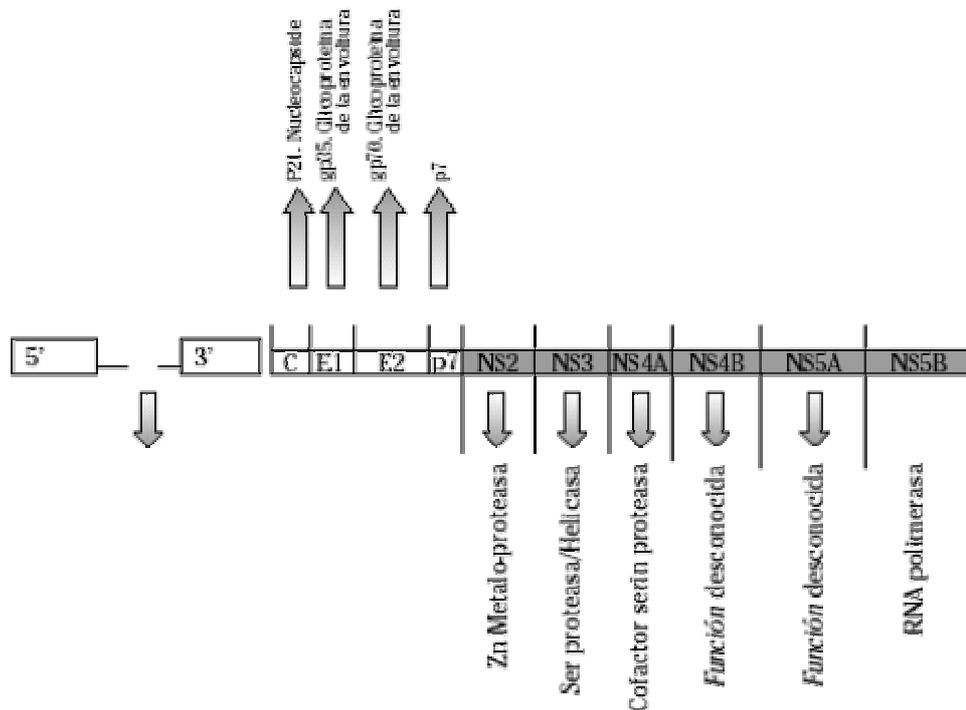


# Virología, pruebas diagnósticas, epidemiología y mecanismos de transmisión del VHC

## VIRUS DE LA HEPATITIS C. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

El virus de la hepatitis C (VHC) (Fig. 1) es un virus humano que ha sido clasificado dentro de un tercer género, (Hepacivirus), de la familia de los Flaviviridae.



**Figura 1.** Organización del genoma del VHC y de la poliproteína codificada.

Fue identificado en 1989, como el principal agente causante de las hepatitis postransfusionales no-A no-B. Es un virus esférico, de aproximadamente 50 nm de diámetro. Consta de una envoltura glicoproteica que contiene lípidos, y su genoma es una molécula de RNA de cadena simple y polaridad positiva de 9.500 nucleótidos de longitud, que contiene una única estructura de lectura que ocupa casi todo el genoma y codifica una poliproteína de unos 3.010 aminoácidos.

La región 5' no codificante (5'UTR) del VHC, primeros 332-342 nucleótidos, es esencial para la traducción, adoptando una estructura terciaria para el anclaje del ribosoma, lo que explica por qué su secuencia está tan bien conservada en todos los aislados (homología >97%). Ello le convierte en idónea para las técnicas de diagnóstico molecular basadas en PCR y para el diseño de nuevos fármacos antivirales.

La mayor parte del resto del genoma actúa como RNA mensajero de un precursor poliproteico a partir del cual se liberan las distintas proteínas virales por la acción combinada de proteasas celulares y virales. Un 25% de la poliproteína da lugar a las

proteínas estructurales (nucleocápside y envoltura) y el resto a seis proteínas no estructurales. El orden de los genes codificantes es: 5'-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-3'.

El producto del gen C, de 190 aminoácidos, constituye la subunidad básica de la proteína de la nucleocápside. Los siguientes genes E1 y E2 codifican las dos glicoproteínas de envoltura del VHC: gp35 y gp70. Una característica importante del gen E es la presencia de una región hipervariable (HVR-1) (primeros 27 aminoácidos de gp70, expuestos en la superficie del virus y que contienen epítomos para linfocitos B). E1 y E2 estarían implicadas en la unión a receptores celulares y su posterior fusión, es decir en la entrada del virus dentro de las células del huésped. Los genes no estructurales, NS2 y NS3 codifican dos proteasas que intervienen en el procesamiento de toda la región no estructural del precursor poliproteico. El producto de NS3, a continuación del dominio con actividad serín-proteasa, actúa como una helicasa capaz de desenrollar el molde de RNA durante la replicación del genoma. El producto NS4A actúa como cofactor de la actividad serín-proteasa de NS3. La función del producto p27 de NS4B es desconocida. NS5A da lugar a dos productos fosforilados de 56 y 58 kD cuya función se desconoce. Por último, el producto de NS5B contiene el dominio RNA polimerasa RNA-dependiente esencial para la replicación. La NS5 se ha implicado en la modulación de la respuesta antiviral del huésped mediada por el interferón. En concreto, se ha observado que la acumulación de mutaciones en una determinada región NS5A, la conocida como ISDR (interferon sensitivity determining region) se relaciona con una mejor respuesta al interferón en pacientes infectados por el genotipo 1b del VHC. La zona codificante termina en un único codón de parada, al que sigue una región 3' no traducida (3'UTR) que contiene: una zona variable de 40 nucleótidos, seguida de una ristra de uracilos (poly-U), una secuencia polipirimidínica formada por secuencias poly-U con citocinas intercaladas y una región muy conservada (98-100% de homología) de 98 nucleótidos. 3'UTR es esencial para la replicación viral, aunque se desconocen sus funciones exactas. En todo caso también es una atractiva diana para el desarrollo de técnicas de diagnóstico molecular y de fármacos antivirales.

### **Variabilidad genómica del VHC. Quasiespecies y genotipos**

Estudios clínicos y experimentales realizados antes y después del descubrimiento del VHC sugerían que la infección natural por VHC no induce una protección inmunológica en el huésped, pudiendo ser los individuos reinfectados en varias ocasiones con RNA-VHC homólogo o heterólogo<sup>3</sup>. No obstante, la observación en el huésped de una respuesta inmune celular y humoral vigorosa durante la fase aguda y crónica de la infección por VHC, incluyendo anticuerpos específicos contra la envuelta y linfocitos T citotóxicos multiespecíficos (CTL), sugiere que es probablemente la variabilidad viral la que juega un papel clave en la persistencia de la infección por VHC<sup>4</sup>.

El VHC, como casi todos los virus RNA, se caracteriza por un alto grado de heterogeneidad genómica como consecuencia de la incapacidad de la RNA polimerasa para corregir errores durante la replicación. La tasa global de fijación de mutaciones del VHC se ha calculado en aproximadamente  $1,44-1,92 \times 10^{-3}$  cambios de nucleótido por posición genómica y año. Esta tasa no es uniforme a lo largo del genoma, siendo menor en 5'UTR y C, mayor en E1 y E2 y máxima en la región hipervariable de E2 (HVR-1).

El pequeño tamaño de muchos genomas RNA, su alta tasa de mutación, y su tolerancia a la diversidad genética, favorecen el establecimiento de complejas mezclas de virus

relacionados, en el mismo paciente. Como consecuencia de la baja fidelidad de la maquinaria de replicación viral, el VHC nunca está presente en vivo como una población homóloga de genomas RNA idénticos sino como una mezcla de genomas divergentes, aunque próximamente relacionados, mostrando una distribución que sigue un modelo de quasispecies. La secuencia máster es la más frecuentemente representada dentro de la población, mientras que la secuencia consenso (promedio) es la que resulta de asignar a cada posición el nucleótido más frecuente.

La consecuencia evolutiva, a largo plazo, de esta heterogeneidad es la aparición de grupos virales genéticamente distintos o genotipos. La distribución en quasispecies representa una ventaja adaptativa y tiene numerosas implicaciones biológicas, como el establecimiento de infección persistente por selección de mutantes de escape a los anticuerpos neutralizantes y linfocitos T, la selección de mutantes resistentes a fármacos antivirales, los cambios en la virulencia o patogenicidad del virus, y selección de mutantes de escape frente a vacunas, entre otras.

La observación de mutaciones de nucleótidos y aminoácidos específicamente segregables en grupos o subgrupos en prácticamente todas las regiones genómicas del VHC ha permitido la clasificación de los VHC en genotipos y subtipos, cuyas secuencias difieren globalmente entre sí en 30 y 20%, respectivamente. En la actualidad se acepta la existencia de al menos 6 genotipos divididos, a su vez, en más de 84 subtipos. Los genotipos se denominan mediante un número (del 1 al 6), y los subtipos mediante una letra minúscula, por orden de descubrimiento (p. ej., 1a, 1b, 2a, 3a, etc.). La existencia de distintos genotipos del VHC tiene implicaciones diagnósticas, tanto a nivel serológico como molecular:

La detección de RNA y su cuantificación debe dirigirse a los extremos 5' y 3' UTR (regiones mejor conservadas) mediante cebadores universales.

La reactividad frente a NS3 en los test de confirmación es menor en las infecciones por VHC genotipo 3.

La determinación del genotipo viral es obligatoria para establecer la fuente de infección por técnicas de epidemiología molecular.

Los diferentes genotipos pueden aparecer en cualquier parte del mundo, pero existen diferencias en cuanto a la distribución geográfica. Los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 2c y 3a constituyen el 90% de todas las infecciones por el VHC en toda América, Europa, China, antigua Unión Soviética, Japón, Australia y Nueva Zelanda. Los genotipos 1a y 1b son los causantes del 40% de todas las infecciones por el VHC en los EEUU. El genotipo 1b es especialmente prevalente en el sur y este de Europa y también en China y Japón. El genotipo 3 es altamente prevalente en zonas de Nepal, Bangladesh, India y Pakistán. En Egipto existe una alta prevalencia del genotipo 4a y tanto éste como otros subtipos del genotipo 4 se pueden encontrar más frecuentemente en África central. En Sudáfrica, el genotipo 5 es el causante de alrededor del 50% de las infecciones por el VHC. Por último, el genotipo 6 se encuentra especialmente en el sudeste asiático<sup>5</sup>. A pesar de las variaciones geográficas, es importante remarcar que además, existen diferencias dentro de una misma área según los diferentes grupos de población. Así, en los países occidentales destaca la mayor prevalencia del genotipo 3a entre los jóvenes, especialmente entre aquellos que son usuarios de droga por vía parenteral.

Aunque el genotipo no tiene influencia en la historia natural de la enfermedad, es el factor que más influye en la respuesta al tratamiento antiviral. Así, los pacientes infectados con genotipos 2 y 3 responden más rápidamente y tienen tasas de respuesta mantenida dos o tres veces superiores a las de los infectados por genotipos 1.

## **PRUEBAS DIAGNÓSTICAS**

### **Técnicas serológicas**

#### **Enzimoimmunoensayos. Test de cribaje**

La detección de IgG específica contra el VHC mediante enzimoimmunoensayos (EIA) continúa siendo el método más práctico para el diagnóstico de la infección por este virus. Dado que aún no es posible obtener proteínas nativas del VHC, los métodos de EIA utilizan antígenos artificiales obtenidos por ingeniería genética (antígenos recombinantes) o por síntesis química (péptidos sintéticos), o bien, mezclas de ambos, para capturar los anticuerpos anti-VHC en microplacas o micropartículas. Los primeros EIA para anti-VHC detectaban anticuerpos contra una única proteína antigénica recombinante (c-100-3). En los EIA de segunda generación (EIA-2) se incluyeron proteínas del core (c22-3) y el producto de la región NS3 (c33c). Los test de tercera generación (EIA-3), que incorporan además la proteína de NS5, son aún más sensibles por la optimización de los antígenos presentes en los EIA-27.

En grupos de riesgo inmunocompetentes, la sensibilidad de los EIA oscila entre el 98 y el 100%, lo que significa que la inmensa mayoría de pacientes inmunocompetentes con infección activa por VHC pueden identificarse mediante EIA. En hemodializados e inmunodeprimidos (receptores de trasplante sólido o médula ósea y pacientes infectados por el VIH), la sensibilidad de los EIA es menor, oscilando entre un 50 y un 95% según el grado de inmunodeficiencia.

#### **Test de confirmación. Inmunoblots y test para anti-E2**

La asociación de un factor de riesgo percutáneo para infección por VHC con niveles elevados de ALT en un individuo anti-VHC positivo por EIA-2/3 es indicativa de infección activa por VHC en más del 98% de los casos, lo que hace innecesarios los test de confirmación. Para los donantes de sangre de bajo riesgo y transaminasas normales, se han desarrollado test suplementarios para confirmar la especificidad del resultado del EIA. Estos son inmunoblots en los que sobre un soporte de nitrocelulosa se han fijado por separado antígenos recombinantes o mezclas de antígenos recombinantes y péptidos sintéticos (core, NS3, NS4 y NS5). Se considera positiva cuando reacciona contra al menos dos antígenos distintos, indeterminada cuando hay reactividad frente a uno solo y negativa cuando no reacciona con ninguno. Estos test tienen poco valor en inmunodeprimidos.

#### **Anticuerpos de tipo IgM**

El significado clínico de los anti-VHC de clase IgM dirigidos contra la proteína del core (IgM anti-core VHC) es muy dudoso. Se pueden detectar IgM anticore en el 50-90% de pacientes con hepatitis aguda C, pero también, a título más bajo, en el 50-70% de pacientes con hepatitis crónica.

#### **Técnicas para la detección de antígeno core del VHC**

Existe un test EIA para la detección cualitativa de antígeno del core en suero que ha demostrado ser útil para acortar el período de ventana en el cribaje de donantes de sangre. Asimismo, se ha desarrollado un EIA fluorescente capaz de detectar y cuantificar antígeno del core del VHC en el suero de pacientes con infección crónica (anti-VHC positivos). Esta técnica podría complementar a los métodos moleculares para estimar la carga viral y monitorizar el tratamiento antiviral y la recurrencia del VHC en receptores de trasplante.

### **Técnicas moleculares**

La replicación del VHC en los hepatocitos induce la destrucción de esas células y libera, así, las partículas víricas hijas al medio extracelular. Al menos una parte de ellas pasan al torrente circulatorio, ofreciendo distintas dianas potenciales para el diagnóstico de laboratorio basado en la detección directa de los viriones, bien por detección de su genoma o de sus proteínas.

Durante el período ventana de la infección aguda y en el caso de los pacientes inmunodeficientes humorales, el diagnóstico por detección de anti-VHC puede fallar, requiriéndose el uso directo de pruebas de detección de virus. Asimismo, la detección de RNA del VHC es fundamental en la monitorización de la respuesta al tratamiento antiviral en la infección crónica por el VHC.

### **Técnicas cualitativas para RNA VHC**

Como el virus de la hepatitis C circula en la sangre a niveles relativamente bajos, indetectables mediante técnicas clásicas de hibridación, el RNA viral, debe amplificarse para su detección. La técnica más empleada es la amplificación por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) del DNA complementario (DNAC) a un fragmento del extremo 5'UTR, obtenido por retrotranscripción (RT-PCR). Numerosos laboratorios de investigación han desarrollado su propia variante de la técnica, que difieren en el método de extracción del RNA, la selección de cebadores de 5'UTR, el tipo de PCR (simple o anillada), el perfil y número de ciclos de amplificación, y el procedimiento de detección del producto amplificado. Debido a las diferencias en la sensibilidad y especificidad de estas técnicas, ha sido imposible su estandarización para el diagnóstico rutinario en la práctica clínica.

El test cualitativo para RNA VHC estandarizado y comercialmente disponible es el test Amplicor-HCV™ (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA). Aunque la primera versión comercial de este test era menos sensible para la detección de genotipos no 1, la segunda versión es capaz de detectar hasta 50 UI/ml (aproximadamente 45 copias/ml) y detecta con la misma sensibilidad todos los genotipos. La especificidad del test Amplicor HCV de segunda generación es >97%.

### **Técnicas cuantitativas para RNA VHC**

Las dos técnicas estandarizadas comerciales más ampliamente utilizadas para la cuantificación de RNA del VHC en suero o plasma son: el test Amplicor HCV Monitor 2.0 (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA), basado en RT-PCR y el test Quantiplex HCV RNA 2.0 (Bayer Corporation, Emeryville, CA), basado en la amplificación de señal mediante DNA ramificado (bDNA).

Dado que las diferentes técnicas cuantitativas han sido estandarizadas mediante transcritos de RNA de distinta naturaleza, longitud y secuencia, las distintas unidades de medida no representan la misma cantidad de RNA en muestras clínicas. Por ello la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un patrón internacional de referencia para la estandarización universal de los resultados de las técnicas cuantitativas en Unidades Internacionales por ml.

## **PATOGENIA**

A pesar de los avances realizados sobre la biología del VHC, sigue sin conocerse con exactitud la patogenia de la hepatitis C en lo que respecta a los determinantes de la

persistencia del virus y a los mecanismos de daño hepatocelular y a la participación extrahepática. La observación de las lesiones histológicas hepáticas producidas por el VHC sugieren que éste tiene un efecto citopático directo aunque también parece que la cronicidad de la hepatitis C puede depender de la infección no citopática de células hepáticas y extrahepáticas, así como de la evasión a la respuesta inmunitaria del huésped.

## **EPIDEMIOLOGÍA**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO), se estima que alrededor de 170 millones de personas, el 3% de la población mundial, puede estar infectada por la hepatitis C, aunque la mayoría puede estar clínicamente asintomática.

El virus de la hepatitis C es transmitido por exposición percutánea de forma repetida a sangre. Se ha identificado un posible factor de riesgo en un 90% de los casos. En un 10% no se ha podido identificar la fuente de infección. Esta exposición ocurre en el contexto de uso de drogas vía parenteral, transplante de órgano sólido a partir de donantes infectados, prácticas médicas no seguras, exposición ocupacional a sangre infectada, nacimiento de un bebé a partir de madre infectada, mantener relaciones sexuales con una persona con VHC, prácticas sexuales de alto riesgo, y posiblemente el uso de cocaína vía nasal. La transmisión a través de sangre y derivados sanguíneos fue prácticamente eliminada con la introducción de test para la detección de VHC (anti-VHC) en donantes hacia 1992.

Las mayores cifras de prevalencia (15-50%) ocurren en personas que están en cárceles, vagabundos, adictos a drogas vía parenteral, y personas con hemofilia tratados con factores de la coagulación antes de 1992.

En EEUU se calcula que 3,9 millones de personas han sido infectados por el VHC, de los cuales 2,7 millones desarrollarán una infección crónica. En España se estima que la prevalencia de la infección en la población general podría oscilar entre el 2-2,5%. En Navarra, en el año 2003 fueron declarados 24 nuevos casos de hepatitis con marcadores serológicos positivos para VHC, cifra ligeramente superior a la observada en años anteriores.

## **TRANSMISIÓN DEL VHC**

### **Receptores de sangre y derivados**

Antes de 1986 la incidencia de hepatitis C post-transfusional se situaba ente el 5-13%. Desde 1990, al comenzar a realizarse el estudio de marcadores serológicos de VHC la incidencia de hepatitis post-transfusional disminuyó hasta hacerse menor de un 1%. Parece que la incidencia de adquisición de la infección por VHC post-transfusión está directamente relacionada con el número y cantidad de productos sanguíneos recibidos.

### **Hemodiálisis**

En cuanto a otras rutas yatrogénicas de transmisión, se ha observado una mayor prevalencia de VHC en pacientes en tratamiento de hemodiálisis, observándose gran

diferencia entre diferentes países. En Europa se ha estimado una incidencia en torno a un 11,6%. Parece existir una correlación directa entre la duración de diálisis y el número de transfusiones sanguíneas recibidas y la incidencia de infección por VHC. Otros posibles mecanismos de transmisión incluyen el uso compartido de máquinas de diálisis entre pacientes positivos para VHC y otros negativos y la transmisión nosocomial por el personal de diálisis. En España se observó una incidencia de VHC del 19,5% en pacientes en tratamiento con hemodiálisis; dichos valores son ligeramente superiores a los observados en otros países europeos.

### **Tatuajes y perforaciones**

En cuanto a la perforación de los lóbulos de las orejas y otras partes del cuerpo, la acupuntura y el tatuaje, han sido indicados como posibles factores de riesgo de hepatitis esporádica, si el equipo utilizado está contaminado. Sin embargo, la transmisión a través de estas actividades es rara.

### **Riesgo en personal sanitario**

El personal sanitario tiene una prevalencia similar de infección por VHC que la población general. El riesgo de adquirir la infección por VHC tras un pinchazo accidental es bajo, en torno a un 2%. Los grupos de alto riesgo incluyen entre otros a cirujanos, ginecólogos, al personal de hemodiálisis, de medicina intensiva y de salas de urgencias. Se recomienda mantener las medidas de precaución estándar o universales como medida de prevención de la infección por VHC. Si ocurre un pinchazo accidental, el uso de inmunoglobulinas o profilaxis antiviral no está recomendada. Se recomienda que tanto al individuo fuente como al expuesto se les realicen anticuerpos de VHC. Si el individuo fuente es anti- VHC positivo se recomienda realizar RNA del VHC a la persona expuesta. Se recomienda realizar RNA del VHC, anti-VHC y ALT en el momento de la exposición y de nuevo a las 2-8 semanas posteriores al pinchazo, dado que el RNA se detecta en sangre a las dos semanas postexposición. Si existe seroconversión se recomienda remitir al médico especialista para valoración.

### **Transmisión intrafamiliar**

Aunque no está clara la ruta de transmisión, parece existir una mayor prevalencia de infección por VHC (vía no sexual) en familiares de un paciente con VHC. La vía de transmisión es especulativa e incluiría el uso compartido de cepillos dentales, cuchillas, maquinillas de afeitar y utensilios para el cuidado de las uñas. No hay evidencia de que estornudar, besar, compartir utensilios de comida, se asocie con la transmisión del VHC.

### **Transmisión sexual en grupos de bajo riesgo**

Aunque la transmisión sexual existe, parece que esta vía es poco eficaz. En cuanto a las relaciones monógamas de larga duración, en EEUU se estima una seroprevalencia de VHC del 2 al 3% entre parejas con un miembro infectado. Parece que el riesgo de infección del VHC dentro de la pareja es mayor para la mujer que para el varón<sup>11</sup>. Algunos estudios muestran que las parejas de pacientes con hepatitis crónica por virus C tienen mayor riesgo de adquirir el VHC, y éste aumenta con la mayor duración de la exposición. Aunque los datos son muy contradictorios, la mayoría de los expertos creen que en relaciones monógamas de larga duración no se recomiendan modificaciones en las prácticas sexuales, excepto durante la menstruación o si hubiera ulceraciones genitales<sup>14</sup>. Aunque no se recomienda el uso de preservativo debido al bajo riesgo de transmisión, sí se debe advertir a los pacientes, de que su uso disminuye el riesgo de

contagio. A pesar del bajo riesgo de contagio, parece recomendado realizar estudio de anti-VHC a las parejas de los pacientes infectados.

### **Transmisión sexual en grupos de alto riesgo**

En EEUU se estima una seroprevalencia del 4 al 6 % del VHC entre personas con múltiples parejas sexuales. Parece existir una correlación positiva entre la infección por el VHC y el número de parejas sexuales, el hecho de no utilizar preservativos, mantener relaciones sexuales vía anal, relaciones sexuales traumáticas, historia de enfermedades de transmisión sexual, y pacientes coinfectados por VIH. En estos casos se recomienda el uso de preservativo, tanto para prevenir el contagio del VHC como de otras enfermedades de transmisión sexual.

### **Transmisión vertical**

Todavía no conocemos la manera y el momento de transmisión materno-infantil. La transmisión perinatal del VHC de niños nacidos de madres positivas para anti-VHC ocurre en aproximadamente un 2% de los casos. Cuando una mujer embarazada tiene positivo el RNA el riesgo se incrementa hasta un 4-7%<sup>11</sup>. Las cargas virales menores a 106 parecen disminuir mucho el riesgo de transmisión<sup>18</sup>. La influencia del genotipo viral es discutible. La coinfección materna por el VIH es un factor de riesgo para la transmisión vertical, elevando hasta el 20% el riesgo de transmisión del VHC<sup>11</sup>. No está claro si la práctica de amniocentesis o una rotura prolongada de membranas está asociado con un mayor riesgo de transmisión materno-infantil. No hay estudios prospectivos que evalúen el uso de cesárea electiva para prevenir la transmisión al niño del VHC, por lo que dicha intervención no está recomendada en pacientes con infección por VHC, a menos que coexista infección por VIH.

Aunque el VHC puede ser detectado en el calostro materno, la lactancia materna no parece aumentar el riesgo de contagio del VHC, siempre y cuando no haya heridas a nivel de la mama. Se recomienda explicar los datos a la madre y que sea ella la que decida si dar lactancia o no.

A los niños nacidos de madres positivas para anti-VHC, se les recomienda realizar RNA de VHC a los 2 y 6 meses de vida y/o test para anti-VHC a los 18 y 24 meses. La positividad de anti-VHC previo a los 15 meses puede deberse a transferencia transplacentaria de anticuerpos de VHC.

### **Usuarios de drogas vía parenteral**

Las personas con abuso de drogas vía parenteral no sólo tienen la mayor prevalencia de infección por VHC, sino que constituyen un potencial reservorio de VHC en la comunidad. La prevalencia varía entre el 31 y el 98%, según la localización geográfica mundial. La prevalencia de la infección aumenta de forma proporcional a la duración del abuso de drogas.

### **Otros grupos de riesgo**

Los adictos a drogas vía oral, al ser comparados con los adictos a vía parenteral tienen menor incidencia de infección por VHC. En cuanto a los consumidores de cocaína vía nasal, dado que con frecuencia se comparte el material de inhalación, se ha observado que hay mayor incidencia del VHC, por lo que ésta, podría ser considerada como una posible vía de transmisión del VHC.

### **RECOMENDACIONES DE SCREENING DEL VHC**

Dada la baja prevalencia de la infección por el VHC en la población general, no se recomienda realizar de forma rutinaria el screening de infección por VHC en mujeres embarazadas, contactos familiares de personas positivas para VHC, trabajadores de centros sanitarios ni en la población general.

Se recomienda realizar anti-VHC en grupos de alto riesgo para infección por VHC, que incluyen a usuarios de drogas vía parenteral, pacientes en hemodiálisis, receptores de transfusión y órganos antes de 1992, niños nacidos de madres infectadas por el VHC, personas que han recibido factores de coagulación antes de 1987, personal sanitario expuesto al VHC y en pacientes con transaminasas persistentemente elevadas.

Parece ser recomendable detectar anti-VHC en pacientes con múltiples parejas sexuales, parejas de pacientes infectados con VHC, personas con antecedentes de tatuajes y perforaciones y usuarios de drogas de uso no parenteral y cocaína intranasal.

Dado que no existe vacuna frente a la hepatitis por virus C, es importante su prevención, recomendándose realizar programas de prevención en usuarios de drogas por vía parenteral, así como identificar a sujetos infectados, evitar la posible transmisión perinatal, utilizar medidas universales de limpieza y métodos barrera en los centros sanitarios, y realizar programas educativos y de apoyo para modificar los factores de riesgo.

# INFECCIÓN AGUDA POR EL VHC

## CLÍNICA

Las manifestaciones clínicas de las hepatitis agudas virales son muy variables, no existiendo manifestaciones específicas atribuibles a los distintos virus causales. En el caso específico de la infección aguda por el virus C, la mayoría de las hepatitis agudas (70-75%) serán asintomáticas y/o cursarán sin ictericia, lo que condiciona que su diagnóstico sea infrecuente. Un curso grave o fulminante es raro, aunque puede producirse, ocurriendo predominantemente en pacientes con inmunodeficiencia, en pacientes con enfermedad hepática preexistente o en pacientes con presencia de cofactores (infección concomitante por virus A o virus B, o toma de fármacos hepatotóxicos).

Al igual que en otras infecciones virales, en el curso de la infección por virus C se distinguen cuatro períodos o fases: incubación, prodrómico, estado y convalecencia. El período de incubación es el tiempo que transcurre entre la exposición al virus y la aparición de síntomas. Este período varía en función del tipo de virus y del inóculo. En el caso del virus C el período medio de incubación es de 7-8 semanas, pero el intervalo puede variar ampliamente, con un rango de 2 a 26 semanas. Este período es clínicamente silente. Durante el período prodrómico el paciente puede referir distintos síntomas inespecíficos, sin evidencia de ictericia. Los más frecuentes son cansancio, inapetencia, intolerancia a las grasas, náuseas, vómitos, molestias en hipocondrio derecho, disconfort abdominal y ocasionalmente diarrea. Este período suele durar 3-5 días, pero puede prolongarse varias semanas o, incluso, puede no estar presente. Cuando aparece la ictericia se habla de fase de estado. Paradójicamente, en este momento el paciente suele encontrarse clínicamente mejor, aunque habitualmente persiste la astenia. La duración e intensidad de la ictericia, que se presenta en menos del 25% de los pacientes, son variables. Habitualmente suele durar de 2 a 6 semanas. Con la desaparición de la ictericia se entra en la última fase, de convalecencia, durante la cual se produce la recuperación progresiva del paciente. Su duración también es variable. La exploración física suele revelar una hepatomegalia moderada, blanda y dolorosa, y en el 10-25% de los casos una esplenomegalia.

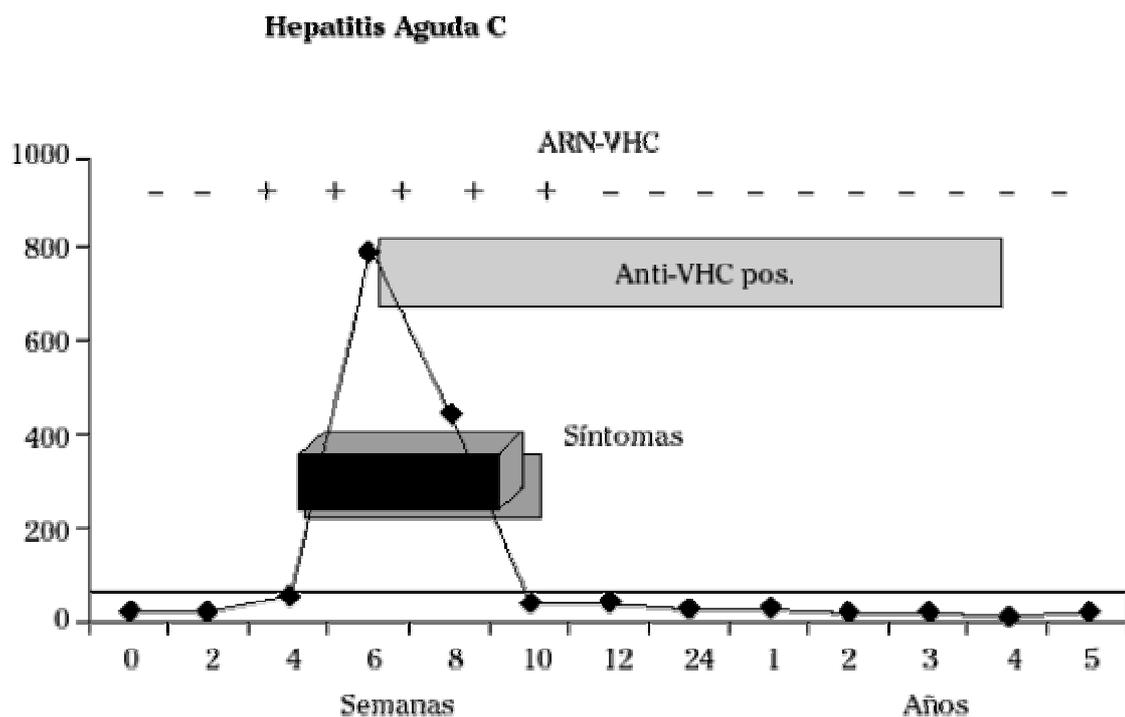
## DIAGNÓSTICO

Como ya se ha comentado, la gran mayoría de las hepatitis agudas por virus C pasan clínicamente desapercibidas, siendo muy infrecuente su diagnóstico sobre todo en las formas anictéricas. Desde el punto de vista analítico nos encontraremos con alteraciones bioquímicas fruto de la necrosis hepática y comunes a las distintas formas de hepatitis, con independencia del agente causal, y datos serológicos específicos para el virus C.

### **Diagnóstico bioquímico**

La necrosis hepática se traduce en una elevación de las transaminasas habitualmente 20-40 veces por encima de la normalidad, siendo la GOT o ALT (alanino aminotransferasa)

más que la GPT o AST (aspartato aminotransferasa), el mejor indicador de daño hepático agudo por virus C. Las transaminasas suelen elevarse durante la fase prodrómica y ser máximas en la fase de estado. El patrón de elevación de transaminasas más típico y que con mayor frecuencia se asocia a evolución hacia formas crónicas es el polifásico, con fluctuaciones en los niveles séricos de transaminasas. Las formas monofásicas (rápida elevación hasta alcanzar un pico máximo con descenso también rápido hasta normalización definitiva) o en meseta (niveles elevados, mantenidos sin fluctuaciones) suelen tener mejor pronóstico. La hipertransaminasemia es posterior a la detección del virus en sangre, pudiendo aparecer tanto antes como después de la seroconversión (Fig 1).



**Figura 1.** Curso de la hepatitis aguda autolimitada.

También se pueden elevar la fosfatasa alcalina, la gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) y la bilirrubina. Los niveles de GGT suelen ser algo superiores a los de otras formas de hepatitis. La fracción de Ig G de las inmunoglobulinas del suero suele estar aumentada sin que haya cambios significativos en la fracción Ig M; esta última se eleva inicialmente más que la Ig G en otras formas de hepatitis víricas agudas.

### Diagnóstico virológico

Para el diagnóstico virológico y el seguimiento de los pacientes con infección por VHC se utilizan dos tipos de análisis: los directos que se basan en la detección (técnicas cualitativas), cuantificación (técnicas cuantitativas) y caracterización (genotipo) de partículas virales en sangre, y los indirectos que se basan en la búsqueda de anticuerpos específicos dirigidos frente al VHC (anti-VHC). En el caso de sospechar una hepatitis aguda por virus C, se deberán realizar una técnica cualitativa al tiempo que se determinará la presencia de anticuerpos anti-VHC.

### - Análisis directos

#### Técnicas cualitativas

La detección cualitativa del RNA-VHC mediante técnicas de amplificación tales como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es ampliamente utilizada tanto para el diagnóstico de la infección por virus C como para la monitorización de la respuesta al tratamiento. Esta técnica ha demostrado tener mayor sensibilidad que las técnicas cuantitativas. En nuestro medio, mediante el Amplicor VHC Test (Roche Molecular Sistem), el límite inferior de detección es de 50 UI/mL (45 copias/mL).

#### Cuantificación viral

Permite detectar a aquellos pacientes con viremia baja que, según sugieren algunos estudios, parecen tener más probabilidad de aclaramiento espontáneo de la infección.

### - Análisis indirectos

#### Anticuerpos anti-VHC

La identificación de estos anticuerpos se realiza mediante técnicas de enzimoimmunoensayo (ELISA). Los primeros ELISA comercializados se basaban en la búsqueda de anticuerpos frente el epítipo C100-3 de la región no estructural NS4 del VHC. La introducción de estos análisis permitió el escrutinio sistemático de la sangre donada y, por ende, una reducción drástica de la hepatitis post-transfusional por virus C. Su baja sensibilidad y especificidad, sobre todo en grupos de bajo riesgo y en presencia de hipergammaglobulinemia, favoreció el desarrollo de nuevos ELISA de segunda y tercera generación. Los de segunda generación detectan anticuerpos dirigidos frente a antígenos del core y de las regiones NS3 y NS4. Los de tercera generación incorporan un antígeno de la región NS5 y otros componentes antigénicos en forma de péptidos sintéticos.

La fiabilidad diagnóstica de los ensayos ELISA varía mucho entre las distintas poblaciones. Puede haber resultados falsamente negativos en estadios precoces de la enfermedad, antes de la seroconversión, y también en pacientes inmunodeprimidos o inmunocomprometidos. Y puede haber resultados falsamente positivos en grupos de bajo riesgo (ausencia de hepatopatía aguda o crónica y no exposición parenteral), en pacientes con hipergammaglobulinemia o con enfermedad autoinmune concomitante, en la hepatopatía enólica o en el embarazo. Por este motivo, durante años, los resultados positivos fueron corroborados por pruebas confirmatorias. Sin embargo, con la introducción en la práctica clínica de técnicas para determinar viremia cualitativa (RNA-VHC), los ensayos de inmunotransferencia con antígenos recombinantes (Inmunoblot-RIBA) que se utilizaban en el pasado para confirmar un test de ELISA positivo han caído en el desuso.

### **Diagnóstico de la infección aguda por virus C: aparición temporal de los marcadores**

Tras la exposición al virus, el RNA-VHC es el primer marcador que se detecta en sangre, demostrándose su presencia al cabo de tan sólo 1-2 semanas. A continuación la viremia persiste sin que haya respuesta de anticuerpos (anti-VHC) durante un período (período ventana) que varía entre pocas semanas y varios meses. En la mayor parte de los pacientes estos anticuerpos se detectan 7-8 semanas después del contacto (seroconversión), aunque hasta en un 30% pueden mantenerse negativos 9 meses después<sup>1</sup>. En la hepatitis aguda la viremia suele ser más elevada que la presente en la fase crónica y disminuye progresivamente conforme van apareciendo los anticuerpos.

En conclusión, en todo paciente en el que interese descartar un virus C como causa de una hepatitis aguda, además de serología se deberá solicitar determinación de viremia (RNA-VHC).

### PRONÓSTICO DE LA HEPATITIS AGUDA POR VHC

La evolución de las transaminasas, la viremia y la serología a lo largo de los 6-12 meses que siguen a la infección aguda, será crucial para definir correctamente la evolución de la hepatitis aguda por virus C (Fig. 2).

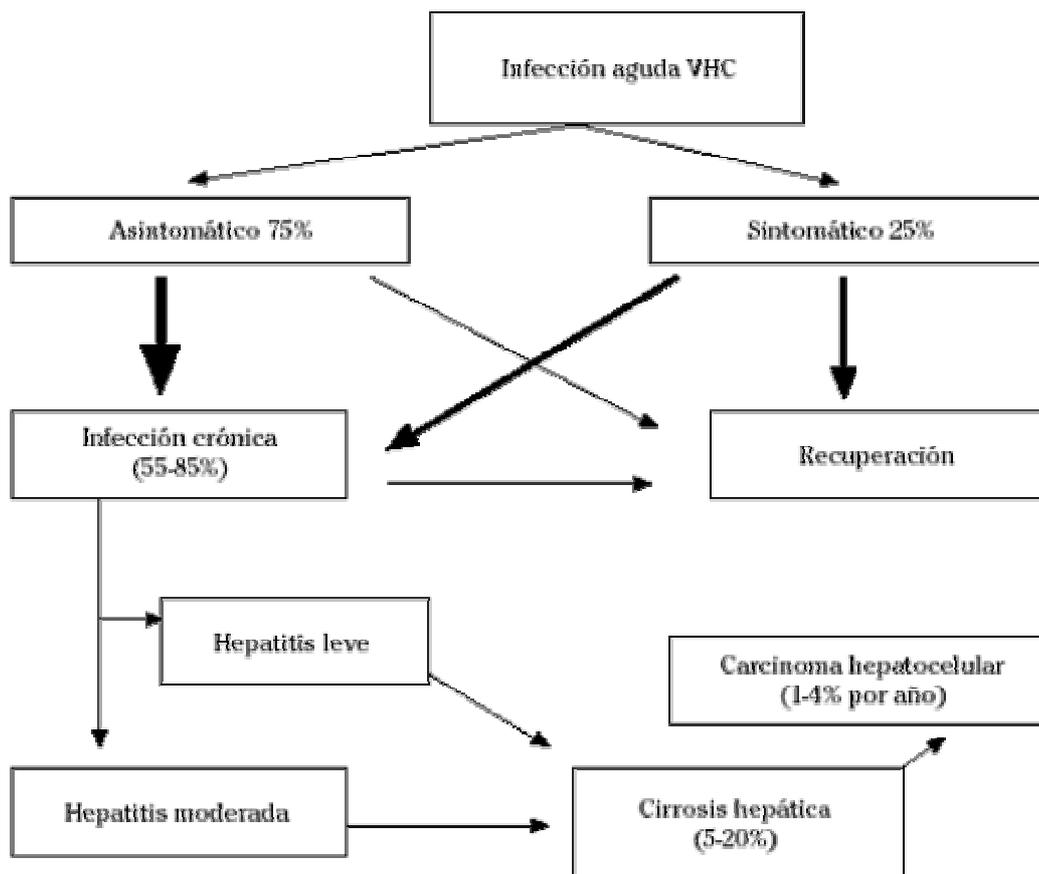


Figura 2. Evolución de la infección VHC.

Aún cuando los estudios evolutivos de la hepatitis aguda virus C son difíciles dado el carácter asintomático de la mayoría de los casos, se puede hablar de 3 patrones típicos. La mayor parte de los pacientes (55-85%), sobre todo los asintomáticos, evolucionarán hacia una hepatitis crónica, caracterizada por la persistencia de transaminasas elevadas, RNA positivo y serología positiva más allá de 6 meses tras el contacto inicial. Puede haber fluctuaciones tanto de las transaminasas como de la viremia, en ocasiones incluso separadas por períodos de normalidad.

Un 10-20% de los pacientes normalizarán las transaminasas y negativizarán el RNA-VHC, pudiendo mantener la serología positiva durante largos períodos de tiempo. Se considera que la mayor parte de estos pacientes han erradicado la infección si bien pueden existir falsos positivos para la serología, falsos negativos para la viremia o

pacientes con viremias bajas y/o fluctuantes que escapen el límite de detección de la técnica. Según estudios previos esta evolución es más frecuente en pacientes de raza blanca y sexo femenino con hepatitis aguda icterica o sintomática y niveles bajos de viremia.

Otro 10-20% de los pacientes presentarán cifras normales de transaminasas con viremia y serología positivas. La tendencia actual es a considerar a estos pacientes como portadores de una enfermedad crónica ya que, cuando se biopsia, muchos tienen alteraciones histológicas evidentes y, además, mantienen el potencial de transmisión.

# INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VHC

## CUADRO CLÍNICO GENERAL

Aproximadamente un tercio de los pacientes con hepatitis crónica por el VHC presentan una infección asintomática, con niveles bajos o persistentemente normales de transaminasas, a pesar de que presentan viremia detectable y a pesar de que pueden tener daño hepático, en general leve.

En los pacientes sintomáticos el cuadro clínico general es inespecífico, siendo los síntomas más habituales la astenia, las molestias músculo-esqueléticas y el dolorimiento en hipocondrio derecho. Estas manifestaciones no guardan correlación ni con las transaminasas, que generalmente presentan niveles ligeramente elevados y fluctuantes, ni con las alteraciones histológicas. Sin embargo, como detallaremos más adelante, existen otra serie de manifestaciones clínicas, denominadas extrahepáticas, que, aunque infrecuentemente, se asocian característicamente a la infección crónica por el VHC.

Por último, hasta en un 20% de los pacientes con hepatitis crónica por VHC la enfermedad progresa desarrollándose una cirrosis hepática. Estos pacientes presentan riesgo de desarrollar complicaciones propias de la cirrosis, bien en relación con la hipertensión portal (hemorragia gastrointestinal, encefalopatía hepática, ascitis) o en relación con la insuficiencia hepatocelular. Cuando aparecen las complicaciones propias de la hipertensión portal o del fallo funcional hepático (disminución de albúmina, elevación de bilirrubina, alargamiento del tiempo de protrombina), el pronóstico de vida de estos pacientes queda muy ensombrecido y deben ser evaluados para trasplante hepático.

Un 1-4% anual de estos pacientes con cirrosis hepática por el VHC desarrollan un carcinoma hepatocelular, constituyendo la principal etiología de este tumor en nuestro medio.

**Manifestaciones extrahepáticas de la infección crónica por VHC**

La infección crónica por el VHC se ha asociado a una gran variedad de alteraciones extrahepáticas que pueden ensombrecer el pronóstico de estos pacientes. Sin embargo, otras alteraciones extrahepáticas relacionadas con la infección por el VHC, como la producción de autoanticuerpos (autoAc) o algunos casos de crioglobulinemia mixta, pueden no provocar sintomatología clínica.

Dado que los diversos estudios publicados muestran datos discordantes, existe controversia en cuanto a la prevalencia y la etiopatogenia de dichas alteraciones extrahepáticas.

## DIAGNÓSTICO

Dado que la mayoría de los pacientes presentan síntomas inespecíficos o no presentan clínica, frecuentemente el estudio se inicia tras el hallazgo casual de un aumento de las transaminasas, fundamentalmente de la alanino amino transferasa (ALAT). Es frecuente también la elevación de la gammaglutamiltranspeptidada (GGT), del hierro sérico y de la ferritina.

El diagnóstico etiológico de infección crónica por el VHC se realiza en pruebas serológicas y virológicas.

### **Test serológicos**

Identifican la presencia de anticuerpos frente al VHC (frente a diferentes antígenos del core y proteínas no estructurales del virus). Únicamente indican exposición al virus, sin diferenciar entre infección aguda, crónica o resuelta. Estas pruebas se utilizan como screening y como técnica diagnóstica inicial.

La determinación de los anticuerpos se realiza mediante ELISA, test de los que se han desarrollado tres generaciones, aumentando su sensibilidad y acortando el período ventana de seronegatividad tras la infección aguda. Debido a la alta sensibilidad alcanzada con los ELISA de tercera generación (próxima al 100%), el inmunoblot RIBA, como test serológico confirmatorio, se utiliza cada vez con menos frecuencia.

### **Test virológicos**

Detectan secuencias específicas de ácidos nucleicos virales (RNA del VHC) que indican infección activa (replicación viral). Estos test son necesarios para confirmar la infección activa y para monitorizar los efectos del tratamiento. La determinación del RNA-VHC puede ser:

a) cualitativa: mediante PCR cualitativa, detecta RNA de VHC con una sensibilidad de 100 copias/ml. Este test resulta útil como test confirmatorio en pacientes con anti-VHC positivo, en pacientes con enfermedad hepática de etiología desconocida anti-VHC negativo (inmunocomprometidos) y en pacientes en los que se sospeche una infección aguda por VHC (para evitar el período ventana, ya que daría un falso negativo con los test serológicos).

b) cuantitativa: mediante PCR cuantitativa, permite medir los niveles séricos de RNA de VHC (carga viral). Resulta útil para valorar las posibilidades de respuesta al tratamiento y monitorizar la respuesta al mismo.

Por último, se han desarrollado varias pruebas para la determinación del genotipo viral, de utilidad práctica para establecer la duración del tratamiento.