



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA

TEMA:

Validación de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de infecciones virales en posibles donantes de sangre de 18 a 60 años del banco de sangre del hospital Omni Hospital en el periodo 2017 a 2020.

AUTORES:

Amory Zambrano Giancarlo Ottelo
Oliveros Sandoval, Cecilia Aldana

**Trabajo de Titulación previo a la obtención del grado de
MÉDICO**

TUTOR:

Ayón Genkuong, Andrés Mauricio

Guayaquil, Ecuador

1 de mayo del 2021



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo de titulación fue realizado en su totalidad por **Amory Zambrano Giancarlo Ottelo** y **Oliveros Sandoval Aldana Cecilia** como requerimiento para la obtención del título de **Médico**.

TUTOR

f. _____
Dr. Andrés Mauricio Ayón Genkuong

DIRECTOR DE LA CARRERA

f. _____
Dr. Juan Luis Aguirre Martínez, Mgs

Guayaquil, al 1er día del mes de mayo del año 2021.



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Nosotros: **Amory Zambrano Giancarlo Ottelo y Oliveros Sandoval
Aldana Cecilia**

DECLARAMOS QUE:

El Trabajo de Titulación: **Validación de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de infecciones virales en posibles donantes de sangre de 18 a 60 años del banco de sangre del hospital Omni Hospital en el periodo 2017 a 2020**, previo a la obtención del título de **Médico**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de nuestra total autoría.

En virtud de esta declaración, nos responsabilizamos del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, al 1er día del mes de mayo del año 2021

LOS AUTORES

f. _____
Amory Zambrano Giancarlo Ottelo

f. _____
Oliveros Sandoval Cecilia Aldana



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA**

AUTORIZACIÓN

Nosotros, **Amory Zambrano Giancarlo Ottelo** y **Oliveros Sandoval Aldana Cecilia**

Autorizamos a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación: **Validación de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de infecciones virales en posibles donantes de sangre de 18 a 60 años del banco de sangre del hospital Omni Hospital en el periodo 2017 a 2020**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, al 1er día del mes de mayo del año 2021.

LOS AUTORES

f. _____
Amory Zambrano Giancarlo Ottelo

f. _____
Oliveros Sandoval Aldana Cecilia

Urkund Analysis Result

Analysed Document: 4to borrador de tesis COOREGIDO.docx (D99257053)
Submitted: 3/22/2021 9:52:00 PM
Submitted By: giancarloamory97@hotmail.com
Significance: 0 %

Sources included in the report:

Instances where selected sources appear:

0


Dr. Andrés Ayón Genkuong
GINECO - OBSTETRA
Libro 4 "E" Folio 9 No. 25
Reg. Prof. 7012 Libro 508 P. 49 - 508
C.C. 0009559817

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios por haberme permitido cumplir mis metas propuestas desde un inicio. Además, agradezco a mi madre por ser mi apoyo incondicional en este largo camino, a mis hermanos, a mis tíos y demás familiares que me han apoyado en todos los momentos de mi vida universitaria. Agradezco al Dr. Andrés Ayón por la dirección de este trabajo de titulación. Por último, agradezco a mi compañera de tesis y gran amiga Aldana por su colaboración y dedicación en la elaboración de esta importante tesis.

Giancarlo Amory Zambrano

Gracias a mi familia y amigos por su apoyo en toda la carrera. A Dios por darme la fuerza de enfrentar retos durante mi formación profesional y vida. Agradezco al Dr. Andrés Ayón por su guía y conocimientos que aportaron a la elaboración de esta tesis y al Dr. Diego Vásquez por su disposición, tiempo y ayuda y por último a mi papá por su ayuda incondicional en este proyecto.

Aldana Oliveros Sandoval

Dedicatoria

Este trabajo de titulación se lo dedico principalmente a mi madre que siempre ha estado conmigo y por darme sus sabios consejos y enseñanzas.

A mis hermanos Angelique y Antoine que siempre me han brindado sus importantes conocimientos en mi vida universitaria.

A mi tía Delia que nunca me dejó de apoyar desde el inicio de mi vida estudiantil. A mis tíos y demás familiares que han sido un apoyo incondicional.

A mis amigos más cercanos que siempre han estado conmigo en este largo camino.

Giancarlo Amory Zambrano

A mí misma por confiar en mi en cada reto.

A mis papás por su apoyo, enseñanzas y por ser mi mayor ejemplo.

A mis hermanas por ser mis mejores cómplices y amigas.

A mis abuelos en el cielo por haberme dado tanto amor y por nunca dejarme sola.

A José Luis y a mis amigos por ser mi inyección de energía positiva y felicidad a diario.

A Giancarlo por la paciencia y dedicación en esta tesis y por su amistad que valoro tanto.

Gracias, gracias, gracias, mi amor es infinito para ustedes.

Los amo y son mi inspiración

Aldana Oliveros Sandoval.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
MEDICINA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____
Dr. Juan Luis Aguirre Martínez, Mgs
DECANO O DIRECTOR DE CARRERA

f. _____
Dr. Andrés Mauricio Ayón Genkuong
COORDINADOR DEL ÁREA O DOCENTE DE LA CARRERA

f. _____
OPONENTE

ÍNDICE

1.- Introducción.....	2
2.- Marco teórico.....	3
2.1 Historia de la transfusión de sangre	3
2.2 Indicaciones de las transfusiones sanguíneas.....	4
2.3 Enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión.....	5
2.3.1 Agentes infecciosos transmitidos por transfusión.....	5
2.3.2 Principales infecciones sometidas a hemovigilancia	7
2.4 Pruebas NAT.....	9
2.4.1. Generalidades y antecedentes de NAT	9
2.4.2 Tecnología NAT en el banco de sangre	11
2.4.3 Minipool NAT (MP-NAT).....	12
2.4.4 NAT en VIH.....	13
2.4.5 NAT en Virus de la Hepatitis B	14
2.4.6 NAT en Virus de la Hepatitis C	15
2.4.7 Períodos de ventana comparativos de las diferentes técnicas utilizadas en la hemovigilancia de transfusiones sanguíneas.....	15
2.5 Pruebas serológicas.....	16
2.5.1 Virus de Hepatitis C.....	16
2.5.2 Virus de Hepatitis B.....	17
2.5.3 VIH.....	19
2.6 ELISA.....	20
2.6.1 ELISA Directo.....	20
2.6.2 ELISA Indirecto.....	21
2.6.3 ELISA Sandwich	21
2.6.4 ELISA Competitivo.....	22
2.7 Contraindicaciones y criterios de rechazo de donantes	22
3. Materiales y Métodos.....	25
3.1 Tipo y diseño de estudio.....	25
3.2 Área de estudio, población de referencia de estudio.....	25
3.3 Población y muestra.....	25
3.4 Objetivos	25
3.4.1 Objetivo General.....	25
3.4.2 Objetivos Específicos	26
3.5 Criterios de inclusión y exclusión	26
3.6 Parametrización de las variables	26
3.7 Análisis Estadístico	27

4. Resultados	28
5. Discusión	32
6. Conclusiones.....	33
7. Recomendaciones	34
8. Bibliografía.....	35
9. ANEXOS.....	40
Anexo 1. Tabla de parametrización de variables	40

RESUMEN

Introducción: El riesgo de infecciones virales (VIH,VHB,VHC) ha disminuido drásticamente debido al tamizaje que se realiza a todos los posibles donantes de sangre en los bancos de sangre. Las pruebas NAT del VHC 2 el período de ventana infecciosa a aproximadamente 8 a 10 días en contraste a el periodo de ventana de 70 días utilizando las pruebas serológicas del VHC. **Objetivos:** Evaluar la eficacia de las pruebas serológicas en la detección de infección por VHB, VHC y VIH en posibles donantes atendidos en el banco de sangre del Omni Hospital en periodo de 2017 a 2020. **Metodología:** Estudio de corte transversal, observacional y descriptivo. Los datos se extrajeron de las historias clínicas en el sistema clínico Edelphyn del banco de sangre del Omni Hospital, periodo enero 2017 a diciembre 2020. **Resultados:** La mayor parte de la población perteneció al sexo masculino, representando el 56.20% de la población, con una edad de 37 años como mediana. Además, que durante los años de 2018 y 2019 existió la mayor cantidad de donantes con infecciones por VIH y virus de hepatitis B. En cuanto a la infección viral, la mayor parte de la población tuvo pruebas de NAT positivas para infección por virus de hepatitis B (17.10%), quedando en segundo lugar la infección por VIH (13.30%). **Conclusiones:** Referente a la eficacia de las pruebas serológicas frente a las NAT, se pudo observar que la sensibilidad de las pruebas serológicas en el VIH fue de 60.71%, mientras que la especificidad fue del 94.51%.

Palabras clave: pruebas serológicas, pruebas NAT, sensibilidad, especificidad, periodo de ventana.

ABSTRACT

Introduction: The risk of viral infections (HIV, HBV, HCV) has drastically decreased due to the screening carried out to all possible blood donors in blood banks. HCV NAT testing reduces the infectious window period to approximately 8-10 days in contrast to the 70-day window period using HCV serologic testing. **Objectives:** To evaluate the efficacy of serological tests in the detection of HBV, HCV and HIV infection in potential donors treated at the Omni Hospital blood bank in the period from 2017 to 2020. **Methodology:** Cross-sectional, observational, and descriptive study. The data were extracted from the medical records in the Edelphyn clinical system of the Omni Hospital blood bank, period January 2017 to December 2020. **Results:** Most of the population belonged to the male sex, representing 56.20% of the population, with a median age of 37 years. In addition, during the years 2018 and 2019, there was the largest number of donors with HIV and hepatitis B virus infections. Regarding viral infection, most of the population had positive NAT tests for hepatitis B virus infection (17.10%), with HIV infection coming in second (13.30%). **Conclusions:** Regarding the efficacy of serological tests against NATs, it was observed that the sensitivity of serological tests in HIV was 60.71%, while the specificity was 94.51%.

Keywords: *serological tests, NAT tests, sensitivity, specificity, window period.*

1.- Introducción

En la medicina transfusional, la selección de sangre segura ha sido un motivo de preocupación desde que en el año 1947 se reportaron una gran cantidad de casos de hepatitis transfusional ¹. En 1983 – 1984 se reportó el primer caso de VIH y se confirmó la transmisión de este virus a través de las transfusiones sanguíneas.¹ La prevalencia de seropositividad de VIH en donantes de sangre a nivel mundial es de 1 en 10.000 pruebas realizadas, el riesgo de transmisión transfusional de VIH en USA es de 1 en 1.5 millones de transfusiones.²

El riesgo de infecciones virales (VIH,VHB,VHC) ha disminuido drásticamente debido al tamizaje que se realiza a todos los posibles donantes de sangre en los bancos de sangre. Entre las pruebas realizadas existen las pruebas serológicas por inmunoensayo enzimático de quimioluminiscencia y el minipool NAT (Amplificación de ácidos nucleicos) .^{2,3} Ambas pruebas tienen ventajas y desventajas por lo cual en todos los protocolos de hemovigilancia se considera la implementación de ambas. En si la serológica para determinar si el paciente tuvo una infección pasada y la prueba de minipool NAT para identificar la infección en fase activa.

A pesar de que se han implementado rigurosos protocolos de seguridad para la transfusión sanguínea la transmisión de enfermedades infecciosas sigue siendo un problema. Se conoce que el riesgo de transmisión aumenta con relación a la cantidad de unidades sanguíneas que se transfunden.

Las pruebas NAT del VHC reduce el período de ventana infecciosa a aproximadamente 8 a 10 días en contraste a el período de ventana de 70 días utilizando las pruebas serológicas del VHC.^{2,4} En nuestro estudio se busca demostrar la importancia y validación de las pruebas serológicas que otorga el implemento de las pruebas NAT en el diagnóstico de las infecciones virales que se investigan para la correcta elección del donante de sangre.

2.- Marco teórico

2.1 Historia de la transfusión de sangre

La investigación sobre la transfusión de sangre inició en el siglo XVII después de que William Harvey experimentara con la circulación de la sangre y Richard Lower fuera el pionero de la primera transfusión de sangre entre animales en 1665; Jean-Baptiste Denys en Francia realizó la primera transfusión de sangre de animal a humano.⁵

La primera transfusión de sangre exitosa se realizó con una jeringa por el obstetra británico James Blundell para el tratamiento de la hemorragia posparto en 1818. Posteriormente, en Londres, Samuel Lane realizó la primera transfusión de sangre completa exitosa para tratar a un paciente con hemofilia en 1840. Las transfusiones de sangre se evitaron a fines del siglo XIX debido a efectos adversos graves y a la alta mortalidad⁵.

Después del descubrimiento de los tres grupos sanguíneos (O, A y B) realizado por Karl Landsteiner, la transfusión de sangre se volvió más segura y fue aceptada para el manejo en cirugías y pérdidas de sangre en situaciones de emergencia. En 1906 en la Universidad Case Western Reserve en Cleveland se ejecutó la primera transfusión de sangre para cirugía⁵

La influencia de la primera Guerra Mundial condujo hacia el veloz desarrollo de bancos de sangre y nuevas técnicas de transfusión, la Cruz Roja Británica fue el primer servicio de donantes de sangre del mundo en 1921. En el hospital de Leningrado en 1932 se dió lugar al primer banco de sangre⁵.

La primera infección transmitida por transfusión que fue descrita en la medicina en 1941 fue sífilis y la detección de sífilis en donantes de sangre se instituyó antes de que los bancos de sangre se volvieran comunes. Paul Beeson publicó la descripción clásica de hepatitis TT en 1943. A nivel mundial, se estima que 85 millones de unidades de glóbulos rojos se transfunden cada año⁵.

La transmisión de infecciones transfusionales se da a través de tres mecanismos:(a) inmunosupresión relacionada con la transfusión que predispone a infecciones

postoperatorias y otras (b) contaminación de productos sanguíneos almacenados (principalmente bacterias en plaquetas); y (c) transfusión de microbios presentes en la sangre de donantes asintomáticos (principalmente virus). El riesgo de infección aumenta con la cantidad de unidades de glóbulos rojos o productos sanguíneos transfundidos y los pacientes que requieren sangre o productos crónicos son los más vulnerables⁵.

2.2 Indicaciones de las transfusiones sanguíneas

Las transfusiones sanguíneas son vitales en el manejo de muchos problemas clínicos, siendo las dos indicaciones principales la anemia y la hemorragia aguda. La donación de sangre se realiza con mayor frecuencia insertando una aguja de gran diámetro ya sea de 16g o 18g en una vena periférica, frecuentemente dentro de la fosa antecubital. Las venas en el dorso de la mano u otras venas prominentes son otra alternativa en algunas personas que no tienen una vena antecubital fácilmente accesible⁶.

Más de 108 millones de unidades de glóbulos rojos se transfunden anualmente en todo el mundo y no todas las unidades sanguíneas donadas se usan realmente por lo cual el número de unidades donadas es aún mayor. La sangre se dona para una transfusión posterior, ya sea de regreso al donante o a otra persona, denominada respectivamente transfusión "autóloga" y "allogénica"⁷.

La sangre también se puede donar con fines terapéuticos primarios para el donante. Esto se llama "flebotomía terapéutica" o, como se conocía anteriormente, "extracción de sangre". Desafortunadamente, esta práctica se usó de una manera incorrecta durante miles de años como una supuesta cura para todo tipo de enfermedades⁷.

Otra indicación para la donación de sangre es la preparación para la cirugía la cuál es un ejemplo de donación autóloga. En algunas ocasiones, el paciente que se va a someter a una cirugía programada tiene que donar sangre al menos 72 horas antes de la fecha de la cirugía para tener lista una transfusión autóloga durante la operación o después de la operación. El paciente debe tener una hemoglobina adecuada, y la unidad donada solo está autorizada para la donación autóloga⁷.

Los pacientes con sospecha de bacteriemia están contraindicados para la donación autóloga. La donación autóloga fue ampliamente realizada en las décadas de 1980 a 1990 debido al temor a las infecciones por VIH y hepatitis C transmitidas por transfusión⁸. Afortunadamente, la mayor seguridad con las prácticas de donación de sangre, manipulación, detección de infecciones y técnicas de transfusión ha hecho que las infecciones por hepatitis y VIH relacionadas con la transfusión sean extremadamente raras; debido a esto la donación autóloga preoperatoria no se realiza comúnmente.

2.3 Enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión

2.3.1 Agentes infecciosos transmitidos por transfusión.

A pesar del buen progreso en los protocolos de seguridad de la sangre o los productos sanguíneos en los últimos 30 años desde la identificación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis C (VHC), aún hay varias preocupaciones sobre el riesgo de transmisión de agentes infecciosos. La transmisión de patógenos a través de las transfusiones sanguíneas se da por ciertas condiciones: la presencia del patógeno en la sangre durante el período de incubación del proceso infeccioso, la supervivencia del agente en la sangre durante el procesamiento y almacenamiento, y el agente debe ser reconocido como responsable de un proceso clínico en una proporción de los receptores infectados⁹.

Un grupo de expertos de Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) en 2009 identificó 68 agentes infecciosos capaces de transmitirse por transfusión de sangre⁹. Sin embargo, la lista seguirá expandiéndose. La tasa de aparición de nuevos agentes de 1940 a 2004 fue de 3 a 5 nuevos virus descubiertos cada año, 60 a 70% son de origen animal que son capaces infectar a los humanos¹⁰.

Los agentes infecciosos se clasificaron según el nivel de riesgo en función de la evaluación científica - epidemiológica, la percepción pública y la preocupación normativa en las categorías roja, naranja, amarilla y blanca. La lista no incluía a los principales patógenos de transmisión de transfusiones como: VIH, VHC, VHB y *Treponema pallidum*¹¹.

Los agentes rojos tienen evidencia científica baja a alta de riesgo de seguridad sanguínea con el potencial de complicaciones graves, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD), Babesia species y virus del dengue (DENV). El vCJD tiene un riesgo de transmisión de bajo a muy bajo en América del Norte, pero un mayor riesgo de transmisión en el Reino Unido. DENV tiene un riesgo de transmisión bajo a muy bajo en Norteamérica, pero un riesgo moderado en países endémicos. Sin embargo, tiene un riesgo moderado de transmisión en los EE. UU ¹¹.

Los agentes infecciosos que se describen en la categoría naranja tienen suficiente evidencia científica de riesgo de transmisión sanguínea que conlleva una mayor prioridad en el futuro. Estos son el virus Chikungunya (CHIKV), el cual tiene riesgo potencial como transmisión de transfusión no probada; las especies de Leishmania de bajo riesgo con transmisión sanguínea probada en posiblemente 10 casos principalmente en áreas endémicas ^{11,12}.

El Trypanosoma cruzi que causa la enfermedad de Chagas está bien documentado como transmisor de sangre, con riesgo bajo en los EE. UU. y Europa, pero moderado en América del Sur y Central. Las especies de Plasmodium están bien descritas con transmisión sanguínea, con riesgo bajo en países no endémicos y alto en regiones hiperendémicas¹¹.

Los agentes de la categoría amarilla tienen un riesgo bajo o ausente de transmisión de sangre. Estos agentes incluyen: virus del herpes humano-8 (HHV-8), transmitido por transfusión en África y posible en los EE. UU. pero no probado, y no resultó en enfermedad clínica; parvovirus humano B19 que se ha demostrado que se transmite por sangre (cuatro casos documentados en 2009), pero de muy bajo riesgo, excepto para la hemofilia y las afecciones que requieren transfusiones crónicas recurrentes e inmunosupresión¹².

El virus de la influenza aviar A subtipo H5N1 es poco probable que se transmita por la sangre, pero de alto perfil para una posible propagación pandémica; Borrelia burgdorferi que provoca la enfermedad de Lyme potencialmente posible pero no hay casos comprobados de transfusión transmitida; y por último el virus de la hepatitis A (VHA) que

rara vez se transmite por transfusión en las unidades de cuidados intensivos neonatales¹¹.

Los agentes de categoría blanca representan una lista de vigilancia, que está sujeta a modificaciones según las circunstancias la requieran. Estos agentes incluyen el virus de la hepatitis E (HEV), que está documentado en regiones endémicas y países industrializados¹¹.

La lista de agentes de la ABBB se actualizó en el año 2014 con seis nuevas incorporaciones. Estos incluyeron virus de la fiebre amarilla, arbovirus misceláneos, XMRV, parvovirus humanos distintos de B19, bocavirus, virus del sarampión y MERS-CoV¹³.

2.3.2 Principales infecciones sometidas a hemovigilancia

A continuación, se describen los microorganismos que deben ser testeados para valorar su presencia o ausencia previo a procedimientos que involucren el manejo del paciente con hemoderivados o productos sanguíneos.

La hepatitis A es transmitida por el virus de la hepatitis A (VHA), que es un miembro distinto de la familia de los picornavirus. El VHA es una partícula esférica de 27 a 32 nm con simetría cúbica, contiene un genoma lineal de ssRNA que tiene un tamaño de 7,5 kb.¹⁴

El virus de la hepatitis B (VHB) causa la hepatitis B. El VHB es un hepadnavirus y tiene un genoma de ADN bicatenario con un tamaño de 3,2 kb¹⁵. El virus de la hepatitis C (VHC) causa hepatitis C. El VHC es un miembro de la familia Flaviviridae y es una partícula esférica de 60 nm, envuelta y contiene un genoma de ARN monocatenario con un tamaño de 9,4 kb¹⁶. El VIH es un retrovirus que comprende dos subtipos: el VIH-1, que es el agente etiológico más común en todo el mundo y más común del SIDA. VIH-2 que afecta principalmente a África occidental¹⁷. El virus linfotrópico T humano 1 (HTLV-1) es un retrovirus humano conocido por causar leucemia / linfoma de células T adultas y mielopatía asociada a HTLV-1 / paraparesia espástica tropical (HAM / TSP).¹⁷

La infección por VHB transmitida por transfusión se previene actualmente en la mayoría de los países desarrollados mediante la prueba del antígeno de superficie del VHB (HBsAg), la prueba de ácido nucleico (NAT) y la detección de anticuerpos contra el antígeno central del VHB. Las pruebas de ácido nucleico (NAT) para VIH y VHC se han implementado en varias naciones europeas y Estados Unidos. La implementación de NAT ha mejorado la seguridad de las donaciones de sangre al reducir el riesgo de unidades infecciosas por millón de donaciones¹⁶. Probablemente 240 millones de personas padecen de hepatitis B. De estos casos, más de 680,000 personas mueren cada año debido a complicaciones de la hepatitis B, incluidas la cirrosis y el cáncer de hígado. Aproximadamente 150 millones de personas en todo el mundo tienen infección crónica por hepatitis C, y casi 700,000 de ellas mueren cada año a causa de la enfermedad hepática¹⁶. Las hepatitis B y C prevalecen en todo el mundo, especialmente en pacientes con VIH y en aquellos en hemodiálisis y con trastornos de la coagulación.

La enfermedad de Chagas es actualmente un problema de salud pública en América Latina. La transmisión dada por vectores es el modo más crítico para esta enfermedad, pero otras formas como las transfusiones requieren más estudios epidemiológicos. Por lo tanto, en Colombia, la frecuencia de *T. cruzi* fue serológicamente baja, pero puede variar entre otras naciones de la región. Se estima que 10 millones de personas están infectadas en todo el mundo y principalmente en América Latina.¹⁸

Existen métodos útiles inmunológicos que valoran la presencia de anti-*Trypanosoma cruzi* los cuales predicen la ausencia de infección con una probabilidad del 100% cuando se usan en combinación entre prueba de hemocultivo y otras pruebas comerciales basadas en el ensayo de inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta y ensayo de hemaglutinación, esto debido a la frecuente aparición de serología no concluyente que afecta a los bancos de sangre y la falta de una prueba de oro estándar para la enfermedad de Chagas.^{18,19}

2.4 Pruebas NAT

2.4.1. Generalidades y antecedentes de NAT

La donación de sangre es fundamental para el sistema de salud mundial. Se asocia con la transfusión de sangre como un procedimiento para salvar vidas, así como una forma de flebotomía terapéutica como procedimiento terapéutico primario. Cada año se donan más de cien millones de unidades de sangre en todo el mundo^{20,21}.

La realización de transfusiones sanguíneas sin protocolos de seguridad pone en riesgo a millones de donantes de Infecciones Transmisibles por Transfusión (ITT). El screening que se realiza en los donantes de sangre y componentes de sangre incluye a los siguientes agentes entre otros; VIH, VHB, VHC, la sífilis y la malaria, permite evaluar la aparición de infecciones en la población de donantes de sangre y, en consecuencia, la seguridad de las donaciones. Las infecciones asociadas a transfusiones sanguíneas continúan siendo un gran problema globalmente^{8,21}.

Las ITT pueden existir de forma asintomática en los donantes, por lo cual a los donantes se les debe realizar algunas pruebas para detectar enfermedades relacionadas con el comportamiento de alto riesgo. En África, el 5-10% de la transmisión del VIH es causada por transfusiones de sangre contaminadas^{8,21}.

La tecnología de amplificación de ácido nucleico del virus (NAT) fue impulsada por la llamada epidemia del VIH y la hepatitis C (VHC), durante la década de 1990, con miles de receptores de productos sanguíneos y componentes infectados. Los fraccionadores de plasma fueron los primeros en introducir pruebas de NAT además de los procedimientos de reducción de patógenos, para reducir el riesgo de transmisión del virus a través de sus productos. Para lograr un estándar de seguridad similar, NAT también se introdujo para los componentes sanguíneos lábiles²².

Los centros de transfusión alemanes fueron los primeros en comenzar las pruebas NAT internas de sus donaciones en grupos de hasta 96 muestras para detectar el VHC, el virus de la hepatitis B (VHB) y el virus de inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1). Posteriormente, la industria del diagnóstico proporcionó pruebas comerciales de HCV y VIH-1 y luego HBV NAT en plataformas automatizadas.

Le siguieron las pruebas de NAT para VIH-2, el virus de la hepatitis A y el parvovirus B19, impulsados nuevamente por los centros de transfusión con sus pruebas internas. Cuando surgió (SARS-CoV) y el virus del Nilo Occidental, fue el NAT el que permitió a los fabricantes y centros de transfusión introducir instantáneamente pruebas de detección sensibles y específicas²².

La automatización posterior, incluida la preparación de muestras, ha disminuido la complejidad del procedimiento y los costos y también por lo que ya son asequible para los países de ingresos medios y bajos. Actualmente, más de 60 millones de donaciones por año se someten a pruebas NAT en todo el mundo y el riesgo residual restante de transmisión del virus por componentes y productos sanguíneos podría reducirse a casi cero.

La FDA aprobó la utilización de las técnicas de MP-NAT para los 3 virus en el año 2002 en Estados Unidos. En el Reino Unido se recomienda el uso de las pruebas NAT para el tamizaje de los virus VIH y VHC. En España y Ecuador las pruebas MP-NAT se recomiendan para VHB, VHC y VIH mientras que en Brasil proponen utilizar NAT para el tamizaje de VIH y VHC, y para la detección de VHB se recomienda usar anticuerpo anti core viral y el antígeno de superficie ²³.

La automatización hizo posible la reducción del tamaño de la agrupación junto con un mayor rendimiento y sensibilidad. Así, las pruebas de anticuerpos y antígenos pueden ser prescindibles a largo plazo, particularmente en la combinación de pruebas de NAT con reducción de patógenos²².

Se han desarrollado nuevos procedimientos, como PCR de gotas digitales, lab-on-a-chip, secuenciación de nueva generación, y ensayos de antígenos digitales, que son relativamente sensibles. Sin embargo, todos tienen limitaciones, ya sea en rendimiento, tiempo de resultado, costos, automatización, especificidad o la necesidad de NAT como parte integral de la tecnología. Por consiguiente, NAT sigue siendo el método más eficiente para el resultado. La detección de donantes NAT también contribuyó significativamente a nuestro conocimiento sobre qué tan rápido se replican los virus y en la ventana de diagnóstico respectiva²².

2.4.2 Tecnología NAT en el banco de sangre

Los nuevos procedimientos de la biología molecular permiten detectar secuencias genómicas específicas, por lo que se obtiene una especificidad alta. Sondas específicas capturan el ARN o ADN viral. La sensibilidad se alcanza con la técnica de amplificación del material genético.²⁴

Las pruebas NAT se basa específicamente en la amplificación de ácidos nucleicos que dan como resultado la detección de amplicones. Esta tecnología se da a través de los siguientes pasos: extracción de la secuencia genética, amplificación y detección de los amplicones. La amplificación se da por la PCR (Reacción en cadena de Polimerasa) o TMA (Amplificación basada en la transcripción)²⁴.

2.4.2.1 PCR (Reacción en cadena de Polimerasa)

La reacción en cadena de la polimerasa amplifica millones de veces una secuencia de ADN in vitro durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanca es copiada. Para ello, la enzima ADN polimerasa puede sintetizar naturalmente el ADN en las células. Si usamos como sustrato ADN, entonces se denomina PCR, pero si utilizamos ADN complementario (ADNc) que proviene del ARNm se le conoce como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR)²⁵.

La PCR se compone de 3 etapas: desnaturalización, hibridación y extensión. Los termocicladores son los equipos en donde se realiza la reacción, los cuales están diseñados principalmente para establecer una técnica homogénea en donde la temperatura y tiempo necesarios no sean cambiados en cada uno de los ciclos. Para confirmar la amplificación de la secuencia de ADN blanco de interés, amplicones (los productos de la PCR) son analizados en geles de agarosa²⁵.

La RT-PCR (PCR en tiempo real) tiene como meta detectar y cuantificar las secuencias específicas de ADNc mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción. Se diferencia de la PCR por utilizar otro método para analizar los productos de las amplificaciones de la secuencia de ADN blanco. Además, porque detecta los productos de amplificaciones en tiempo real es decir en cada ciclo de la reacción mientras que la PCR no lo realiza²⁵.

Actualmente, la RT-PCR es la técnica más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. El sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado. Uno de los usos más importantes es cuantificar modificaciones muy pequeñas en la expresión génica mediante la detección de los niveles del ARNm procedente de células o tejidos. La cantidad de ARNm que puede detectar la reacción puede ser a partir de concentraciones bajas a diferencia de la PCR, que requiere una mayor concentración ²⁵.

2.4.2.2 TMA (Amplificación basada en la transcripción)

TMA implica la amplificación isotérmica de ARNr (ARN ribosomal) por transcripción inversa y posterior generación de numerosas transcripciones de la ARN polimerasa. Estas copias de ARN se hibridan con una sonda de oligonucleótidos complementaria para la detección mediante una etiqueta quimio luminiscente. TMA produce 100–1000 copias por ciclo, lo que resulta en una multiplicación de 10 mil millones aumentar en 15-30 min. La técnica también ha sido investigada por laboratorios que buscan la seguridad alimentaria y del agua. Se han publicado ensayos clínicos que detectan especies de Enterococos en el agua²⁶.

La empresa Gen Probe implementó un sistema de TMA para detectar las bacterias como Campylobacter Listeria y Salmonella en muestras de alimentos. En primera instancia, las muestras de alimentos se lisan para liberar ARN ribosómico, que es capturado por una sonda específica ligada a poli-A y posteriormente se purifican de la matriz alimentaria utilizando partículas magnéticas recubiertas con poly-T. Las muestras se amplifican utilizando TMA en tiempo real con balizas moleculares marcadas con fluorescencia²⁶.

2.4.3 Minipool NAT (MP-NAT)

Por razones logísticas, las pruebas NAT en los Estados Unidos, en Latinoamérica y en nuestro país se realiza en grupos de muestras de 6 a 16 donantes de sangre designados como minipool NAT o MP-NAT. Si se obtiene un resultado positivo en un conjunto de muestras, se realizan más pruebas para establecer qué muestra tuvo un resultado positivo, y luego se realizan más pruebas más específicas para determinar qué virus está presente²⁷.

Los sistemas de análisis más nuevos pueden distinguir qué virus está presente sin este paso de prueba discriminatorio adicional. La unidad positiva se descarta y todas las unidades negativas del grupo se utilizan para transfusión²⁷.

La NAT de muestras individuales (ID-NAT) es más costosa y requiere más tiempo que MP-NAT, pero ID-NAT tiene una mayor sensibilidad. Se ha estimado que el período de tiempo entre la infectividad de una muestra de sangre (estimado como 1 copia viral por 20 ml) y su detección a través de pruebas NAT puede acortarse de 7 a 5 días para el VHC y 9 a 6 días para el VIH^{28,29}.

Se ha estimado que la disminución del "período de ventana" (es decir, el tiempo entre la infectividad de una muestra y su detección por pruebas de laboratorio) por conversión ID-NAT da como resultado una reducción en el riesgo de desarrollar infección por VIH o VHC por transfusión de sangre del valor actual de 1 por 1 a 2 millones de unidades en los Estados Unidos a 1 por 3 a 4 millones de unidades³⁰.

Sin embargo, tomando MP-NAT como base, se ha estimado que el costo marginal de introducir ID-NAT excede los USD \$ 12 millones por año de vida ajustado por calidad. Esta escasa rentabilidad ha resultado en el uso continuo de MP-NAT para la detección simultánea de VIH, VHC y VHB³⁰.

Las ventajas del uso de las pruebas NAT son la reducción del riesgo de transmisión de infecciones virales asociadas a las transmisiones sanguíneas. Por ejemplo, se documentó la reducción de 95% para VHC y 10% para VIH en Reino Unido. Las limitaciones técnicas (hepatitis ocultas solo detectables en células mononucleares), y el excesivo costo de la implementación en países de tercer mundo son las desventajas de las pruebas NAT³¹.

2.4.4 NAT en VIH

VIH NAT detecta el ARN del VIH-1, lo que disminuye la ventana entre la infección y un resultado positivo de la prueba. En 1999/2000, se introdujo la NAT en minipool para el VIH (NAT-MP) en la detección sistemática de infecciones transfusionales en donantes de sangre ³².

Este ensayo detecta el ARN del VIH, que aparece antes que la proteína viral p24 o el anticuerpo anti-VIH, reduciendo la ventana de infectividad transmitida por transfusión a aproximadamente 9 a 11 días mientras que mediante serología es de 22 días^{27,32}.

En 1996, se añadió el ensayo del antígeno p24 del VIH-1 a la selección de donantes de sangre. Sin embargo, con la autorización de la FDA para el VIH MP-NAT en 2002/2003, la prueba del antígeno p24 del VIH-1 se eliminó como prueba de detección del donante de sangre ³².

Las estimaciones del riesgo de infección por VIH transmitida por transfusión varían de 1 en 1,5 millones a 1 en 2 millones de unidades en los Estados Unidos y de 1 en 7,8 a 10 millones de unidades en Canadá ³².

2.4.5 NAT en Virus de la Hepatitis B

El riesgo de infección por VHB transmitida por transfusión, antes de la implementación del MP-NAT en los Estados Unidos, era entre 1 en 58 000 y 1 en 269 000. Con el cribado de MP-NAT, el riesgo de transmisión del VHB se ha acortado a menos de 1 en 1 millón^{33,34}.

El acortamiento estimado del período de ventana por NAT es de 60 a 25-30 días para el VHB. Esto ha dado lugar a una reducción del riesgo residual de transmisión de componentes sanguíneos infecciosos. Algunos estudios científicos estiman que NAT reduce el período de ventana infecciosa entre un 35% y un 91% para el VIH 1, el VHC y el VHB con ID-NAT (pruebas individuales), mientras que solo entre un 17% y un 87% con pruebas de ácido nucleico de minigrupo (grupos de 16)³⁵.

En un estudio realizado en el norte de la India en 2012, la prevalencia del VHB a través de NAT fue de 1:2972 donaciones, fue mucho más alta que en los estudios realizados en Europa Occidental y EE. UU, donde la prevalencia fue de alrededor de 1: 600,000-1: 350,000 donaciones. Por lo tanto, el cribado NAT de infecciones de transmisión transfusional es más rentable en países de vías de desarrollo en comparación con el mundo desarrollado donde la prevalencia de TTI es baja³⁶.

2.4.6 NAT en Virus de la Hepatitis C

Recombinant ImmunoBlot Assay (RIBA) ya no está disponible comercialmente en los Estados Unidos y en Latinoamérica y la confirmación de la infectividad de VHC en donantes de sangre se realiza mediante los resultados de la detección de MP-NAT o mediante la realización de un segundo ensayo enzimático o inmunoensayo basado en quimioluminiscencia del fabricante³⁷.

La tasa de seropositividad confirmada para el VHC en donaciones de sangre analizadas de donantes de sangre por primera vez y repetidos en una población es de 1 de cada 3000 donaciones.

El riesgo estimado de adquirir el VHC por transfusión de sangre en los Estados Unidos fue de 1:100.000 en 1996, y este riesgo se debió a la falta de anticuerpos anti-VHC durante la ventana de seroconversión. En la primavera de 1999, MP-NAT VHC, que detecta el ARN del VHC en lugar de los anticuerpos, se agregó a la detección sistemática de donantes de sangre³⁷. Se ha estimado que HCV MP-NAT reduce el período de ventana infecciosa indetectable a aproximadamente 8 a 10 días en comparación con la ventana de 70 días usando la prueba de anticuerpos VHC EIA 3.0.

La sensibilidad obtenida con este ensayo NAT está dentro de 5000 UI/ ml de VHC-RNA por donación según requerimientos de la FDA en USA y el Consejo de Europa³⁸.

2.4.7 Períodos de ventana comparativos de las diferentes técnicas utilizadas en la hemovigilancia de transfusiones sanguíneas.

Tabla 1.

Virus	Período de ventana con Serología (Igm-Igg)	Período de ventana con MP -NAT
VIH	22 días	9 a 11 días

VHB	50 a 60 días	25 a 30 días
VHC	70 días	8 a 10 días

Fuente: (39)

2.5 Pruebas serológicas

2.5.1 Virus de Hepatitis C

El diagnóstico de infección por VHC se basa principalmente en la detección de anticuerpos contra polipéptidos de VHC recombinantes y mediante ensayos para detectar ARN de VHC. Estos son inmunoensayos enzimáticos que miden anticuerpos dirigidos contra secuencias NS4, núcleo, NS3 y NS5. Estos no pueden diferenciar entre infección por VHC pasada o actual. Las pruebas directas para el ARN del VHC son necesarias para distinguir entre infección en curso o previa en personas con anticuerpos contra el VHC. La prueba rápida de anticuerpos contra el VHC con rotación rápida puede ser una herramienta esencial de salud pública en entornos no tradicionales. Hay tres escenarios en los que la prueba de ARN del VHC debe considerarse por adelantado: (1) exposición en los últimos seis meses, (2) un huésped inmunocomprometido y (3) sospecha de reinfección⁴⁰.

La evaluación adicional consiste en verificar el genotipo viral, que sigue siendo importante para elegir el régimen óptimo y también para predecir la respuesta a la terapia. Otras evaluaciones iniciales incluyen pruebas de VIH, antígeno de superficie de la hepatitis B, susceptibilidad a las infecciones por el virus de la hepatitis A y la hepatitis B, y detección de otras causas subyacentes de enfermedad hepática, como enfermedad hepática autoinmune, hemocromatosis y enfermedad de Wilson⁴¹. Antes de determinar la estrategia de tratamiento del VHC, el siguiente paso es estadificar la enfermedad, utilizando biopsia hepática (estándar de oro) o modalidades de imagen aprobadas con o sin biomarcadores no invasivos. Por último, todos estos pacientes también deben someterse a un examen de varices y un examen de carcinoma hepatocelular⁴².

2.5.2 Virus de Hepatitis B

El virus de la hepatitis B es muy agresivo que constituye uno de los problemas más grandes a nivel de salud por sus complicaciones y potencial contagio, VHB es uno de las principales causales de cirrosis y cáncer de hígado.

El diagnóstico de hepatitis B además de estar basado en los datos del historial médico, examen físico, se realiza con mayor precisión al detectar la serología del VHB. La serología del VHB sirve para identificar antígenos del virus que se encuentren presentes o los anticuerpos que el sistema inmunológico creó después de la infección viral. Estos resultados se detectan entre 1 y 12 semanas después de la infección inicial, el marcador viral primario corresponde al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). La presencia de HBsAg es detectable desde la cuarta semana de infección y no persiste más de seis meses después de la infección y precede al anticuerpo correspondiente al antígeno de superficie de la hepatitis B (anti-HBs)⁴³.

El período de ventana es el período de tiempo que ocurre entre la desaparición de HBsAg y la aparición de anti-HBs. Es importante reconocer que otra serología viral también podría ser indetectable durante este período ventana. El HBsAg es el primer marcador virológico detectable e indica presencia una infección aguda⁴³.

La destrucción inmuno-mediada de la nucleocápside permite la exposición del antígeno central (HBcAg) o el antígeno e (HBeAg) con el posterior desarrollo de anticuerpos. Las enzimas hepáticas se elevan al final de la fase replicativa de la infección por procesos inflamatorios activos. Sin embargo, las transaminasas hepáticas se mantienen dentro de sus rangos de referencia por lo cual no son una guía para diagnosticar una sospecha de infección por VHB⁴⁴.

La presencia de anticuerpos contra HBsAg corresponde a un estado inmunizado y la presencia de anticuerpos contra HBeAg se refiere a estado de infección crónica. La transición entre una fase aguda inmuno activa a un estado portador inactivo se conoce como seroconversión y está marcada por el desarrollo espontáneo de anticuerpos contra HBeAg, esta se ha relacionado con resultados más favorables cuando ocurre de manera

anterior ⁴³, la persistencia de HBsAg en suero durante seis meses corresponde al punto de corte entre infección aguda y crónica.

2.5.2.1 Interpretación de marcadores serológicos

Los marcadores serológicos son: antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpo contra el antígeno de superficie de la hepatitis B (anti-HBs), anticuerpo frente al antígeno core del VHB (Igm anti-HBc), anticuerpo frente al antígeno core del VHB (Igg anti-HBc), antígeno (HBeAg) y anticuerpo frente al HbeAg ⁴³⁻⁴⁵.

- HBsAg positivo, pero negativo anti-HBc y negativo anti-HBs: se refiere a una infección aguda.
- HBsAg positivo, Igm anti-HBc positivo pero negativo anti-HBs: infección aguda. La infección crónica por VHB tiene: ALT alta, IgG anti-HBc. Un portador inactivo puede tener: ALT normal y IgG anti-HBc.
- HBsAg negativo, pero positivo anti-HBc y anti-HBs: recuperación de una infección aguda (infección remota).
- Anti-HBs: inmunidad contra la vacunación.
- Anti-HBc: período de ventana, infección remota o falso positivo.
- HBsAg positivo, anti-HBc positivo y anti-HBs positivo: infección aguda y crónica por VHB, probablemente con diferentes cepas de hepatitis B.
- HBeAg: Carga viral, proporciona datos de carga viral, permite conocer si el virus aún está activo y es infeccioso.
- Anti-HBe: fase replicativa baja.
- ADN viral de la hepatitis B: detección de carga viral.
- Genotipo de la hepatitis B: proporciona información sobre la progresión de la enfermedad y la respuesta a los interferones.

2.5.3 VIH

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un retrovirus envuelto, contiene 2 copias de un genoma de ARN monocatenario. Es causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Existe un período entre 4 a 10 semanas posterior al contagio de VIH, este es el tiempo que debe transcurrir para que se presenten síntomas de infección primaria. Posterior a ese período se produce una infección crónica por VIH⁴⁶. El SIDA se caracteriza por infecciones oportunistas y tumores, que generalmente son fatales y altamente mortales sin tratamiento.

Todos los pacientes de 13 a 65 años deben ser examinados al menos una vez, independientemente del riesgo. Los pacientes con factores de riesgo de contraer el VIH deben someterse a la prueba con una frecuencia de entre 3 y 6 meses. La prueba del VIH de cuarta generación es la prueba recomendada y puede detectar el VIH tan pronto como 14 días después de la transmisión mediante la detección del Ag p24. La carga viral del ARN del VIH se puede realizar si se sospecha una infección aguda (menos de 2 semanas después de una posible exposición al VIH). La infección por VIH puede permanecer sin ser detectada por años. Sin embargo, hay varias pruebas para diagnosticarlo^{46,47}:

- Ensayo de cuarta generación: detecte anticuerpos específicos y antígenos de VIH P24.
- Prueba rápida: use sangre o saliva para detectar una infección por VIH en cuestión de horas.
- Reacción en cadena de la polimerasa: puede ser un diagnóstico o una prueba confirmatoria de infección por VIH y puede proporcionar información sobre la carga viral.

2.5.3.1 Pruebas de inmunoensayo enzimático de VIH

El inmunoensayo enzimático (IEE) se utiliza comúnmente como ensayo de detección de muchas enfermedades infecciosas, incluido el VIH. Estos ensayos se utilizan porque son muy sensibles y, en general, susceptibles de automatización, lo que facilita las pruebas

de gran volumen. El IEE del VIH se ha vuelto cada vez más sensible y específico desde que comenzaron las pruebas del VIH a principios de la década de 1980. Esto ha acortado el período de ventana, de hasta 12 semanas o más en los primeros días de las pruebas de diagnóstico. La desventaja de una prueba tan altamente sensible es que la prueba produce falsos positivos, cuyo número y tipo varían según el ensayo utilizado y la prevalencia del VIH en la población analizada. Todos los laboratorios de diagnóstico del VIH deben confirmar los resultados positivos repetidos del cribado IEE mediante un ensayo de confirmación, generalmente con Western blot⁴⁷.

2.5.3.2 Antígeno p24

Las pruebas de antígeno p24 también se basan en IEE, utilizan anticuerpos para capturar el antígeno p24 alterado del suero del paciente. Los resultados positivos que son repetibles deben confirmarse con un procedimiento de neutralización. Esta prueba es útil para muestras de pacientes que son de alto riesgo y sintomáticos, pero VIH IEE negativos, o para muestras que son IEE positivas, pero Western blot negativo o indeterminado⁴⁷.

2.6 ELISA

ELISA es una prueba de inmunoensayo enzimático, este básicamente lo que hace es detectar los anticuerpos en la sangre. Esta prueba tiene una alta sensibilidad y especificidad. Se lo utiliza mayormente para identificar anticuerpos de enfermedades virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias^{48, 49}.

Estos estudios inmunológicos son procesos en los cuales se utilizan anticuerpos enlazantes específicos que son empleados como conjugados no marcados o enzimáticos. Estos pueden ser de tipo monoclonal o policlonal, pueden ser solubles o inmóviles, además reaccionan con un determinante antigénico de un antígeno o de un anticuerpo primario. Esta prueba tiene algunos mecanismos de los cuales se hablará brevemente: ELISA Directo, ELISA Indirecto, ELISA Sándwich⁴⁸.

2.6.1 ELISA Directo

El ELISA directo es más simple y rápido de todos por tanto también el más empleado. El anticuerpo primario marcado con una enzima se une de forma directa al antígeno de

interés y así permite que este sea detectado y cuantificado. Sin embargo, tiene una alta sensibilidad, pero menor especificidad lo que a veces puede provocar falsos positivos o negativos⁴⁹.

El procedimiento consiste en:

El antígeno se queda inmóvil sobre la placa de ahí se añade un anticuerpo primario marcado con una enzima que se va a juntar al antígeno de interés. A continuación, se agrega el sustrato que al estar en contacto con la enzima va a ser visible y cuantificable el antígeno de interés.

2.6.2 ELISA Indirecto

El procedimiento es similar al de ELISA directo, pero se agrega un paso más y un anticuerpo secundario lo que ayuda a que se pueda ampliar la captación de la prueba.

El antígeno se queda inmóvil sobre la placa de ahí se agrega el antígeno primario que no se lo marca y este se va a unir al antígeno de interés, de ahí se agrega el anticuerpo secundario marcado junto a una enzima que se va a unir al anticuerpo primario. Luego se agrega el sustrato que cuando se junta con la enzima da como resultado la detección y cuantificación del antígeno⁴⁹.

2.6.3 ELISA Sandwich

La diferencia de este tipo de ELISA es que el antígeno queda inmóvil entre dos anticuerpos, uno es de captura y el siguiente es de detección.

Este proceso inicia fijando el anticuerpo de captura sobre la placa, a esto se agrega la muestra con el antígeno de interés que se une al anticuerpo de captura, luego se agrega el anticuerpo de detección que va junto antígeno que también se une con el anticuerpo de captura. Si se identifica que el anticuerpo de detección ya está conjugado con una enzima entonces se pasa inmediatamente al último paso, o se añade un anticuerpo secundario que va con una enzima para que pueda unirse al anticuerpo de detección. Por último, se añade el sustrato el cuál emite la detección y cuantificación del antígeno⁴⁷⁻⁵⁰.

2.6.4 ELISA Competitivo

El ELISA competitivo es la técnica donde dos antígenos compiten por unirse al anticuerpo primario, el antígeno de referencia con el antígeno de la muestra. Además, se lo conoce como ELISA de inhibición.

Normalmente se lo utiliza para la identificación de antígenos en poca cantidad. Su procedimiento consiste en fijar el antígeno sobre la placa. Si existe un extra de anticuerpo primario sin marcar se va a incubar junto a la muestra que tiene el antígeno de interés para formar complejos antígeno-anticuerpo. De ahí se agrega la mezcla de antígeno-anticuerpo, el antígeno de referencia compite con el antígeno de la muestra para juntarse al anticuerpo. Luego se lava la placa para eliminar los complejos antígeno-anticuerpo solubles. Se va a añadir un anticuerpo secundario a la placa con la enzima para que se unan al anticuerpo primario que está junto al antígeno de referencia. Por último, se va a agregar el sustrato que al juntarse con la enzima manda una señal inversamente proporcional a la cantidad de antígeno que tiene la muestra^{49,50}.

2.7 Contraindicaciones y criterios de rechazo de donantes

La inelegibilidad del donante son el fundamento de las contraindicaciones. Estos criterios se actualizan según la recomendación de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB). La AABB y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) deben ser consultados para cualquier pregunta o inquietud con respecto a las regulaciones y prácticas actuales de donación de sangre⁵¹.

De acuerdo con AABB, para ser elegible para donar, los donantes de sangre potenciales deben tener al menos 16 años, pesar al menos 110 libras y no estar actualmente enfermo, no tener hipertensión, diabetes o estar anémico. Los signos vitales del donante también deben ser monitoreados. Otro de los criterios establecidos por la FDA para la donación de sangre en los Estados Unidos es el nivel de hemoglobina para los hombres debe ser 13.0 g/ dl y para las mujeres 12.5 g / dl ⁵². Según la AABB, los donantes elegibles pueden donar una vez cada 8 semanas o 56 días. Si un donante elige donar dos unidades al mismo tiempo (la llamada donación doble de glóbulos rojos), el donante no puede volver a donar glóbulos rojos durante 16 semanas.

La causa número uno para el aplazamiento de donantes corresponde a niveles bajos de hemoglobina, esto representa el aplazamiento en hasta uno de cada 10 intentos de donación de sangre. Las causas de la baja hemoglobina más comunes es el bajo consumo de hierro en la dieta, y está contraindicado en estos pacientes ya que se pierde una gran cantidad de hierro cada vez que una persona dona sangre⁵².

De acuerdo con la AABB y FDA, 56 días es un período de tiempo insuficiente para la reconstrucción de depósitos de hierro perdidos por la donación, y esto puede contribuir a los niveles bajos de hemoglobina en los donantes de sangre repetidos, por esta razón los donantes repetidos pueden beneficiarse de los suplementos de hierro para reconstruir las reservas de hierro más rápidamente. La cantidad de hierro agotado por una sola donación también varía de persona a persona y entre hombres y mujeres, y la capacidad de reponer las reservas de hierro también difiere entre las personas⁵².

Las contraindicaciones para donar sangre según la AABB incluyen:

- Cualquiera que haya usado agujas para tomar drogas o cualquier sustancia no recetada por un médico
- Hombres que han tenido contacto sexual con otros hombres en los últimos 12 meses.
- Cualquier persona con un resultado positivo para el VIH.
- Hombres y mujeres que alguna vez han tenido relaciones sexuales por dinero.
- Cualquier persona que haya tenido hepatitis desde su undécimo cumpleaños.
- Cualquier persona que haya tenido babesiosis o enfermedad de Chagas
- Cualquiera que haya tomado Tegison para la psoriasis.
- Cualquier persona que tenga factores de riesgo para la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) o que tenga un pariente sanguíneo con la enfermedad.

Además, la AABB enumera las pruebas actuales de enfermedades infecciosas realizadas en sangre donada de la siguiente manera:

- Antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg).
- Anticuerpo central de hepatitis B (anti-HBc).
- Anticuerpo del virus de la hepatitis C (anti-VHC).
- Anticuerpos VIH-1 y VIH-2 (anti-VIH-1 y anti-VIH-2).
- Anticuerpos HTLV-I y HTLV-II (anti-HTLV-I y anti-HTLV-II).
- Prueba serológica para sífilis.
- Prueba de amplificación de ácido nucleico (NAT) para ácido ribonucleico (ARN) VIH-1, ARN de VHC y ARN de VNO.
- Prueba de amplificación de ácido nucleico (NAT) para el ácido desoxirribonucleico del VHB.
- Prueba de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi*, el agente de la enfermedad de Chagas ".

Cualquier donante con las infecciones anteriores se difiere de la donación de sangre. Sin embargo, se podrían dar falsos negativos debido a que existen agentes infecciosos que pueden estar a un título demasiado bajo para detectar para los cuales no hay una prueba aprobada. También hay muchos agentes infecciosos que simplemente no se prueban debido a factores como el costo, la disponibilidad, la prevalencia, entre otros⁵¹.

Debido a esta problemática se ha desarrollado recientemente mecanismos en la donación de sangre y la práctica del banco de sangre / transfusión que permiten la reducción o inactivación de patógenos. La reducción de patógenos se refiere a la práctica proactiva de eliminar posibles patógenos de la sangre donada. Actualmente, el método más utilizado para limitar las infecciones asociadas a transfusiones es analizar la sangre en busca de ciertos patógenos y eliminar las unidades (o diferir los donantes) que son positivas para ese agente específico (un proceso reactivo). Sin embargo, las modalidades de reducción de patógenos se dirigen a todos los ácidos nucleicos, el cuál es un proceso proactivo como un medio para prevenir infecciones transmitidas por transfusiones⁵¹

3. Materiales y Métodos

3.1 Tipo y diseño de estudio

Estudio de corte transversal, observacional y descriptivo. Los datos se extrajeron de las historias clínicas provenientes del sistema clínico Edelphyn del banco de sangre del Omni Hospital, período enero 2017 a diciembre 2020. La base de datos y el análisis se realizaron en los programas SPSS v25.0 Y STATA.

3.2 Área de estudio, población de referencia de estudio

Se realizó en la ciudad de Guayaquil, Ecuador, en el Banco de sangre del Hospital Omni Hospital.

3.3 Población y muestra

Se incluyó en el estudio a los donantes de sangre que acudieron al banco de sangre del Omni Hospital durante el periodo 2017-2020 que cumplan los criterios de inclusión y exclusión. La muestra fue de 210 donantes y se escogió aleatoriamente.

3.4 Objetivos

3.4.1 Objetivo General

Evaluar la eficacia de las pruebas serológicas en la detección de infección por VHB, VHC y VIH en posibles donantes atendidos en el banco de sangre del Omni Hospital en periodo de 2017 a 2020.

3.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar la especificidad y sensibilidad de las pruebas serológicas utilizando las pruebas NAT como gold standard en la detección de VIH, VHB y VHC en posibles donantes de sangre.
- Establecer la tasa de falsos positivos y la tasa de falsos negativos de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de VIH, VHB y VHC en posibles donantes de sangre.
- Determinar la prevalencia de infecciones de VIH, VHB y VHC en los posibles donantes de sangre.

3.5 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión

- Pacientes con edad comprendida entre los 18 y 60 años.
- Donantes que acudan voluntariamente.

Criterios de Exclusión

- Mujeres que cursen embarazo actual.
- Donantes voluntarios que registren datos incompletos en la historia clínica.

3.6 Parametrización de las variables

Se utilizó como variables demográficas el sexo, la edad de los donantes de sangre. Se obtuvo como variables analíticas el tipo de sangre de los donantes asociado a los resultados serológicos y de NAT de los virus VIH, VHB y VHC. En el Anexo 1 se encuentra la tabla de parametrización de las variables.

3.7 Análisis Estadístico

Las variables cuantitativas de distribución normal se reportaron con la media \pm desviación estándar, las variables cuantitativas de distribución no paramétrica con mediana \pm rango intercuartil y las cualitativas con frecuencia y porcentaje.

Para la valoración de la eficacia de la prueba serológico como prueba diagnóstica de enfermedades virales, se empleó un análisis de validez interna y externa, mediante la tabulación de tablas cruzadas. Con diagnóstico obteniendo sensibilidad y especificidad y valores predictivos positivos y negativos.

4. Resultados

Tabla 2. Características generales de la población

Variable	Valor (n = 210)
Edad (años)	37 (28 – 47)
Sexo (M; %)	118 (56.20%)
Tipo de sangre (n, %)	
• O+	100(47.60%)
• O-	21 (10.00%)
• A+	44 (21.00%)
• A-	11 (5.20%)
• B+	15 (7.10%)
• B-	4 (1.90%)
• AB+	11 (5.20%)
• AB-	4 (1.90%)
Serología viral (positivo, %)	
• VIH	27 (12.90%)
• VHB	24 (11.40%)
• VHC	14 (6.70%)
NAT viral (positivo, %)	
• VIH	28 (13.30%)
• VHB	36 (17.10%)
• VHC	9 (4.30%)
Apto para donar (Sí, %)	126 (60.00%)

Las variables cualitativas están expresadas como porcentaje; las variables continuas de distribución normal como media \pm desviación estándar y las de distribución no paramétrica como mediana (rango intercuartil). Fuente: Omni Hospital, periodo 2017 – 2020. Autores: Aldana Oliveros y Giancarlo Amory.

La población estudiada constó de 210 pacientes. De estos, la mayor parte perteneció al sexo masculino, representando el 56.20% de la población, con una edad de 37 años como mediana. En cuanto al tipo de sangre, los pacientes O+ fueron los más prevalentes, correspondiendo al 47.60% de la población. En segundo y tercer lugar se tuvo pacientes con sangre A+ y O-, respectivamente.

En cuanto a la infección viral, la mayor parte de la población tuvo pruebas de NAT positivas para infección por virus de hepatitis B (17.10%), quedando en segundo lugar la infección por VIH (13.30%). No obstante, los resultados serológicos mostraron un contraste con los resultados de las pruebas de NAT, en donde se encontró que mayor

parte de donantes tuvo serología positiva para VIH (12.90%), quedando en segundo lugar la infección por virus de hepatitis B (11.40%). Finalmente, un total de 84 pacientes no fueron aptos para donar sangre, aunque de estos, sólo 73 tuvieron positividad para alguno de los virus evaluados.

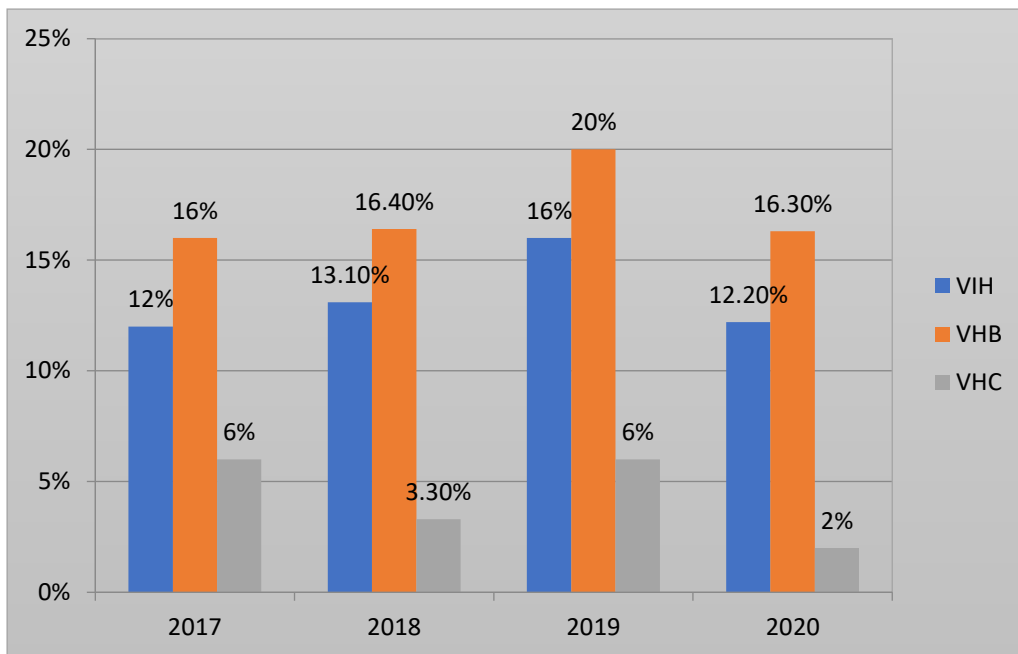


Gráfico 1. Distribución infecciones virales por año.

Dentro de la población estudiada, se pudo encontrar que durante los años de 2018 y 2019 existió la mayor cantidad de donantes con infecciones por VIH y virus de hepatitis B. En el año 2018 se encontró que el 13.10% de la población presentó VIH, mientras que el 16.40% presentó hepatitis B. Por otra parte, en el año 2019, el 16.00% de la población presentó VIH, mientras que el 20.00% presentó infección por hepatitis B. Como se puede observar en gráfico 1, hasta el 2019 existió una tendencia de incremento de infecciones por VIH y VHB, con el subsecuente decremento para el año 2020.

Tabla 3. Evaluación de eficacia de serología de VIH frente a NAT de VIH

	NAT reactiva	NAT no reactiva	Total
Serología reactiva	17	10	27
Serología no reactiva	11	172	183
Total	28	182	210
S	60.71%	E	94.51%
TFN	39.29%	TFP	5.49%
VPP	62.96%	VPN	93.99%
S: Sensibilidad; E: Especificidad; TFN: Tasa de falsos negativos; TFP: Tasa de falsos positivos			

La tabla 3 engloba la eficacia de la prueba de serología de VIH al compararlo con el resultado del NAT de VIH, considerado el gold estándar. Se encontró que la sensibilidad de la prueba serológica fue de 60.71%, mientras que la especificidad fue del 94.51%. Por otro lado, se halló que la tasa de falsos positivos y falsos negativos fue pequeña, con valores inferiores al 40%. En cuanto a los parámetros de validez externa, se encontró un valor predictivo positivo del 62.96% y valor predictivo negativo del 93.99%.

Tabla 4. Evaluación de eficacia de serología de VHB frente a NAT de VHB

	NAT reactiva	NAT no reactiva	Total
Serología reactiva	15	9	24
Serología no reactiva	21	165	186
Total	36	174	210
S	41.67%	E	93.10%
TFN	58.33%	TFP	6.90%
VPP	62.50%	VPN	88.7%
S: Sensibilidad; E: Especificidad; TFN: Tasa de falsos negativos; TFP: Tasa de falsos positivos			

La tabla 4 engloba la eficacia de la prueba de serología de VHB al compararlo con el resultado del NAT de VHB, considerado el gold estándar. Se encontró que la sensibilidad de la prueba serológica fue de 41.67%, mientras que la especificidad fue del 93.10%. Por otro lado, se halló que la tasa de falsos positivos fue pequeña (6.90%), en comparación de la tasa de falsos negativos (58.33%). En cuanto a los parámetros de validez externa, se encontró un valor predictivo positivo del 62.50% y valor predictivo negativo del 82.86%.

Tabla 5. Evaluación de eficacia de serología de VHC frente a NAT de VHC

	NAT reactiva	NAT no reactiva	Total
Serología reactiva	6	8	14
Serología no reactiva	3	193	196
Total	9	201	210
S	66.67%	E	96.02%
TFN	33.33%	TFP	3.98%
VPP	42.86%	VPN	98.47%
S: Sensibilidad; E: Especificidad; TFN: Tasa de falsos negativos; TFP: Tasa de falsos positivos			

Finalmente, la tabla 5 engloba la eficacia de la prueba de serología de VHC al compararlo con el resultado del NAT de VHC, considerado el gold estándar. Se encontró que la sensibilidad de la prueba serológica fue de 66.67%, mientras que la especificidad fue del 96.02%. Por otro lado, se halló que la tasa de falsos negativos fue reducida (33.33%), pero aún más lo fue la tasa de falsos positivos (3.98%). En cuanto a los parámetros de validez externa, se encontró un valor predictivo positivo del 42.86% y valor predictivo negativo del 98.47%.

5. Discusión

El presente estudio permitió evaluar la eficacia de pruebas serológicas para la detección de tres enfermedades virales: VIH, VHB y VHC. Para esto se comparó los resultados de las pruebas serológicas frente a los resultados de las pruebas de ácidos nucleicos (NAT, por sus siglas en inglés), consideradas el gold standard. Estas pruebas fueron realizadas en los productos sanguíneos del banco de sangre del Omni Hospital. En Ecuador, Haro et al, realizaron un estudio con características similares, pero abordaje distinto⁵³. En él, se encontró que las pruebas serológicas tienen una sensibilidad del 100% y especificidad del 99%.⁵³.

A diferencia de esto, en el estudio realizado se encontró que la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas no alcanzan los valores presentados por Haro et al. En el caso de VIH, las pruebas serológicas obtuvieron una sensibilidad del 60.71% y una especificidad del 94.51%; para el VHB, la sensibilidad fue del 41.67% y la especificidad del 93.10%; finalmente para el VHC, se obtuvo una sensibilidad del 66.67% y especificidad del 96.02%. Como se puede observar, las pruebas serológicas ponen en manifiesto una elevada tasa de falsos negativos (VIH: 39.23%; VHB: 58.33%; VHC: 33.33%), que no es compensada por la sensibilidad de las pruebas, la cuál es reducida. Por este motivo, se concuerda con lo expresado por Hato et al, que recomiendan implementar las pruebas NAT para el diagnóstico de infecciones virales en los productos sanguíneos.

Por otra parte, un factor importante en la toma de decisión de qué pruebas emplear es el costo de estas. Janssen MP et al encontró que el costo anual de pruebas serológicas varía entre 11000 a 92000 dólares, mientras que el de las pruebas NAT varía entre 12000 y 113000 dólares. No obstante, el uso de ambas pruebas ronda los 217000 dólares⁵⁴. Al observar que en el banco de sangre del Omni Hospital se emplean las pruebas combinadas, se puede inducir que el gasto que realizan anualmente es elevado, a pesar de que los costos y eficacia conjunta es pobre. Esta razón también motiva al cese del uso de pruebas serológicas como cribado de VIH, VHB y VHC.

Por otro lado, Safic Stanic H et al proporcionan la información de que, a diferencia de las pruebas serológicas, las pruebas NAT tienen un período de ventana de detección viral menor⁵⁵. Sin embargo, en nuestro estudio no se determinó el periodo de ventana de las pruebas NAT y serológicas, pero se puede determinar que las pruebas NAT son las pruebas de elección para detectar infecciones virales en los hemoderivados.

6. Conclusiones

* En conclusión, se logró cumplir con los objetivos planteados anteriormente. Referente a la eficacia de las pruebas serológicas frente a las NAT, se observó que la sensibilidad de las pruebas serológicas en el VIH fue de 60.71%, mientras que la especificidad fue del 94.51%. En relación con la infección por VHB se encontró que la sensibilidad de la prueba serológica fue de 41.67%, mientras que la especificidad fue del 93.10%. Además, la sensibilidad de la prueba serológica en la infección por VHC fue de 66.67% y la especificidad fue del 96.02%. Por consiguiente, se concluye que las pruebas serológicas no pueden ser el único método de cribado ya que sus valores de sensibilidad son reducidos para los tres tipos de infecciones. Por lo cual no ayudarían a identificar de forma veraz los posibles donantes que estén o no infectados.

* Con respecto a los valores de falsos positivos y negativos, se identificó que las pruebas serológicas poseen una elevada tasa de falsos negativos VIH: 39.23%; VHB: 58.33%; VHC: 33.33%. En relación con la tasa de falsos positivos, los valores fueron VIH: 5.48%; VHB 6.90%; VHC: 3.98%. Con relación a los falsos positivos y falsos negativos de las pruebas serológicas, el valor predictivo positivo de las pruebas serológicas en los componentes sanguíneos es reducido (VIH: 62.96%; VHB: 62.50%; VHC: 42.86%), por lo que se sigue manteniendo la postura a favor de las pruebas NAT como pruebas diagnósticas de las infecciones virales en componentes sanguíneos.

* Se logró determinar la prevalencia de las infecciones por VIH, VHB y VHC en los posibles donantes. La prevalencia de infección en posibles donantes fue de 17.10% el VHB, 13.30% el VIH y 4.30% el VHC. El VHC tuvo una disminución en su valor al pasar los años terminando en el 2020 con solo un 2% por otro lado, la infección por VIH Y VHB aumentaron al transcurrir los años, salvo en el 2020, que se redujo un 3,8% en la

infección por VIH y un 3,7% en el caso del VHB. No obstante, es importante notar que esta reducción se dio en el contexto de la pandemia por COVID-19, por lo que los datos del 2020 son de carácter incierto y tentativamente se concluye que las infecciones de VIH y VHB van en aumento en el país.

Por último, se encontró que la media de edad de los posibles donantes es de 37 años en su mayor parte. De igual manera, la mayor parte de los donantes fueron de sexo masculino, de tipo de sangre O+. Con esto quedó en segundo lugar los pacientes de tipo de sangre O-.

7. Recomendaciones

Entre las recomendaciones sugeridas se plantea un aumento del cribado de estas tres infecciones a nivel de la atención primaria en salud, dado su carácter creciente en incidencia en los últimos años.

Se recomienda la implementación de la prueba de amplificación de ácidos nucleicos de forma individualizada (ID-NAT) a todos los bancos de sangre que estén en buenas condiciones socioeconómicas. Es decir, implementar ID-NAT por el Minipool (MP-NAT) para disminuir la tasa de errores y proporcionar resultados independientes para cada posible donante.

8. Bibliografía

1. Sergio Ayala De la Cruz, A Amador Flores-Aréchiga, Tamizaje serológico en donadores de México: avances y tecnología. *Rev Med Inst Mex.* 2019;6.
2. Steven Kleinman, MD. Blood donor screening: Laboratory testing. En: *Uptodate.* 2020;12.
3. Jennifer Rodríguez Meza. Indicadores de pruebas confirmatorias para donantes doblemente reactivos en el banco de sangre de la e.s.e. hospital San Jerónimo de Montería durante el año 2016. *Universidad de Cordoba;* 2017;51.
4. World Health Organization. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations. 2009;66.
5. Bartonjo G, Oundo J, Ng'ang'a Z. Prevalence and associated risk factors of transfusion transmissible infections among blood donors at Regional Blood Transfusion Center Nakuru and Tenwek Mission Hospital, Kenya. *Pan Afr Med J [Internet].* 16 de septiembre de 2019 [citado 3 de septiembre de 2020];34. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6859030/>
6. Myers DJ, Collins RA. Blood Donation. En: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 20 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525967/>
7. Chassé M, McIntyre L, English SW, Tinmouth A, Knoll G, Wolfe D, et al. Effect of Blood Donor Characteristics on Transfusion Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transfus Med Rev.* abril de 2016;30(2):69-80.
8. Vassallo R, Goldman M, Germain M, Lozano M, BEST Collaborative. Preoperative Autologous Blood Donation: Waning Indications in an Era of Improved Blood Safety. *Transfus Med Rev.* octubre de 2015;29(4):268-75.
- 9.- Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion.* 2009.49:1S–29S
10. Jones KE, Levy MA et al Global trends in emerging infectious diseases. *Nature.* 2008.451:990–994.
- 11.- Fong IW. Blood Transfusion-Associated Infections in the Twenty-First Century: New Challenges. *Curr Trends Concerns Infect Dis.* 7 de marzo de 2020;191-215.
12. Cardo LJ. Leishmania: risk to the blood supply. *Transfusion.* 2008.48:1333–1341
- 13.- Stramer SL. Current perspectives in transfusion-transmitted infectious diseases: emerging and re-emerging infections. *ISBT Sci Ser.* julio de 2014;9(1):30-6.

14. Kim MJ, Shin JY, Oh JA, Jeong KE, Choi YS, Park Q, et al. Identification of transfusion-transmitted hepatitis A through postdonation information in Korea: results of an HAV lookback (2007-2012). *Vox Sang*. 13 de julio de 2018;
15. Candotti D, Assennato SM, Laperche S, Allain J-P, Levicnik-Stežinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. *Gut*. 2019;68(2):313-21.
16. Ribeiro Barbosa J, Sousa Bezerra C, Carvalho-Costa FA, Pimentel de Azevedo C, Lopes Flores G, Baima Colares JK, et al. Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 17 de 2017;14(7).
17. De Mendoza C, Caballero E, Aguilera A, Requena S, de Lejarazu RO, Pirón M, et al. Human T-lymphotropic virus type 1 infection and disease in Spain. *AIDS Lond Engl*. 31 de 2017;31(12):1653-63.
18. Cláudia Freitas Lidani K, Andrade FA, Kozłowski RK, Luz PR, Messias-Reason IJ. Case Report: High Mannose-Binding Lectin Serum Determined by MBL2 Genotype and Risk for Clinical Progression to Chagasic Cardiomyopathy: A Case Report of Three Patients. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;100(1):93-6.
19. Pereira G de A, Louzada-Neto F, Barbosa V de F, Ferreira-Silva MM, de Moraes-Souza H. Performance of six diagnostic tests to screen for Chagas disease in blood banks and prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among donors with inconclusive serology screening based on the analysis of epidemiological variables. *Rev Bras Hematol E Hemoter*. 2012;34(4):292-7.
20. Drew VJ, Barro L, Seghatchian J, Burnouf T. Towards pathogen inactivation of red blood cells and whole blood targeting viral DNA/RNA: design, technologies, and future prospects for developing countries. *Blood Transfus Trasfus Sangue*. octubre de 2017;15(6):512-21.
21. Fessehaye N, Naik D, Fessehaye T. Transfusion transmitted infections - a retrospective analysis from the National Blood Transfusion Service in Eritrea. *Pan Afr Med J*. 2011;9:40.
22. Roth WK. History and Future of Nucleic Acid Amplification Technology Blood Donor Testing. *Transfus Med Hemotherapy*. abril de 2019;46(2):67-75.
- 23.- Secco A, Pichon-Riviere A, Augustovski F, García Martí S, Alcaraz A, Bardach A, Ciapponi A, López A, Rey-Ares L. Evaluación de técnicas de amplificación de ácido nucleico (NAT) para detección del virus de la inmunodeficiencia humana, Hepatitis C y Hepatitis B en bancos de sangre. *Documentos de Evaluación de Tecnologías Sanitarias*,

Informe de Respuesta Rápida N° 407, Buenos Aires, Argentina. Junio 2015. Disponible en www.iecs.org.ar.

24. González-Díez R. VII. NAT y seguridad de la transfusión sanguínea. *Medigraphic*. 2004;140(3):4.

25. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Medigraphic*. 2013;2:9.

26. Wernecke M, Mullen C. Molecular Biology | Molecular Biology in Microbiological Analysis. En: Batt CA, Tortorello ML, editores. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2014 [citado 25 de octubre de 2020]. p. 808–14. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123847300002251>

27. Busch MP, Bloch EM, Kleinman S. Prevention of transfusion-transmitted infections. *Blood*. 25 de 2019;133(17):1854-64.

28. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion*. febrero de 2005;45(2):254-64.

29. Busch MP. Transfusion-transmitted viral infections: building bridges to transfusion medicine to reduce risks and understand epidemiology and pathogenesis. *Transfusion*. septiembre de 2006;46(9):1624-40.

30. Jackson BR, Busch MP, Stramer SL, AuBuchon JP. The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV, and HBV in whole-blood donations. *Transfusion*. junio de 2003;43(6):721-9.

31.- Ayala-De la Cruz S, Flores-Aréchiga A, Llaca-Díaz J, et al. Tamizaje serológico en donadores de México: avances y tecnología. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2019;57(1):30-35.

32.- Glynn SA, Busch MP, Dodd RY, Katz LM, Stramer SL, Klein HG, et al. Emerging infectious agents and the nation's blood supply: responding to potential threats in the 21st century. *Transfusion*. febrero de 2013;53(2):438-54.

33. Stramer SL, Wend U, Candotti D, Foster GA, Hollinger FB, Dodd RY, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*. 20 de enero de 2011;364(3):236-47.

34. Stramer SL, Notari EP, Krysztof DE, Dodd RY. Hepatitis B virus testing by minipool nucleic acid testing: does it improve blood safety? *Transfusion*. octubre de 2013;53(10 Pt 2):2449-58.

35. Awan SA, Junaid A, Sheikh S. Transfusion Transmissible Infections: Maximizing Donor Surveillance. *Cureus* [Internet]. 28 de diciembre de 2018 [citado 7 de noviembre de 2020]; Disponible en: <https://www.cureus.com/articles/15923-transfusion-transmissible-infections-maximizing-donor-surveillance>
- 36.- El Ekiaby M, Lelie N, Allain JP: Nucleic acid testing (NAT) in high prevalence-low resource settings. *Biologicals*. 2010, 38:59-64
- 37.- Zou S, Stramer SL, Dodd RY. Donor testing and risk: current prevalence, incidence, and residual risk of transfusion-transmissible agents in US allogeneic donations. *Transfus Med Rev*. abril de 2012;26(2):119-28.
- 38.- Tabor E, Epstein JS. NAT screening of blood and plasma donations: evolution of technology and regulatory policy. *Transfusion* 2002;42(9):1230-1237.
39. Silvia Clelia Chaves, Verónica Laura Sanguine. Informe Ultrarrápido de Evaluación de Tecnología Sanitaria: Técnicas de testeo de ácido nucleico (NAT) para el diagnóstico pretransfusional de VIH, VHB, VHC [Internet]. Argentina: Ministerio de Salud de la Nación; 2018 may p. 17. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/07/1006313/tecnicas-de-testeo-de-acido.pdf>
40. Basit H, Tyagi I, Koirala J. Hepatitis C. En: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 20 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430897/>
41. Maticic M, Zorman JV, Gregorcic S, Schatz E, Lazarus JV. Changes to the national strategies, plans and guidelines for the treatment of hepatitis C in people who inject drugs between 2013 and 2016: a cross-sectional survey of 34 European countries. *Harm Reduct J*. 09 de 2019;16(1):32.
42. Simoncini GM, Koren DE. Hepatitis C Update and Expanding the Role of Primary Care. *J Am Board Fam Med JABFM*. junio de 2019;32(3):428-30.
43. Boubker S, Zerrouki N, Sidqi Z, Moussi M, El Mekkaoui A, Khannoussi W, et al. Prevalence of hepatitis B and C in blood transfusion center, Oujda Morocco (2013-2015). *Pan Afr Med J* [Internet]. 3 de julio de 2019 [citado 26 de marzo de 2020];33. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756816/>
44. Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet Lond Engl*. 6 de diciembre de 2014;384(9959):2053-63.
45. Luo A, Jiang X, Ren H. Entecavir-based combination therapies for chronic hepatitis B: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. diciembre de 2018;97(51):e13596.
46. Capriotti T. HIV/AIDS: An Update for Home Healthcare Clinicians. *Home Healthc Now*. diciembre de 2018;36(6):348-55.

47. Justiz Vaillant AA, Gulick PG. HIV Disease. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 20 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534860/>
48. Tipos de ELISA, ¿conoces las diferencias? - Biotech Spain [Internet]. 2019 [citado 10 de noviembre de 2020]. Disponible en: <http://biotech-spain.com/es/articles/tipos-de-elisa-conoces-las-diferencias-/>
49. Diferencia entre ELISA directo e indirecto. 2020 [Internet]. [citado 10 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://es.bccrwp.org/compare/difference-between-direct-and-indirect-elisa/>
50. Prof. Dr. C. Rolando Felipe Ochoa Azze. Técnicas Inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios Inmunoepidemiológicos [Internet]. Finlay Ediciones, La Habana; 2012. Disponible en: https://www.paho.org/cub/index.php?Option=com_docman&view=download&alias=742-pubfinlay-librotecinmunoparaclinovacunas2012&Itemid=226
51. Food and Drug Administration, HHS. Requirements for blood and blood components intended for transfusion or for further manufacturing use. Final rule. Fed Regist. 22 de mayo de 2015;80(99):29841-906.
52. Mast AE. Low hemoglobin deferral in blood donors. Transfus Med Rev. enero de 2014;28(1):18-22.
53. Haro X, Herrera E. Validación de los resultados obtenidos y comparados entre el método molecular de ácidos nucleicos y la metodología serológica clásica realizadas en donantes de sangre del hemocentro, cruz roja ecuatoriana de enero a diciembre 2011 [Internet] [Thesis]. [Quito]: Universidad Central del Ecuador; 2014. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4600>
54. Janssen MP, van Hulst M, Custer B, ABO RBDM Health Economics and Outcomes Working Group & Collaborators. An assessment of differences in costs and health benefits of serology and NAT screening of donations for blood transfusion in different Western countries. Vox Sang. 2017 Aug;112(6):518–25.
55. Safic Stanic H, Babic I, Maslovic M, Dogic V, Bingulac-Popovic J, Miletic M, et al. Three-Year Experience in NAT Screening of Blood Donors for Transfusion Transmitted Viruses in Croatia. Transfus Med Hemother. 2017;44(6):415–20.

9. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de parametrización de variables

Variable	Definición	Tipo de variable	Valores	Medición
Sexo	Condición biológica determinada por cromosomas	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Masculino • Femenino 	Historia clínica
Edad	Años desde nacimiento	Cuantitativa discreta	<ul style="list-style-type: none"> • Expresado en años 	Historia clínica
Tipo de sangre	Valor de antígeno AB y Rh en sangre	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> • O+/- • A+/- • B+/- • AB+/- 	Historia clínica
Serología viral	Detención de anticuerpos frente a VIH, VHB y VHC	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo 	Historia clínica
NAT viral	Presencia de genoma viral	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo 	Historia clínica
Apto	Aceptación de donación de sangre	Cualitativa nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No 	Historia clínica

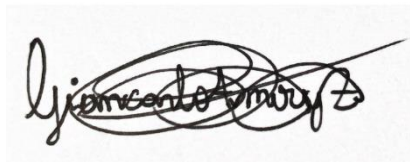
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Nosotros: **Amory Zambrano Giancarlo Ottelo** con C.C: # **0704244458** y **Oliveros Sandoval Aldana Cecilia**, con C.C: # **0925704868** autores del trabajo de titulación: **Validación de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de infecciones virales en posibles donantes de sangre de 18 a 60 años del banco de sangre del hospital Omni Hospital en el periodo 2017 a 2020**, previo a la obtención del título de **Médico** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaramos tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

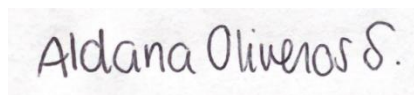
2.- Autorizamos a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 1 de mayo del 2021



f. _____

Nombre: **Amory Zambrano Giancarlo Ottelo**
C.C: **0704244458**



f. _____

Nombre: **Oliveros Sandoval Aldana Cecilia**,
C.C: **0925704868**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA Y SUBTEMA:	Validación de las pruebas serológicas a través de las pruebas NAT en la detección de infecciones virales en posibles donantes de sangre de 18 a 60 años del banco de sangre del hospital Omni Hospital en el periodo 2017 a 2020.		
AUTOR(ES)	Amory Zambrano Giancarlo Ottelo - Oliveros Sandoval Aldana Cecilia		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Ayón Genkuong, Andrés Mauricio		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Ciencias Médicas		
CARRERA:	Medicina		
TÍTULO OBTENIDO:	Médico		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	1 de mayo del 2021	No. DE PÁGINAS:	40
ÁREAS TEMÁTICAS:	INFECTOLOGÍA - HEMATOLOGÍA		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	pruebas serológicas, pruebas NAT, sensibilidad, especificidad, periodo de ventana.		
RESUMEN/ABSTRACT			
<p>Introducción: El riesgo de infecciones virales (VIH, VHB, VHC) ha disminuido drásticamente debido al tamizaje que se realiza a todos los posibles donantes de sangre en los bancos de sangre. Las pruebas NAT del VHC reduce el período de ventana infecciosa a aproximadamente 8 a 10 días en contraste a el periodo de ventana de 70 días utilizando las pruebas serológicas del VHC. Objetivos: Evaluar la eficacia de las pruebas serológicas en la detección de infección por VHB, VHC y VIH en posibles donantes atendidos en el banco de sangre del Omni Hospital en periodo de 2017 a 2020. Metodología: Estudio de corte transversal, observacional y descriptivo. Los datos se extrajeron de las historias clínicas en el sistema clínico Edelphyn del banco de sangre del Omni Hospital, periodo enero 2017 a diciembre 2020. Resultados: La mayor parte de la población perteneció al sexo masculino, representando el 56.20% de la población, con una edad de 37 años como mediana. Además, que durante los años de 2018 y 2019 existió la mayor cantidad de donantes con infecciones por VIH y virus de hepatitis B. En cuanto a la infección viral, la mayor parte de la población tuvo pruebas de NAT positivas para infección por virus de hepatitis B (17.10%), quedando en segundo lugar la infección por VIH (13.30%). Conclusiones: Referente a la eficacia de las pruebas serológicas frente a las NAT, se pudo observar que la sensibilidad de las pruebas serológicas en el VIH fue de 60.71%, mientras que la especificidad fue del 94.51%.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593-96-928-3547 +593-99-816-1705	E-mail: giancarloamory97@hotmail.com aldana-oliveros@hotmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Ayón Genkuong, Andrés Mauricio		
	Teléfono: +593 99-757-2784		
	E-mail: andres.ayon@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			