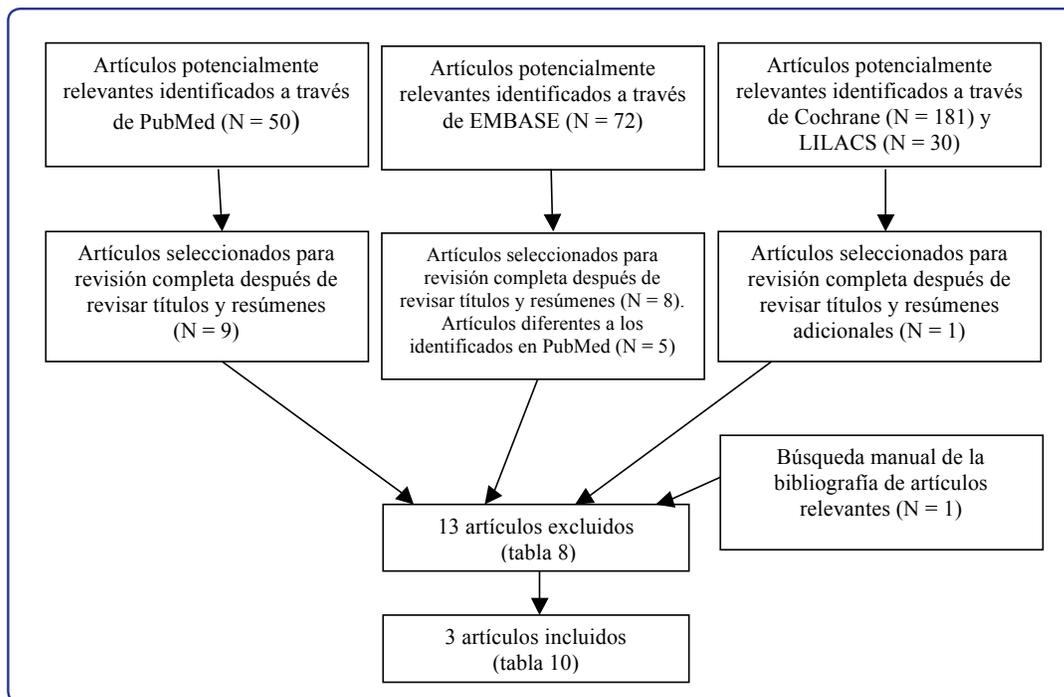


Figura 7. Flujograma del proceso de selección de estudios en la revisión para hepatitis B.

Tabla 8. Causales de exclusión de estudios en la revisión sistemática de hepatitis B.

Artículo	Causa de exclusión
Bensoussan y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Eriksen y cols. (2009)	Solo se realizó el estándar de referencia a una proporción mínima de casos.
Challine y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Pianigiani y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Stanworth y cols. (2000)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Watkins y cols. (1998)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Kato y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Novick y cols. (1996)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Tappero y cols. (1988)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Gocke y cols. (2005)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Barnett y cols. (2001)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Arroyo y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Schleicher y cols. (2005)	No hay comparación con un estándar de referencia.

Específicamente la búsqueda para hepatitis B en PubMed actualizada a septiembre de 2011 generó 50 artículos potencialmente relevantes, de los cuales 9 fueron seleccionados para evaluación después de la revisión de sus títulos y resúmenes (27, 43-48, 52, 57, 63). La búsqueda realizada en EMBASE permitió detectar 5 artículos adicionales (30, 31, 33-35) y un artículo adicional a través de la búsqueda en LILACS (66), a diferencia de Cochrane donde no se identificaron estudios adicionales elegibles. La búsqueda manual de las bibliografías de los artículos relevantes permitió detectar un estudio más (36).

Dieciséis artículos fueron elegibles para inclusión en la revisión. De ellos, 13 estudios fueron finalmente excluidos: 12 por presentar datos de las pruebas sin comparación con

un estándar de referencia (27, 30, 31, 33-35, 44-46, 52, 63, 66) y uno (43) porque solo realizó la prueba de referencia a una mínima proporción de pacientes con la prueba en estudio positiva (tabla 8).

En la búsqueda para hepatitis C (figura 8) se encontraron en PubMed 52 artículos potencialmente relevantes, de los cuales 12 fueron seleccionados para evaluación después de revisar los títulos y resúmenes (27, 28, 43-45, 48, 67-69, 71, 72). La búsqueda en EMBASE permitió identificar 6 artículos adicionales (30, 31, 33-35, 46) y la realizada en LILACS, uno (66). No se identificaron artículos relevantes adicionales en las búsquedas manuales de la literatura. Finalmente, se eligieron 19 artículos para incluir en la revisión para hepatitis C.

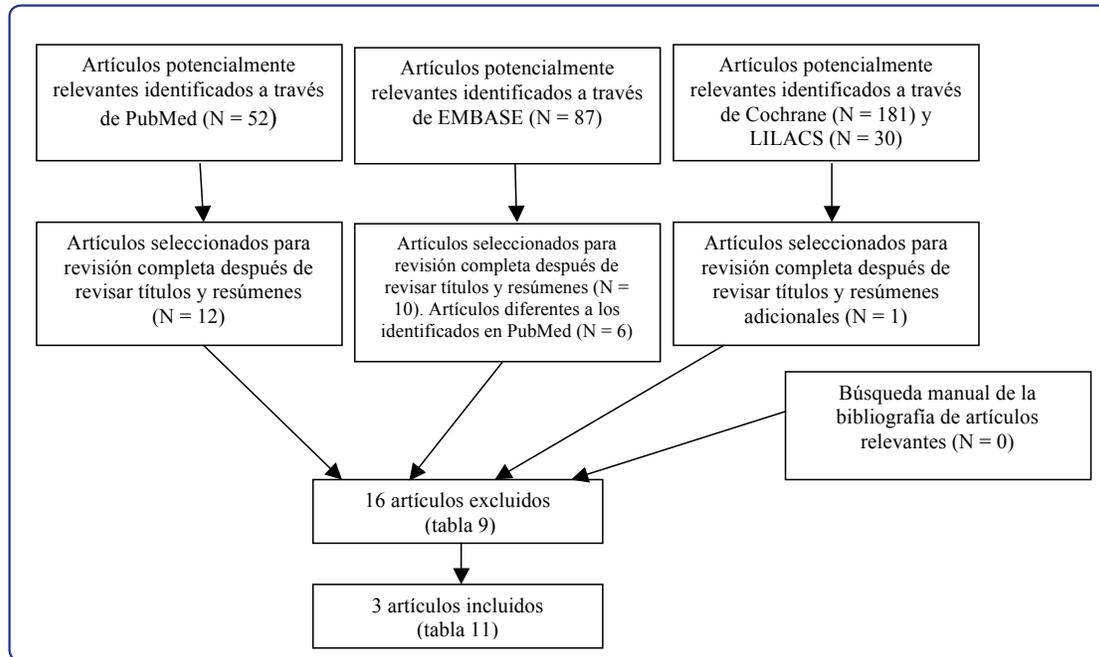


Figura 8. Flujograma del proceso de selección de estudios en la revisión para hepatitis C.

De ellos, 16 fueron excluidos de la revisión: 15 por presentar datos de las pruebas sin comparación con un estándar de referencia (27, 28, 44, 45, 68, 69, 71, 72) y uno (43) porque solo realizó la prueba de referencia a una mínima proporción de pacientes con la prueba en estudio positiva (tabla 9).

La tabla 10 presenta las características principales de los 3 estudios finalmente incluidos en la revisión para hepatitis B. Dos estudios evaluaron exclusivamente pruebas para detección de HbsAg (48, 57), un estudio evaluó simultáneamente HbsAg, Anti-HBc y Anti-HBs así como las posibles combinaciones en los resultados de las mismas (36). No se identificaron estudios que evaluaran las características de las pruebas NAAT para hepatitis B. En general, se hizo evidente una gran heterogeneidad clínica entre los diferentes estudios incluidos, incluyendo en dos artículos poblaciones con niveles de riesgo desconocido. Los tres estudios comparan los resultados de las pruebas con diferentes pruebas de referencia, siendo en dos casos pruebas no validadas en sangre cadavérica (36, 57). Solo un estudio utilizó como estándar de referencia el diagnóstico pre mórtem de VIH (48). El utilizar un estándar de referencia no validado en sangre post mórtem hace menos confiables los resultados de la revisión. Los estudios incluyeron una alta proporción de muestras hemolizadas, lo que puede condicionar peores características operativas de las pruebas. El estudio de Challine aceptó pruebas sin conocer el tiempo entre la muerte y la toma de la muestra (36). Solo un estudio

reportó la asociación de la hemólisis con los resultados de las pruebas (57) encontrando una mayor tasa de falsos positivos entre las pruebas procesadas en sangre hemolizada.

La tabla 11 presenta las características principales de los 3 estudios incluidos que evaluaron las pruebas para hepatitis C (48, 67, 70). En general se encontró una gran heterogeneidad entre los estudios. Los tres evaluaron pruebas de inmunoensayo; sin embargo, se evaluaron pruebas de primera, segunda y tercera generación, lo que puede ser fuente de heterogeneidad para el análisis. Solo el estudio de Lazrek evaluó adicionalmente una prueba NAAT para hepatitis C (67). Los tres estudios comparan los resultados de las pruebas con diferentes pruebas de referencia, siendo en dos casos pruebas no validadas en sangre cadavérica (67, 70). Solo un estudio utilizó como estándar de referencia el diagnóstico pre mórtem de VIH (48). El utilizar un estándar de referencia no validado en sangre post mórtem hace menos confiables los resultados de la revisión. Los tres estudios se realizaron en poblaciones en las que no se conocen los factores de riesgo, lo que hace los resultados menos extrapolables a los donantes de tejidos. Adicionalmente, existe gran diversidad en el tiempo entre la muerte y el procesamiento de la muestra en los diferentes estudios, lo que aumenta el riesgo de alteración de las características operativas de las pruebas asociada a mala calidad de las muestras. No se reporta la proporción de muestras hemolizadas ni el posible efecto de la calidad de las muestras sobre el resultado de las mismas.

Tabla 9. Causales de exclusión de los estudios en la revisión sistemática de hepatitis B

Artículo	Causa de exclusión
Bensoussan y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Challine y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Pianigiani y cols. (2006)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Stanworth y cols. (2000)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Watkins y cols. (1998)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Eriksen y cols. (2009)	Solo se realizó el estándar de referencia a una proporción mínima de casos.
Cattaneo y cols. (1999)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Gocke y cols. (2005)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Barnett y cols. (2001)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Schleicher y cols. (2005)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Kato y cols. (2007)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Sawabe y cols. (1999)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Seidl y cols. (1999)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Bryan y cols. (1996)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Pereira y cols. (1992)	No hay comparación con un estándar de referencia.
Arroyo y cols. (2010)	No hay comparación con un estándar de referencia.

Tabla 10. Características principales de los estudios incluidos que evaluaron las pruebas de inmunoensayo para hepatitis B.

Artículo	Diseño del estudio	Características de la población	Prueba evaluada	Prueba de referencia	Tiempo muerte- toma de la muestra	Tiempo muestra- procesamiento	Evaluación de hemólisis	Número de pacientes
Heim y cols. (1999) (48)	Serie de casos	Donantes de córnea Edad entre 39 y 79 años Perfil de riesgo desconocido	Murex HBsAg Enzyme Immunoassay (Murex Diagnostika, Burgwedel, Germany)	Murex HBsAg Enzyme Immunoassay (Murex Diagnostika, Burgwedel, Germany) Procesada en sangre tomada pre mórtem	< 60 horas	No reportada	1 muestra (3 %) reportada como hemolizada	33
Pepose y cols. (1992) (57)*	Casos y controles prospectivo	- 33 pacientes con dx de SIDA por autopsia - 118 con factores de riesgo (homo-sexualidad, prostitución, drogas IV, ETS, presos, transfusiones entre 1978 y 1985) - 258 sin factores de riesgo	HbsAg polyclonal Auszyme II ELISA Abbott laboratories (North Chicago IL)	Ausria II 125 radioimmuno-assay for HbsAg Abbott laboratories (North Chicago IL)	24 a 36 horas en promedio	8 a 36 horas	- 204 con hemólisis mínima - 111 con hemólisis moderada a severa - 94 no reportado	409
Challine y cols. (2008) (36)	Cohorte prospectiva	860 donantes de córnea Perfil de riesgo desconocido	Vitros ECi HBsAg , Vitros ECi anti-HBc Vitros ECi anti-HBs (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ)	Cobas TaqMan HBV standardized real-time polymerase-chain reaction (PCR) assay (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA) Extracción manual con QiaAmp DNA minikit (Qiagen, Hilden, Germany)	No reportado	No reportado	Reportan mala calidad de las muestras (no describen proporción de muestras hemolizadas)	860

Nota. Dx: Diagnóstico

* Reportan mayor tasa de falsos positivos a mayor tiempo entre la muerte y la toma de la muestra (datos no presentados). Reportan mayor tasa de falsos positivos a mayor hemólisis (datos no presentados)

Tabla 11. Características principales de los estudios incluidos que evaluaron las pruebas de inmunoensayo para hepatitis C.

Artículo	Diseño del estudio	Características de la población	Prueba evaluada	Prueba de referencia	Tiempo muerte- toma de la muestra	Tiempo muestra- procesamiento	Evaluación de hemólisis	Número de pacientes
Heim y cols. (1999) (48)	Serie de casos	Edad entre 39 y 79 años Perfil de riesgo desconocido	HCV 3.0 ELISA Test System SAve (Ortho Diagnostic Systems, Neckargemund, Germany)	HCV 3.0 ELISA Test System SAve (Ortho Diagnostic Systems, Neckargemund, Germany) Procesada en sangre tomada pre mórtem	< 60 horas	No reportada	1 muestra (3%) reportada como hemolizada	33
Laycock y cols. (1997) (70)*	Casos y controles prospectiva	Edad entre 13 y 86 años Perfil de riesgo desconocido	- Abbott HCV EIA 1.0 (Abbott laboratorios, Abbott Park, IL, USA) (Primera generación) - Abbott HCV EIA 2.0 (Abbott laboratorios, Abbott Park, IL, USA) (Segunda generación)	Matrix HCV (Semiautomated immunoblot assay)	No reportado	No reportado	No reportado	101
Lazrek y cols. (2006) (67) †	Cohorte prospectiva	Población de 1 a 89 años Causas de muerte diversas (incluyendo homicidio, suicidio y sobredosis) Perfil de riesgo desconocido	ELISA: ORTHO VHC 3.0 ELISA Test System (Ortho-Clinica Diagnostics, Raritan, NJ) and the MONOLISA anti-HCV New Ag (Monolisa HCV; Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes La Coquette, France) PCR RNA HCV RNA, Amplicork HCV (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, NJ).	ELISA más RIBA en los positivos RIBA immunoblot assay (Chiron RIBA HCV 3.0 SIA, Chiron Corporation, Emeryville, CA)	1 a 108 días	No reportado	No reportado	77

Nota. Dx: Diagnóstico.

* El estudio de Laycock evalúa simultáneamente pruebas de ELISA de primera y segunda generación.

† El estudio de Lazrek reporta resultados tanto de las pruebas de ELISA como de las pruebas de PCR comparándolas con un estándar de referencia combinado de ELISA más RIBA en los positivos.

En la figura 9 se resumen los resultados de la evaluación de calidad metodológica para los 3 estudios incluidos en la revisión para hepatitis B. La figura 10 resume los resultados de la evaluación de calidad metodológica para los 3

estudios incluidos en la revisión para hepatitis C. Dadas las características de la población en estudio, no existen pérdidas al seguimiento, por lo que no se incluyó este tópico en la evaluación.

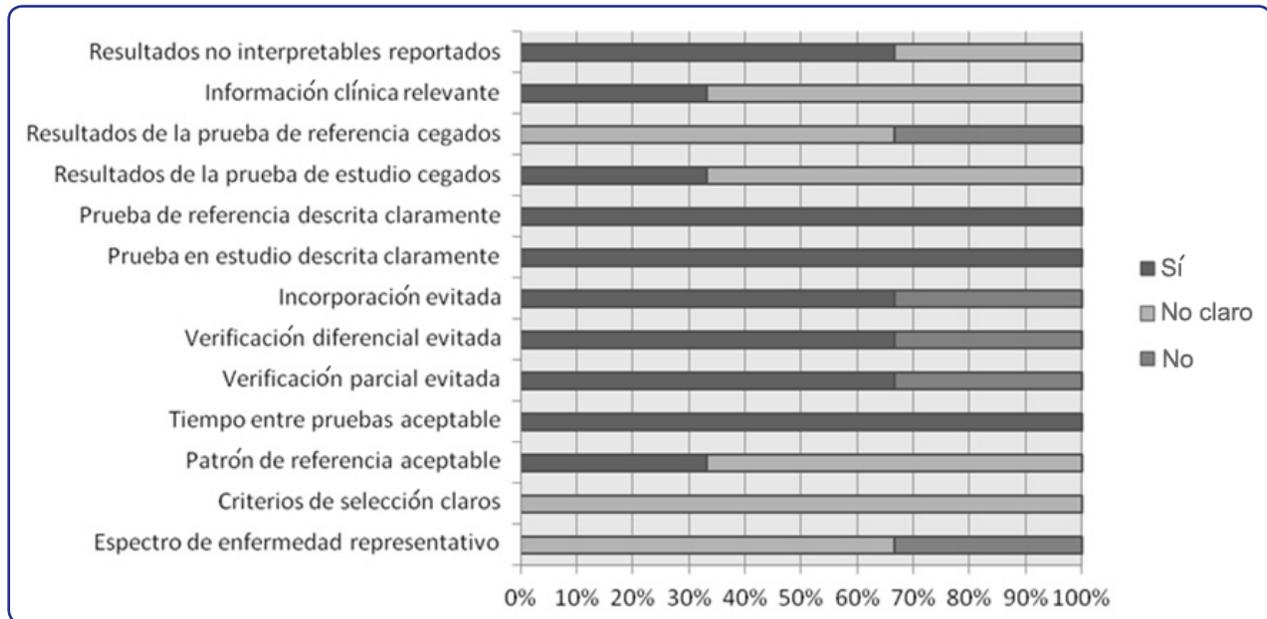


Figura 9. Gráfico de resumen de los hallazgos de la evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos en la revisión para hepatitis B.

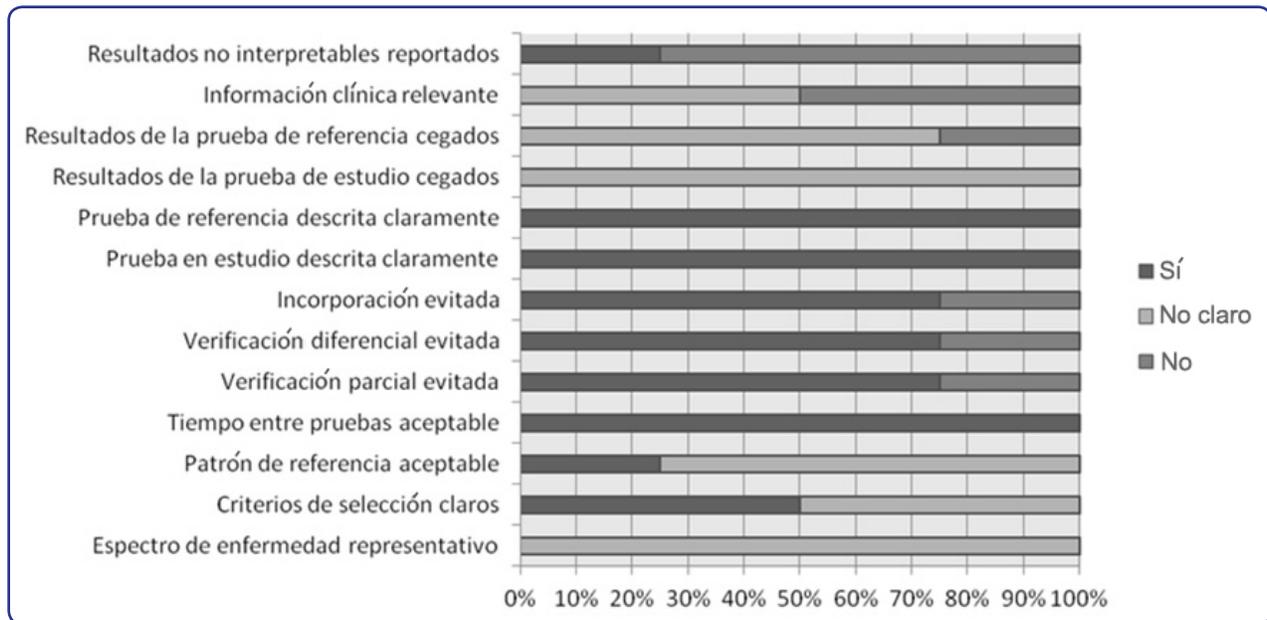


Figura 10. Gráfico de resumen de los hallazgos de la evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos en la revisión para hepatitis C.

En general, se encontró muy baja calidad metodológica de los estudios incluidos. Los tópicos en donde se encontraron mayores problemas fueron el espectro de enfermedad no representativo, con pacientes con niveles de riesgo desconocidos o elevados que los descalifican como donantes de tejidos y utilización de pruebas de referencia inadecuadas y no validadas en sangre cadavérica. Los estudios de Challine (36) y Lazrek (67) realizan la prueba de referencia solo a muestras con serologías positivas, lo que condiciona sesgo de verificación parcial y diferencial. Finalmente, no se reportó el cegamiento de los resultados de las pruebas en estudio o de referencia a la hora de interpretar la prueba complementaria.

Características operativas de las pruebas de inmunoensayo para hepatitis B en sangre cadavérica

En tres estudios se evaluaron las características operativas de las pruebas de inmunoensayo para HB en sangre

cadavérica (36, 48, 57) (tabla 12). Teniendo en cuenta la gran heterogeneidad clínica entre los estudios se decidió no realizar metanálisis de los datos.

El estudio de Challine (36) evaluó de forma independiente las diferentes combinaciones en los resultados de las pruebas para HbsAg, Anti-HBc y Anti-HBs. No se realizó la prueba de referencia en los pacientes cuando estas tres pruebas eran negativas, por lo que solo fue posible establecer el valor predictivo positivo de las mismas.

En general se observan valores de sensibilidad y valores predictivos negativos altos; sin embargo, el estudio de Pepose (57) reporta un falso negativo por lo que el cálculo no es del 100 %. Los estudios reportan una alta frecuencia de falsos positivos, lo que se asocia a valores predictivos positivos bajos, con rango entre 3,7 % y 14,9 %.

Tabla 12. Características operativas de las pruebas de inmunoensayo para Hepatitis B en sangre cadavérica.

Artículo	Número de pacientes	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Prevalencia
Heim y cols. (1999) (9)	33	100 %	48,4 %	11,1 %	100 %	2	16	0	15	6,1 %
Pepose y cols. (1992) (13)	409	92,9 %	81,3 %	14,9 %	99,7 %	13	74	1	321	3,4 %
Challine y cols. (2008) (22)*	35	NE	NE	12,5 %†	NE	1†	NE	7†	NE	NE
		NE	NE	4,8 %‡	NE	3‡	NE	59‡	NE	NE
		NE	NE	9,5 %¶	NE	2¶	NE	19¶	NE	NE
		NE	NE	3,7 %**	NE	1**	NE	26**	NE	NE

Nota. NE: No evaluable; VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo; VP: Verdaderos positivos; VN: Verdaderos negativos
 * El estudio de Challine reportó las características operativas de las pruebas según la combinación de resultados de las mismas: † HBsAg (+), ‡ Anti-HBc Ab (+) anti-HBs Ab (+), ¶ Anti-HBc Ab (+) sola, ** HBsAg (+) anti-HBs Ab (+)

Características operativas de las pruebas diagnósticas para hepatitis C en sangre cadavérica

Tres estudios evaluaron las características operativas de las pruebas de inmunoensayo para VIH en sangre cadavérica (48, 67, 70) (tabla 13). Considerando la gran heterogeneidad clínica entre los estudios se decidió no realizar metanálisis de los datos.

El estudio de Heim (48) no presentó ninguna muestra con resultados positivos, por lo que solo fue posible evaluar el VPN. El estudio de Lazrek evaluó de forma simultánea una prueba de inmunoensayo y una prueba NAAT.

En general, para las pruebas de inmunoensayo se observan valores de sensibilidad y valores predictivos negativos altos, entre el 90 % y 100 %; sin embargo, no fue posible evaluar el impacto de las diferentes generaciones de las pruebas en las características operativas de las mismas. Por el contrario, el estudio de Lazrek, que fue el único que evaluó las pruebas NAAT, sugiere que la sensibilidad de las pruebas para hepatitis C es muy baja, aun cuando tienen un valor predictivo positivo y una especificidad del 100 %.

Conclusiones

- El volumen de evidencia es escaso.
- Con la aplicación de la herramienta QUADAS se encontraron deficiencias en la calidad de la evidencia: el cumplimiento de los ítems de calidad fue del 62,8 %, 48,7 %, 48,1 % para la evidencia de VIH, hepatitis B y hepatitis C respectivamente.
- Hay gran variabilidad en los estudios disponibles y en sus resultados.
- El estándar de referencia se aplicó en forma heterogénea; además, la validación del mismo en sangre cadavérica no está disponible.
- Para las tres patologías analizadas existe riesgo aumentado de falsos positivos con el consiguiente desperdicio del recurso de donación.
- No hay claridad de cuál es el riesgo de falsos negativos en este momento.
- Se requiere mayor evidencia de buena calidad para que se puedan recomendar las pruebas evaluadas para tamizaje rutinario en especímenes cadavéricos.

Tabla 13. Características operativas de las pruebas de inmunoensayo para Hepatitis C en sangre cadavérica.

Artículo	Número de pacientes	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Prevalencia
Heim y cols. (1999) (9)	33	NE	NE	NE	97 %	NE	NE	1	32	3 %
Laycock y cols. (1997) (27)*	101	100 %†	81 %†	90 %†	100 %†	63†	7†	0†	31†	62,3 %
		100 %‡	92,1 %‡	95,5 %‡	100 %‡	63‡	3‡	0‡	35‡	
Lazrek y cols. (2006) (23) ¶	77	NE**	NE**	68,4 %**	NE**	13**	6**	NE**	NE**	16,9 %
		53 %††	100 %††	100 %††	91,4 %††	7††	0††	6††	64††	

Nota. NE: No evaluable; VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo; VP: Verdaderos positivos; VN: Verdaderos negativos.
 * El estudio de Laycock evalúa simultáneamente pruebas de ELISA: † de primera generación; ‡ de segunda generación. Los datos se calcularon interpretando como negativos los datos reportados como indeterminados.
 ¶ El estudio de Lazrek reporta resultados de: ** las pruebas de ELISA y †† las pruebas de PCR, comparándolas con un estándar de referencia combinado de ELISA más RIBA en los positivos.

Referencias bibliográficas

1. Yao F, Seed C, Farrugia A, Morgan D, Cordner S, Wood D, Zheng MH. The risk of HIV, HBV, HCV and HTLV infection among musculoskeletal tissue donors in Australia. *Am J Transplant* 2007 Dec; 7(12): 2723-6.
2. Ball J, Desselberger U, Whitwell H. Long lasting viability of HIV after patient's death. *The Lancet* 1991; 63: 338-42.
3. Zou S, Dodd RY, Stramer SL, Strong DM. Probability of viremia with HBV, HCV, HIV, and HTLV among tissue donors in the United States. *N Engl J Med* 2004; 351: 751-9.
4. Seed CR, Kiely P, Keller AJ. Residual risk of transfusion transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus and human T lymphotropic virus. *Intern Med J* 2005; 35: 592-8.
5. Seed CR, Cheng A, Ismay SL, Bolton WV, Kiely P, Cobain TJ, et al. Assessing the accuracy of three viral risk models in predicting the outcome of implementing HIV and HCV NAT donor screening in Australia and the implications for future HBV NAT. *Transfusion* 2002; 42: 1365-72.
6. Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002; 42: 975-9.
7. Tugwell B, Patel P, Williams I. Transmission of hepatitis C virus to several organ and tissue recipients from an antibody-negative donor. *Ann Intern Med* 2005; 143: 648-54.
8. Conrad E, Gretch D, Obermeyer K, Moogk M, Sayer M, Wilson J, et al. The transmission of hepatitis C virus by tissue transplantation. *J Bone Joint Surg* 1995; 77-A: 214-24.
9. Cieslak PR, Hedberg K, Thomas AR. Hepatitis C virus transmission from an antibody negative organ and tissue donor - United States 2000-2002. *MMWR* 2003; 52: 273-6.
10. Food and Drug Administration. Eligibility determination for donors of human cells, tissues, and cellular and tissue-based products, final rule; 69 FR 29786. Disponible en: <http://www.fda.gov/cber/rules/suitdonor.html>
11. Chappel R, Wilson K, Dax E. Immunoassays for the diagnosis of HIV: meeting future needs by enhancing the quality of testing. *Future Microbiol* 2009; 4(8): 963-82.
12. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Pedda-da L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003 Sep 5; 17(13): 1871-9.
13. Busch MP, Satten GA. Time course of viremia and antibody seroconversion following human immunodeficiency virus exposure. *Am J Med* 1997; 102: 117-24.
14. Sickinger E, Stieler M, Kaufman B, Kapprell HP, West D, Sandridge A, et al. Multicenter evaluation of a new, automated enzyme-linked immunoassay for detection of human immunodeficiency virus-specific antibodies and antigen. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 21-9.
15. Fearon M. The laboratory diagnosis of HIV infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005; 16: 26-30.
16. Constantine NT, Saville RD, Dax EM. *Retroviral testing and quality assurance: essentials for laboratory diagnosis*. New York: Malloy Printers; 2005. p. 81-701.
17. Walensky RP, Arbelaez C, Reichmann WM, Walls RM, Katz JN, Block BL, et al. Revising expectations from rapid HIV tests in the emergency department. *Ann Intern Med* 2008; 149: 153-60.
18. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, Wang SA, Finelli L, Wasley A, et al. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep* 2008; 57(RR-8): 1-20. Disponible en: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.23190?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info%3Aofi%2Ffmt%3Akev%3Amtx%3Ajournal&rft.genre=article&rft.jtitle=MMWR+Recomm+Rep&rft.atitle=Recommendations+for+identification+and+public+health+management+of+persons+with+chronic+hepatitis+B+virus+infection&rft.volume=57&rft.issue=RR%E2%80%908&rft.spage=1&rft.epage=20&rft.date=2008&rft.aulast=Weinbaum&rft.aufirst=CM&rft_id=info%3Aid%2Fwiley.com%3AOnlineLibrary
19. Hatzakis A. HBV virological assessment. *J Hepatol* 2006; 44: S71-6.
20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Sexually Transmitted Diseases. Treatment Guidelines 2006. Hepatitis B*. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/treatment/2006/hepatitis-b.htm>
21. Gandhi RT, Wurcel A, Lee H, McGovern B, Boczanowski M, Gerwin R, et al. Isolated antibody to hepatitis B core antigen in human immunodeficiency virus type-1-infected individuals. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1602-5.
22. Grob P, Jilg W, Bornhak H, Gerken G, Gerlich W, Gunther S, et al. Serological pattern 'anti-HBc alone': report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62: 450-5.
23. Paulowsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology* 2002; 122: 1554-68.
24. Chevaliez S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 116-21.
25. Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, Beaucourt S, Larderie P, Blatt L, et al. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication. *Hepatology* 2002; 36: 211-8.
26. Miedouge M, Saune K, Kamar N, Rieu M, Rostaing L, Izopet J. Analytical evaluation of HCV core antigen and interest for HCV screening in haemodialysis patients. *J Clin Virol* 2010; 48: 18-21.
27. Watkins B, Haushalter R, Bolender D. Postmortem blood tests for HIV, HBV, and HCV in a body donation program. *Clin Anat* 1998; 11(4): 250-2.
28. Cattaneo C, Nuttall P, Molendini L, Pellegrinelli M, Grandi M, Sokol R. Prevalence of HIV and hepatitis C markers among a cadaver population in Milan. *J Clin Pathol* 1999; 52: 267-70.
29. Tofigi H, Ghorbani M, Akhlaghi M, Yaghmaei A. Incidence of Hepatitis B and HIV virus at cadaver of IV drug abusers in Tehran. *Acta Medica Iranica* 2011; 49(1): 59-63.
30. Gocke D, Silvey L. Infectious disease risk of cadaveric tissue donors who used non-injected illicit drugs. *Cell and Tissue Banking* 2005; 6: 249-53.
31. Barnett J, McCauley R. Cadaver donor discards secondary to serology. *J Burn Care Rehabil* 2001; 22: 124-7.
32. Baleriola C, Johal H, Robertson P, Jacka B, Whybin R, Taylor P, et al. Infectious disease screening of blood specimens collected post-mortem provides comparable results to pre-mortem specimens. *Cell Tissue Bank* 2011 Apr 8. [Epub ahead of print].

33. Stanworth SJ, Warwick RM, Ferguson M, Barbara A. A UK survey of virological testing of cadaver tissue donors. *Vox Sanguinis* 2000; 79(4): 227-30.
34. Challine D, Roudot-Thoraval F, Sabatier P, Dubernet F, Larderie P, Rigot P, et al. Serological viral testing of cadaveric cornea donors. *Transplantation* 2006; 82(6): 788-93.
35. Bensoussan D, Jeulin H, Decot V, Agrinier N, Venard V. Analyses of the effects of collection and processing time on the results of serology testing of cadaveric cornea donors. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68(1): 40-5.
36. Challine D, Chevaliez S, Pawlotsky JM. Efficacy of serologic marker screening in identifying Hepatitis B virus infection in organ, tissue, and cell donors. *Gastroenterology* 2008; 135: 1185-91.
37. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Recommendations for obtaining a labeling claim for communicable disease donor screening tests using cadaveric blood specimens from donors of human cells, tissues and cellular and tissue-based products (HCT/Ps); 2004. p. 17. Disponible en: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm073972htm>.
38. Kitchen A, Newham J. Qualification of serological infectious disease assays for the screening of samples from deceased tissue donors. *Cell Tissue Bank* 2011; 12: 117-24.
39. Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25.
40. Arends LR, Hamza TH, van Houwelingen JC, Heijnenbroek-Kal MH, Hunink MG, Stijnen T. Bivariate random effects meta-analysis of ROC curves. *Med Decis Making* 2008; 28: 621-38.
41. Chappell FM, Raab GM, Wardlaw JM. When are summary ROC curves appropriate for diagnostic metaanalyses? *Stat Med* 2009; 28: 2653-68.
42. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; 327: 557-60.
43. Eriksen MB, Jakobsen MA, Kringsholm B, Banner J, Thomsen JL, Georgsen J, et al. Postmortem detection of hepatitis B, C, and human immunodeficiency virus genomes in blood samples from drug-related deaths in Denmark. *J Forensic Sci* 2009 Sep; 54(5): 1085-8.
44. Schleicher S, Schieffer M, Jürgens S, Wehner HD, Flehmig B. Evidence of multiple hepatitis virus infections in autopsied materials of intravenous drug addicts. *Ig Sanita Pubbl* 2005 Sep-Oct; 61(5): 435-50.
45. Kato H, Maeno Y, Seko-Nakamura Y, Monma-Ohtaki J, Sugiura S, Takahashi K, et al. Identification and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in forensic blood samples obtained from injecting drug users. *Forensic Sci Int* 2007 May 3; 168(1): 27-33.
46. Pianigiani E, Risulo M, Jerardi F, Sbano P, Andreassi L, Fimiani M, et al. Prevalence of skin allograft discards as a result of serological and molecular microbiological screening in a regional skin bank in Italy. *Burns* 2006 May; 32(3): 348-51.
47. Webber LM, Swanevelder C, Grabow WO, Fourie PB. Evaluation of a rapid test for HIV antibodies in saliva and blood. *S Afr Med J* 2000 Oct; 90(10): 1004-7.
48. Heim A, Wagner D, Rothämel T, Hartmann U, Flik J, Verhagen W. Evaluation of serological screening of cadaveric sera for donor selection for cornea transplantation. *J Med Virol* 1999 Jul; 58(3): 291-5.
49. Schor P, Sato EH, Kuroda A, Barros PS, Marcopito LA, Belfort R Jr. HIV-antibody detection in vitreous humor and serum by enzyme immunosorbent assay and particle agglutination test. *Cornea* 1997 Sep; 16(5): 541-4.
50. Gala JL, Vandembroucke AT, Vandercam B, Pirnay JP, Delferrière N, Burtonboy G. HIV-1 detection by nested PCR and viral culture in fresh or cryopreserved postmortem skin: potential implications for skin handling and allografting. *J Clin Pathol* 1997 Jun; 50(6): 481-4.
51. Burtonboy G, Delloye C. Polymerase chain reaction in cadaveric blood and tissues. *Transplant Proc* 1996 Oct; 28(5): 2927-8.
52. Novick SJ, Schragar JA, Nelson JA, Anderson ME, Baskin BL. Comparison of two hepatitis B surface antigen and two HIV-1 (p24) antigen EIA test kits with hemolyzed cadaveric blood specimens. *Transplant Proc* 1996 Oct; 28(5): 2925-6.
53. Essary LR, Kinard SJ, Butcher A, Wang H, Laycock KA, Donegan E, et al. Screening potential corneal donors for HIV-1 by polymerase chain reaction and a colorimetric microwell hybridization assay. *Am J Ophthalmol* 1996 Oct; 122(4): 526-34.
54. Zehner R, Bratzke H, Mebs D. Evaluation of a rapid assay system, HIV 1/HIV 2 Testpack, Abbott, to detect human immunodeficiency virus antibodies in postmortem blood. *J Forensic Sci* 1995 Jan; 40(1): 113-5.
55. Karhunen PJ, Brummer-Korvenkontio H, Leinikki P, Nyberg M. Stability of human immunodeficiency virus (HIV) antibodies in postmortem samples. *J Forensic Sci* 1994 Jan; 39(1): 129-35.
56. Li L, Constantine NT, Zhang X, Smialek JE. Determination of human immunodeficiency virus antibody status in forensic autopsy cases using a rapid and simple FDA-licensed assay. *J Forensic Sci* 1993 Jul; 38(4): 798-805.
57. Pepose JS, Buerger DG, Paul DA, Quinn TC, Darragh TM, Donegan E. New developments in serologic screening of corneal donors for HIV-1 and hepatitis B virus infections. *Ophthalmology* 1992 Jun; 99(6): 879-88.
58. Koops E, Lieske K, Püschel K, Janssen W. HIV-infection in the autopsy material (Hamburg 1984-1989). *Acta Morphol Hung* 1992; 40(1-4): 103-11.
59. Little D, Ferris JA. Determination of human immunodeficiency virus antibody status in forensic autopsy cases in Vancouver using a recombinant immunoblot assay. *J Forensic Sci* 1990 Sep; 35(5): 1029-34.
60. Kringsholm B, Theilade P, Geertinger P. The occurrence of HIV antibodies in drug addicts autopsied at the University Institute of Forensic Medicine in Copenhagen in 1987. *Forensic Sci Int* 1989 Jun; 41(3): 281-4.
61. Klatt EC, Shibata D, Strigle SM. Postmortem enzyme immunoassay for human immunodeficiency virus. *Arch Pathol Lab Med* 1989 May; 113(5): 485-7.
62. Penning R, Tutsch-Bauer E, Beer G, Gürtler L, Spann W. HIV infection in legal autopsies. *Beitr Gerichtl Med* 1989; 47: 23-9.
63. Tappero P, Immormino C, Nebbia F, Ferrara B, Angeretti A, Merlino C, et al. Postmortem detection of anti-HIV and anti-HBc antibodies in 148 drug addicts died between 1977 and 1987. *Panminerva Med* 1988 Oct-Dec; 30(4): 243-8.
64. Pepose JS, Pardo F, Kessler JA 2nd, Kline R, Donegan E, Quinn TC. Screening cornea donors for antibodies against human immunodeficiency virus. Efficacy of ELISA testing of cadaveric sera and aqueous humor. *Ophthalmology* 1987 Feb; 94(2): 95-100.

65. Yao F, Seed C, Farrugia A, Morgan D, Wood D, Zheng MH. Comparison of the risk of viral infection between the living and nonliving musculoskeletal tissue donors in Australia. *Transplant Int* 2008; 21(10): 936-41.
66. Arroyo Fernández A, Mora Font A, Palahí Adroher M, Sánchez Fité, Barbal Pagés M. La infección por los virus de hepatitis C y de la inmunodeficiencia humana está subestimada. *Salud Cienc* 2010; 17(7): 646-50.
67. Lazrek M, Goffard A, Schanen C, Karquel C, Bocket L, Lion G, et al. Detection of hepatitis C virus antibodies and RNA among medicolegal autopsy cases in Northern France. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006 May; 55(1): 55-8.
68. Sawabe M, Arai T, Esaki Y, Fukazawa T, Takubo K. Persistent infection of hepatitis C virus in the elderly: a clinical and quantitative pathological study of autopsy cases. *Liver* 1999 Aug; 19(4): 335-42.
69. Seidl S, Koenig B, Reinhardt G, Hampf W, Mertens T, Michel D. Higher detection rate of hepatitis G and C virus RNA in liver tissue than in serum of deceased injection drug users. *Int J Legal Med* 1999; 112(1): 35-8.
70. Laycock KA, Essary LR, Delaney S, Kuhns MC, Pepose JS. A critical evaluation of hepatitis C testing of cadaveric corneal donors. *Cornea* 1997 Mar; 16(2): 146-50.
71. Bryan CF, Tegtmeier GE, Polito A, Bayer W, Pierce GE, Shield CF, et al. Evaluation of the 3.0 Ortho EIA assay in 385 consecutive cadaveric organ donors. *Transplant Proc* 1996 Feb; 28(1): 155-6.
72. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Quan S, Sayre KR, Johnson PJ, et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in the recipients of their organs. *N Engl J Med* 1992 Sep 24; 327(13): 910-5.