

# Una tecnologia automatica per la diagnosi dell'infezione da virus dell'epatite C (HCV) nei pazienti in emodialisi (ED) periodica

F. Fabrizi<sup>1,3</sup>, P. Martin<sup>1</sup>, V. Dixit<sup>1</sup>, S. Quan<sup>2</sup>, M. Brezina<sup>1</sup>, E. Kaufman<sup>2</sup>, K. Sra<sup>2</sup>, M. Mousa<sup>1</sup>, R. DiNello<sup>2</sup>, A. Polito<sup>2</sup>, G. Gitnick<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division of Digestive Diseases, UCLA School of Medicine, Los Angeles

<sup>2</sup> Chiron Corporation, Emeryville, CA - USA

<sup>3</sup> Divisione di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Maggiore, IRCCS, Milano - Italia

## Riassunto

**Premesse.** I pazienti in emodialisi (ED) periodica rimangono ad elevato rischio di infezione da virus dell'epatite C (HCV). Recenti studi hanno documentato la trasmissione nosocomiale di HCV tra i pazienti in ED; inoltre, è stata ripetutamente segnalata l'incompleta attuazione delle procedure di controllo contro la diffusione di HCV all'interno dei Centri Dialisi. I test sierologici immunoenzimatici (ELISA), che ricercano gli anticorpi anti-HCV, rimangono i più importanti per la diagnosi di HCV negli emodializzati. Il RIBA<sup>TM</sup> HCV Strip Immunoblot Assay (SIA) è un metodo consolidato per la conferma dei risultati ripetutamente reattivi con la metodica immunoenzimatica HCV in ED. Tuttavia la procedura manuale RIBA<sup>TM</sup> HCV Strip Immunoblot Assay (SIA) attualmente in uso è laboriosa, e richiede una valutazione soggettiva riguardo l'assegnazione dei punteggi e l'interpretazione dei risultati. Una tecnologia automatizzata per la conferma dei risultati ripetutamente reattivi alla metodica immunoenzimatica potrebbe essere utile sia perché i pazienti in emodialisi con infezione da HCV presentano una particolare reattività alla tecnologia RIBA<sup>TM</sup> HCV 2.0 e sia perché è necessario il frequente dosaggio degli anticorpi anti-HCV per valutare la diffusione di HCV in emodialisi.

**Metodi.** Recentemente è stato messo a punto un nuovo strumento, il Chiron<sup>®</sup> RIBA<sup>TM</sup> Processor System, per automatizzare l'analisi di conferma della presenza degli anticorpi anti-HCV. Il Chiron<sup>®</sup> RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 Processor System fornisce una obbiettiva valutazione delle strisce RIBA, mediante misurazione della luce riflessa in modo differenziale tra le bande che si sviluppano e il bianco circostante, creando una densità di riflettanza. Il Chiron<sup>®</sup> RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 Processor System stabilisce l'intensità di ciascuna delle bande reattive in relazione all'intensità delle bande interne di controllo presenti su ciascuna striscia RIBA<sup>TM</sup> HCV. Abbiamo compiuto il confronto tra la metodica manuale e quella automatizzata in un'ampia coorte (n=200) di pazienti in ED ripetutamente ELISA 3.0 positivi o negativi.

**Risultati.** Le caratteristiche della metodologia RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 SIA sono risultate identiche con la procedura manuale e quella automatica. I valori di intensità relativa delle bande antigeniche esaminate con Chiron<sup>®</sup> RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 Processor System tra pazienti anti-HCV positivi e negativi erano significativamente differenti; solo 15 su 784 (1.9%) bande antigeniche hanno mostrato reattività borderline. La correlazione tra procedura manuale ed automatizzata è stata molto elevata (valore kappa, 0.989). Nel gruppo di risultati reattivi mediante RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 SIA abbiamo trovato notevole concordanza tra procedura manuale ed automatizzata riguardante il pattern di reattività (valore kappa, 0.943). I valori discordanti tra procedura manuale ed automatizzata sono dovuti ad un'accresciuta variabilità dei punteggi antigenici vicino al cut-off per entrambe le procedure.

**Conclusioni.** Il Chiron<sup>®</sup> RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 Processor System è capace di realizzare la metodologia RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 SIA nei pazienti in emodialisi periodica con minimo coinvolgimento dell'operatore. Le caratteristiche di RIBA<sup>TM</sup> HCV 3.0 SIA sono identiche con la procedura manuale e quella automatizzata. Abbiamo osservato eccellente correlazione tra i risultati forniti con la tecnologia automatizzata e quella manuale; i pochi risultati discordanti tra le due procedure sono dovuti ad una accresciuta variabilità dei punteggi antigenici vicino al cut-off per entrambi le metodiche. Al momento i Centers for Disease Control and Prevention (CDC) negli Stati Uniti non raccomandano il dosaggio degli emodializzati per gli anticorpi anti-HCV nella routine clinica, eccetto che a scopo epidemiologico. Questa nuova metodica può essere molto utile per la diagnosi sierologica dell'infezione da HCV a scopo epidemiologico e nella routine clinica dei pazienti in ED.

**PAROLE CHIAVE:** Anticorpi anti-HCV, Emodialisi, Test supplementari, Tecnica automatica

---

## Automated technique for diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection in patients on chronic hemodialysis (HD)

**Background.** Hemodialysis (HD) patients remain a high-risk group for HCV infection. Recent surveys have documented the nosocomial transmission of HCV between HD patients; the incomplete implementation of infection control procedures against HCV spread within HD units currently occurs. Serological assays (enzyme-linked immunosorbent assays, ELISAs) remain the most important tests for HCV detection in the HD population. RIBA™ HCV Strip Immunoblot Assay (SIA) is an established method for supplemental testing of repeat reactive hepatitis C ELISA patients on HD. However, the current manual procedure is labor intensive, requiring subjective band scoring and result interpretation. An automated technology to confirm reactive ELISA results in HD could be very useful as HD patients with HCV may have a specific reactivity by manual RIBA™ HCV 2.0 technology, and a repeated testing for HCV is needed to assess HCV spread within HD units.

**Methods.** Recently, an automated CHIRON™ RIBA™ Processor System has been designed to perform RIBA™ supplemental testing. The CHIRON™ RIBA™ HCV 3.0 Processor System consists of a bench-top instrument that provides objective evaluation of the RIBA™ immunoblot strips, by measuring the light differentially reflected from the developed bands and white background, creating a density of reflectance. The CHIRON™ RIBA™ HCV 3.0 Processor System assesses the intensity of each of the reactive bands in relation to the intensity of the internal control bands on each RIBA™ HCV strip. A comparison between processor and manual protocols was made using a large (n=200) cohort of ELISA 3.0. HCV -negative and -positive patients on chronic HD treatment.

**Results.** The test characteristics of RIBA™ HCV 3.0 SIA were identical with manual and automated runs. The relative intensity values of antigenic bands given by the CHIRON™ RIBA™ HCV 3.0 Processor System between anti-HCV positive and negative patients were significantly different; only 15 out of 784 (1.9%) antigenic bands had borderline reactivities. The correlation of test results between manual and automated runs was very high (kappa value, 0.989). Among reactive results given by RIBA™ HCV 3.0 SIA, there was a strong concordance between manual and automated runs with regard to the pattern of reactivity (kappa value, 0.943). The discordant results between manual and automated protocols were attributable to the increased variability of antigen scores close to the cutoff value for both tests.

**Conclusion.** The CHIRON™ RIBA™ HCV 3.0 Processor System is capable of performing RIBA™ HCV 3.0 SIA in the HD population accurately with minimal operator involvement. The test characteristics of RIBA™ HCV 3.0 SIA were identical between manual and automated runs. There was a strong correlation between the results of the manual and automated runs; the few discordant results between the two procedures were mostly due to the increased variability of antigen scores close to the cutoff values for both tests. At present, the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in the United States does not recommend testing of dialysis patients for anti-HCV, except for epidemiological purposes; there appears to be a growing trend toward routine testing of dialysis patients for anti-HCV. This novel methodology may be very useful for supplemental anti-HCV testing of ELISA repeat reactive specimens in routine clinical assessment and epidemiological evaluation among chronic HD patients. (*Giorn It Nefrol* 2000; 17: 2000; 17: 551-8)

**KEY WORDS:** Anti-HCV antibodies, HD patients, Supplemental tests, Automated technique

---