

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

UTILIDAD DE LA MONITORIZACIÓN DEL ARN DEL VIRUS DE LA  
HEPATITIS C DURANTE EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL COMO FACTOR  
PREDICTOR DE RESPUESTA MANTENIDA

Tesis Doctoral

Francisco José Castro Bohórquez

Barcelona, Enero de 2001

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

UTILIDAD DE LA MONITORIZACIÓN DEL ARN DEL VIRUS DE  
LA HEPATITIS C DURANTE EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL  
COMO FACTOR PREDICTOR DE RESPUESTA MANTENIDA

Memoria presentada por Francisco José Castro Bohórquez para aspirar al grado de doctor en Medicina. Trabajo llevado a cabo en el Servicio de Medicina Interna-Hepatología en colaboración con el Laboratorio de referencia de Hepatología, bajo la dirección del Dr. J.I. Esteban.

Dr.J.I.Esteban

Director

A mis padres

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jaume Guardia su accesibilidad, el ejemplo de su buena praxis y el apoyo a mi labor investigadora.

Al Dr. Rafael Esteban su estímulo constante a la investigación en el Servicio de Medicina Interna-Hepatología.

Al Dr. Luis Viladomiu su gran enseñanza como clínico, su amistad y el apoyo decidido a mi labor investigadora.

A Sonia Biosca, Mayte Bové y Judit Carbonell su colaboración fundamental y el buen ambiente de trabajo en el laboratorio.

A Silvia Sauleda, que puede ser considerada coautora de la tesis, su paciencia los primeros meses tras mi llegada al Laboratorio de Hepatología cuando yo no entendía el mecanismo de la PCR, su enseñanza en los campos de la informática y la bioestadística, y su ayuda a superar los variados obstáculos que aparecieron durante el largo camino recorrido.

Al Dr. Juan Ignacio Esteban su amistad, la gran oportunidad que me ha dado de conocer la investigación médica en sus vertientes básica y clínica, y lo mucho que me ha enseñado.

A mis padres por su dedicación abnegada al cuidado de sus cuatro hijos, el estímulo de mi curiosidad por aprender desde mi tierna infancia y el apoyo incondicional a mi carrera profesional.

A mi mujer la paciencia y la comprensión a pesar de las horas de compañía robadas durante estos años.

# ÍNDICE

## INTRODUCCIÓN

|   |    |
|---|----|
| 1-EPIDEMIOLOGÍA-----  | 8  |
| 2-BIOLOGÍA MOLECULAR-----                                   | 10 |
| 2.1-Replicación del VHC-----                                | 10 |
| 2.2-Estructura y función del genoma -----                   | 10 |
| Región 5' no traducida (5'UTR)                              |    |
| Región core   |    |
| Región de la envuelta                                       |    |
| Regiones NS2 y NS3  |    |
| Regiones NS4A y NS4B  |    |
| Regiones NS5A y NS5B  |    |
| Región 3' no traducida (3'UTR)                              |    |
| 2.3-Heterogeneidad genómica del VHC-----                    | 13 |
| Quasiespecies   |    |
| Genotipo  |    |
| 3-DIAGNOSTICO INMUNOSEROLOGICO.-----                        | 16 |
| 3.1-Tests EIA-----  | 16 |
| 3.2-Tests confirmatorios-----                               | 18 |
| 3.3-Anticuerpos anti-E2.-----                               | 20 |
| 3.4-Anticuerpos IgM anti-VHC-----                           | 21 |
| 3.5-Detección de antígenos de VHC.-----                     | 22 |
| 4-DIAGNOSTICO MOLECULAR-----                                | 23 |
| 4.1-Técnicas cualitativas.-----                             | 23 |
| 4.2-Técnicas cuantitativas-----                             | 25 |
| 4.3-Determinación del genotipo-----                         | 28 |
| 4.4-Estimación de la complejidad de la población viral----- | 28 |
| 5-HISTORIA NATURAL-----                                     | 29 |
| 6-HISTOLOGÍA HEPÁTICA-----                                  | 30 |
| 6.1-Hepatitis aguda   |    |
| 6.2-Hepatitis crónica                                       |    |

|  |     |
|--|-----|
| 7-TRATAMIENTO.....   | 33  |
| 7.1-Interferón.....  | 33  |
| Indicación   |     |
| Definición de respuesta  |     |
| Dosis y duración   |     |
| Efectos adversos   |     |
| Factores predictivos de respuesta  |     |
| Monitorización durante el tratamiento  |     |
| 7.2-Ribavirina.....  | 37  |
| 7.3-Terapia combinada.....   | 37  |
| Eficacia   |     |
| Efectos adversos   |     |
| Factores predictivos de respuesta  |     |
| Monitorización durante el tratamiento  |     |
| <br>   |     |
| OBJETIVOS.....   | 40  |
| <br>   |     |
| ARTÍCULOS  |     |
| Artículo 1   |     |
| Artículo 2   |     |
| Artículo 3   |     |
| <br>   |     |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN   |     |
| 1-Evaluación de la segunda versión de un método comercial<br>de RT/PCR cualitativa y cuantitativa para VHC.....                      | 77  |
| 1.1-RT/PCR cualitativa.....  | 77  |
| 1.2-RT/PCR cuantitativa.....   | 79  |
| 2- Valor predictivo de la RT/PCR cualitativa durante el tratamiento<br>de la hepatitis C con interferón o tratamiento combinado..... | 81  |
| 2.a-Grupo de monoterapia con interferón- <del>2</del> b.....   | 82  |
| 2.b-Grupo de tratamiento combinado.....  | 85  |
| 3-Valor predictivo de la RT/PCR cuantitativa durante<br>los primeros meses de tratamiento combinado.....                             | 91  |
| <br>   |     |
| CONCLUSIONES.....  | 99  |
| <br>   |     |
| BIBLIOGRAFÍA.....  | 101 |

# INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis C (VHC) fue descubierto en 1989.<sup>1</sup> Las primeras técnicas de detección de anticuerpos anti-VHC permitieron identificarlo como el principal agente causal de las hepatitis postransfusionales.<sup>2-4</sup> En la actualidad constituye la causa más prevalente de hepatitis crónica en los países desarrollados. La historia natural de la infección por VHC se caracteriza por una gran tendencia a la cronicidad, llegando en una proporción de casos a desarrollar cirrosis hepática e incluso hepatocarcinoma. La enfermedad hepática terminal en relación con VHC es una de las principales indicaciones de trasplante hepático en nuestro entorno.<sup>5-7</sup>

## 1-EPIDEMIOLOGÍA

La infección por VHC ha sido descrita en los cinco continentes. Su prevalencia en los países industrializados es del 1-2% de la población general, mientras que en regiones de Europa del Este y África la prevalencia es mayor (hasta del 15% en Egipto). La infección afecta en todo el mundo a más de 150 millones de personas.<sup>8</sup>

Las principales vías de transmisión de la infección son parenterales: la transfusión de hemoderivados y el consumo de drogas por vía endovenosa<sup>9</sup>. Otras vías de transmisión menos eficaces son la transmisión vertical materno-fetal<sup>10</sup> (alrededor de un 5% de embarazos en madres portadoras; la coinfección con HIV y la carga viral superior a  $10^6$  copias de VHC /ml se relacionan con un riesgo mayor), y la infección nosocomial tras maniobras diagnósticas o terapéuticas cruentas.<sup>11</sup> Los trabajadores sanitarios constituyen un grupo de riesgo, aunque la incidencia de infección tras pinchazo accidental es tan solo del 5-10%.<sup>12-14</sup>



Los estudios sobre la vía sexual no han demostrado de forma convincente que la infección por VHC se transmita por dicha vía.<sup>15,16</sup> Los datos disponibles sobre la posibilidad del contagio del VHC mediante la convivencia en el hogar y la lactancia materna no sugieren que estas vías de transmisión sean efectivas.<sup>17,18</sup>

En nuestro medio, aproximadamente un 40% de los pacientes con hepatitis C no presenta ningún factor de riesgo parenteral.<sup>19</sup> La principal hipótesis que explicaría este hecho es la exposición parenteral inaparente (inyecciones intramusculares no estériles, tatuajes, cirugía).

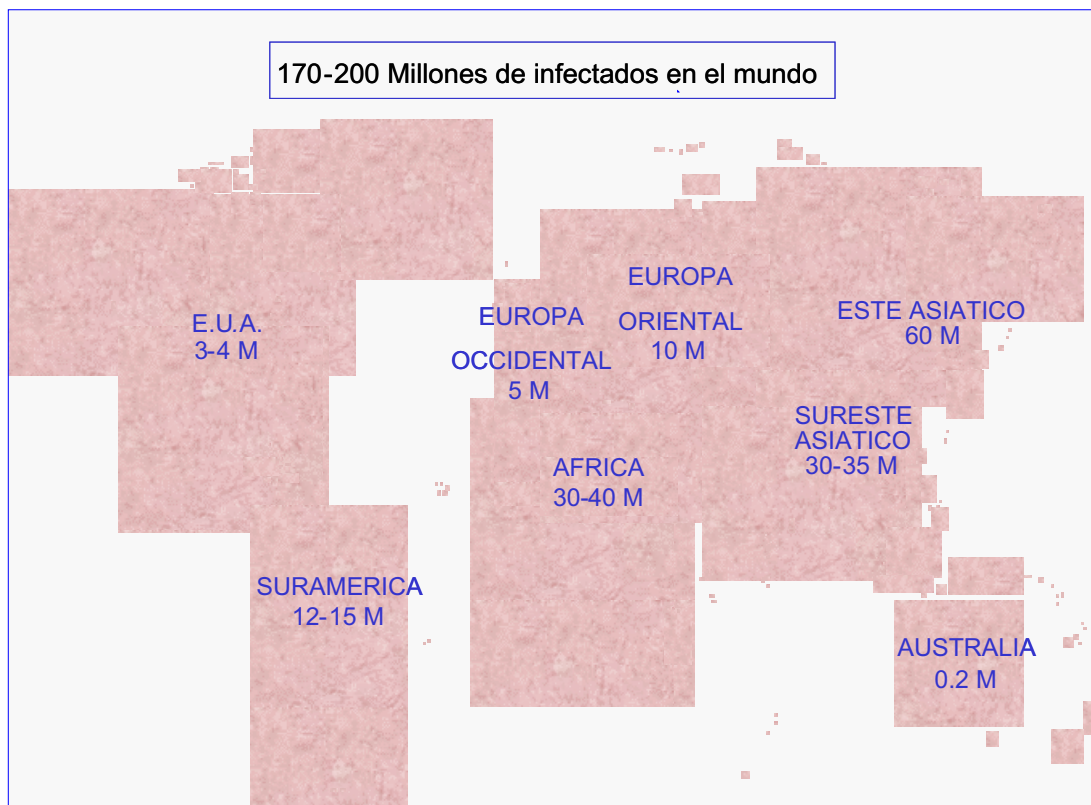


Figura1. Distribución mundial de la prevalencia estimada de la infección por VHC en cifras absolutas.

## 2-BIOLOGÍA MOLECULAR

El VHC es de pequeño tamaño (40-50 nm)<sup>20,21</sup> y tiene una envoltura glicoproteica que contiene lípidos.<sup>22</sup> Debido a su homología parcial y organización genómica similar a los flavivirus humanos, como el virus de la fiebre amarilla, y a los pestivirus animales como el virus del cólera porcino, el VHC ha sido clasificado como un tercer género dentro de la familia *Flaviviridae*.<sup>23</sup>

### 2.1-Replicación del VHC:

A pesar de que el VHC fue clonado y secuenciado hace más de 10 años, la ausencia de cultivos celulares eficientes no ha permitido conocer con exactitud su mecanismo de replicación celular. Los datos disponibles sugieren que el VHC no se integra en el genoma de la célula infectada, la replicación vírica se produce en el citoplasma en un complejo asociado a membrana<sup>24</sup>, donde se forma un ARN intermediario de cadena negativa, a partir del cual se sintetiza el ARN de cadena positiva que junto con el cápside y la envoltura darán lugar al virión<sup>25</sup>.

### 2.2-Estructura y función del genoma del VHC:

Su genoma está constituido por una molécula de ARN 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<sup>26</sup>, a partir de la cual se liberan las distintas proteínas virales por la acción combinada de proteasas del hepatocito y dos proteasas virales.

Un 25% de la poliproteína da lugar a las proteínas estructurales (nucleocápside y envoltura) y el resto a seis proteínas no estructurales.<sup>27</sup> El orden de los genes codificantes es:

5'-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-3'

**Región 5' no traducida (5'UTR):** está formada por los primeros 332-342 nucleótidos del extremo 5'. Esta secuencia genómica no codifica proteína alguna, sin embargo es esencial para la traducción,<sup>28,29</sup> ya que adopta una estructura terciaria necesaria para el anclaje del ribosoma, lo que explicaría porqué su secuencia está tan bien conservada entre todos los aislados secuenciados (homología superior al 97%)<sup>30</sup>. Esta característica la convierte en idónea para las técnicas de diagnóstico molecular basadas en la amplificación génica por PCR y para el diseño de nuevos fármacos antivirales.<sup>31,32</sup>

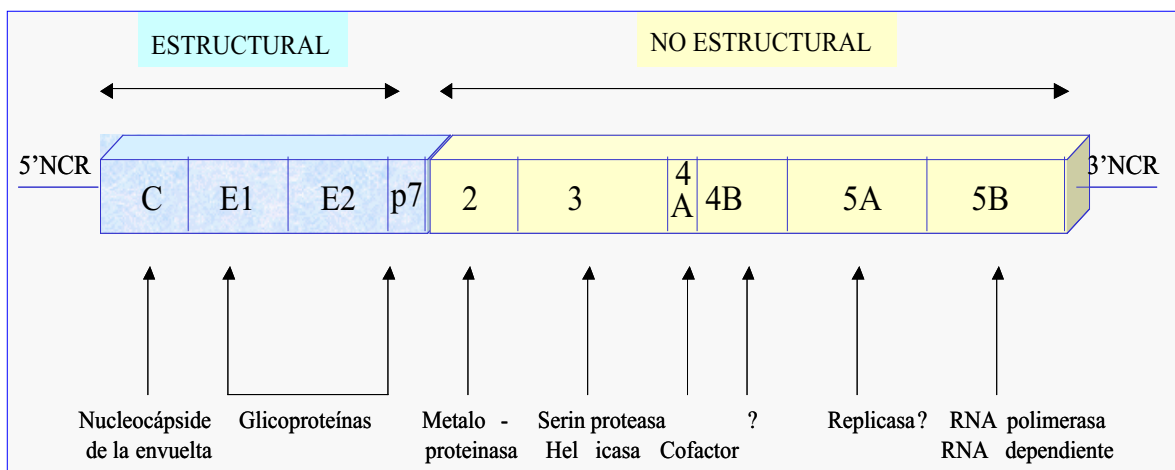


Figura 2. División funcional del genoma del VHC.

**Región del core:** El producto del gen C, una pequeña proteína no glicosilada de 190 aminoácidos (p22) constituye la subunidad básica de la proteína de nucleocápside que forma el core del virión.<sup>33</sup>

**Región de la envoltura:** Los siguientes genes E1 y E2 codifican las dos glicoproteínas de envoltura del VHC: gp35 y gp70.<sup>34,35</sup> Una característica importante del gen E2 es la presencia de una región hipervariable (HVR-1), correspondiente a los primeros 27 aminoácidos de la proteína gp70, que están expuestos en la superficie del virus y contienen epítomos para linfocitos B.<sup>36,37</sup>

**Regiones NS2 y NS3:** codifican dos proteasas que intervienen en el procesamiento de toda la región no estructural del precursor poliproteico.<sup>38,39</sup> NS2 es una autoproteasa metalodependiente, y NS3 es una proteasa-helicasa.

**Regiones NS4A y NS4B:** El producto de NS4A actúa como cofactor de la actividad serin-proteasa de NS3.<sup>40,41</sup> La función del producto p27 de NS4B es desconocida.

**Regiones NS5A y NS5B:** El gen NS5A codifica dos productos fosforilados de 56 y 58 kD que probablemente juegan un papel importante en el mecanismo de replicación viral, ya que se ha descrito una relación entre la secuencia de NS5A y la respuesta al tratamiento con interferón.<sup>42</sup> Por último, el producto de NS5B contiene el dominio ARN polimerasa ARN dependiente esencial para la replicación del genoma del VHC.<sup>43</sup>

**Región 3' no traducida (3'UTR):** La zona codificante del genoma del VHC termina en un único codón de parada, al que sigue una región no traducida (3'UTR) de 200 a 235 nucleótidos que puede ser dividida en cuatro partes: una secuencia variable de 40 nucleótidos, una ristra de uracilos (poly-U), una secuencia polypirimidínica, y una región altamente conservada (98-100% de homología entre aislados) de 98 nucleótidos, de los que los últimos 46 adoptan una estructura en bucle cerrado.<sup>44</sup> Se cree que el extremo 3' es esencial para la replicación viral aunque se desconocen sus funciones exactas.<sup>45</sup> En similitud con la región 5'UTR, el extremo 3' se ha convertido en una atractiva diana para el desarrollo de técnicas de diagnósticos molecular así como para el desarrollo de fármacos antivirales.

### 2.3-Heterogeneidad genómica del VHC:

El VHC, como casi todos los virus ARN, se caracteriza por un alto grado de heterogeneidad genómica como consecuencia de la incapacidad de la ARN polimerasa de corregir errores durante la replicación. Esta heterogeneidad se expresa a dos niveles: quasiespecies y genotipos.

**Quasiespecies:** En el sujeto infectado no existe una única secuencia genómica, sino una población viral consistente en una compleja mezcla de mutantes íntimamente relacionados pero con diferencias de uno o más nucleótidos, distribución genómica a la que se denomina “quasiespecies”<sup>46,47</sup>.

La tasa global de fijación de mutaciones del VHC en el sujeto infectado se ha calculado en  $1.44-1.92 \times 10^{-3}$  cambios de nucleótido por posición genómica y año<sup>48</sup>.

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.

La distribución en quasiespecies de los virus ARN representa una ventaja adaptativa ya que la presencia de múltiples variantes genómicas y la rápida generación de nuevas mutaciones permite la rápida selección del/los mutante/s más idóneos para cualquier situación ambiental. Implicaciones biológicas de este proceso serían la selección de mutantes resistentes a los fármacos antivirales, de mutantes de escape a la inmunidad antígeno específica y cambios en la virulencia o patogenicidad.

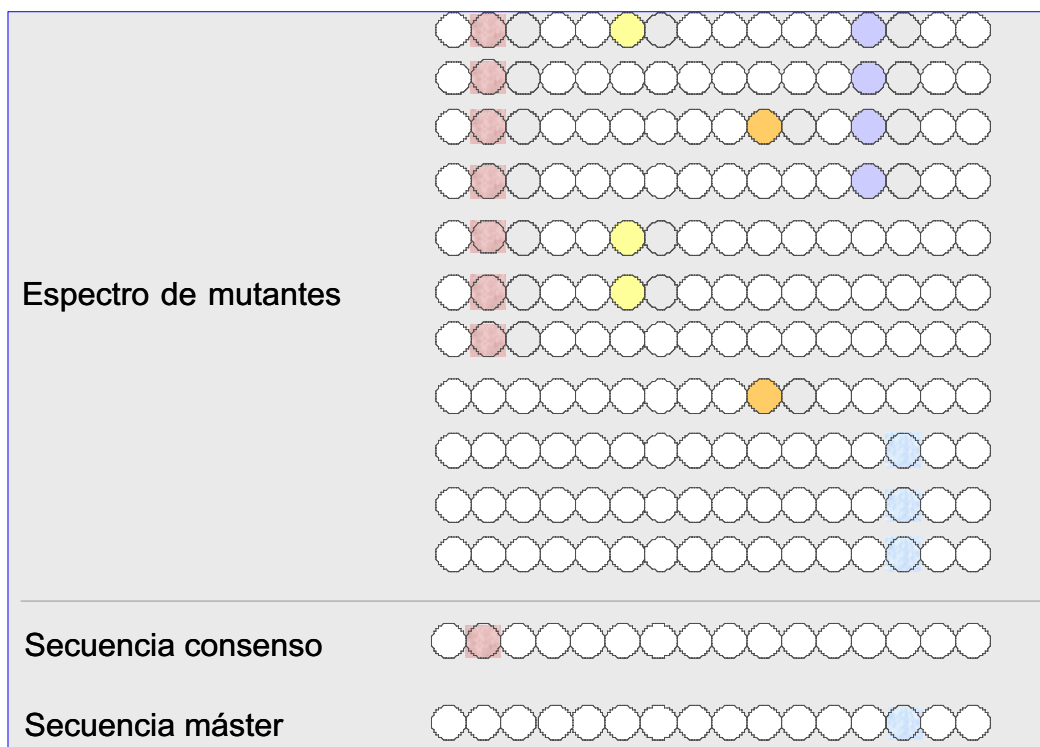


Figura 3. Representación esquemática del concepto de quasiespecies.

En 1992 Okada y col.<sup>49</sup> hallaron una relación entre la variabilidad genómica en el dominio HVR-1 y la respuesta al tratamiento con interferón. Posteriormente varios estudios han confirmado la correlación entre complejidad de la quasiespecie y respuesta al tratamiento con interferón<sup>50-52</sup>.

**Genotipos:** El distinto grado de homología global entre los aislados secuenciados y la observación de mutaciones de nucleótidos y aminoácidos específicamente segregables en grupos o subgrupos en prácticamente todas las regiones genómicas del VHC ha dado lugar a la clasificación de los aislados del VHC en genotipos y subtipos, cuyas secuencias globales difieren entre sí en un 30 y 20% respectivamente.

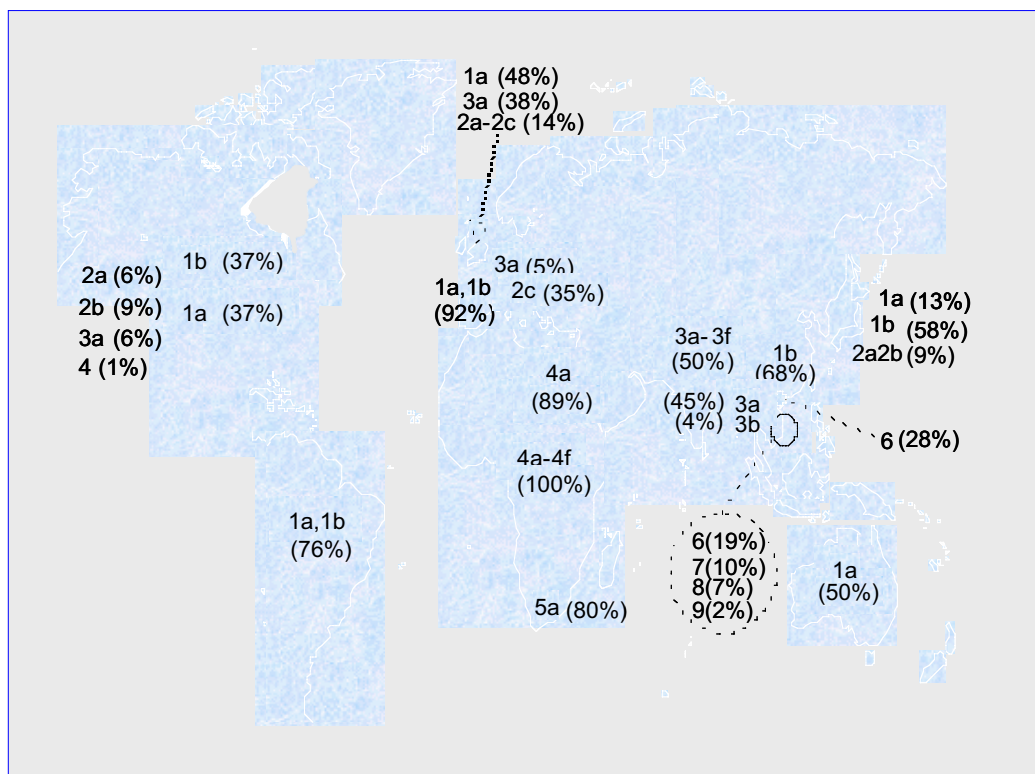


Figura 4. Distribución geográfica de los genotipos del VHC.

En la actualidad se acepta la existencia de al menos 6 genotipos y numerosos subtipos. De acuerdo con la nomenclatura más empleada los genotipos se denominan mediante un número, mientras que los subtipos se designan mediante una letra minúscula, en ambos casos por orden de descubrimiento<sup>53,54</sup> (i.e. 1a, 1b, 2a, 2b, etc.). Los genotipos 1, 2 y 3 están ampliamente distribuidos por todo el mundo, siendo el genotipo 1 el más prevalente en la mayoría de los países. El resto de genotipos está restringido a determinadas áreas geográficas.

### 3-DIAGNÓSTICO INMUNOSEROLÓGICO

#### 3.1-Enzaimmunoensayos. Tests de cribaje:

Los primeros enzaimmunoanálisis (EIA) para anti-VHC detectaban anticuerpos contra una única proteína antigénica recombinante<sup>2</sup> (c-100-3), correspondiente a una pequeña porción carboxiterminal de la proteína codificada por el gen NS3 y a la mayoría del producto codificado por NS4.

Estos tests de primera generación (EIA-1) permitieron acumular una enorme cantidad de información sobre la epidemiología de la infección y, su empleo para el cribaje de los donantes redujo la incidencia de hepatitis postransfusional de tipo C en alrededor de un 80%. Los tests EIA-1, sin embargo, carecían de la suficiente sensibilidad y, además, resultaban muy inespecíficos en grupos de baja prevalencia, con tasas de falsos positivos entre el 30 y el 70% en los donantes de sangre voluntarios.

Los inmunoensayos de segunda generación (EIA-2), representaron un notable cambio en la sensibilidad al incluir además del c-100-3 proteínas recombinantes



correspondientes a zonas más inmunógenas como el core (c22-3) y el producto completo de la región NS3 (c33c)<sup>55,56</sup>. En algunos EIA-2 comerciales los antígenos c33cy c-100-3 están combinados en una única proteína recombinante (c200), lo que permite aumentar la cantidad de antígeno presente en la fase sólida del test. Los tests EIA de segunda generación han sido reemplazados por los de tercera generación (EIA-3). Estos últimos, incorporan parte de la proteína codificada por la región NS5, mientras que los antígenos correspondientes a la proteína del core y de NS4 están presentes en forma de proteínas recombinantes o como péptidos sintéticos. Los EIA de tercera generación son aún más sensibles que los de segunda generación, aunque no siempre más específicos. El incremento en cuanto a sensibilidad se debe a una optimización de los antígenos presentes en los EIA-2 y no a la incorporación de la proteína de NS5.

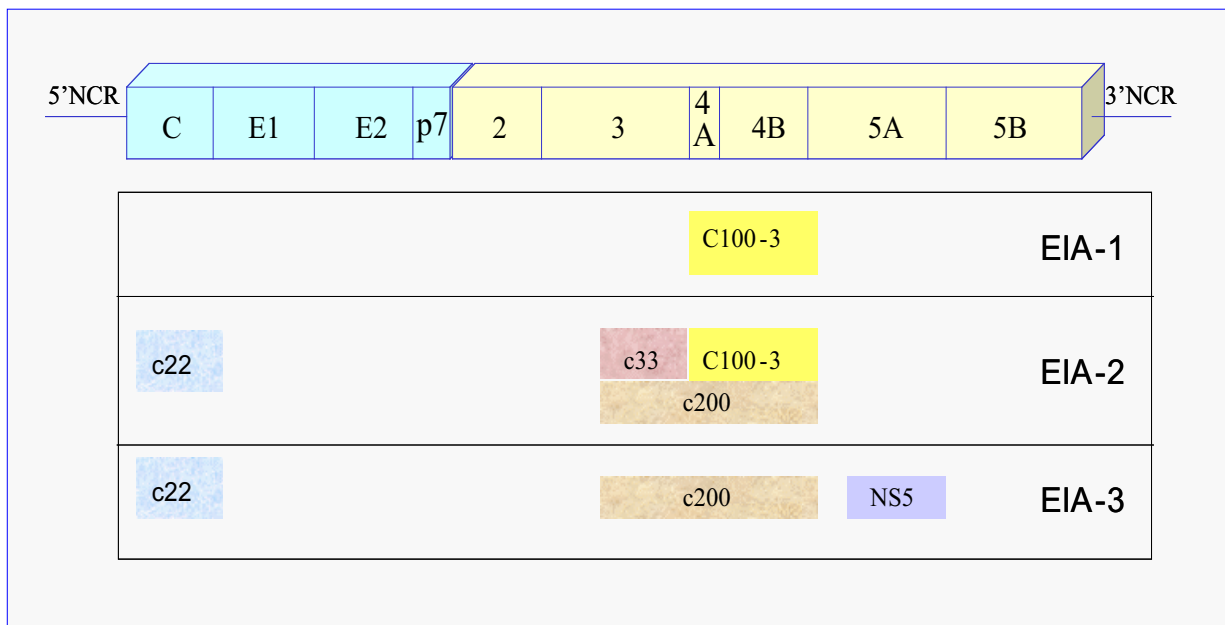


Figura 5. Representación de los antígenos del VHC utilizados en cada versión de test de EIA (enzima inmunoanálisis).

El cribaje de donantes de sangre mediante EIAs de segunda y tercera generación prácticamente ha eliminado la hepatitis postransfusional C<sup>57,58</sup>, aunque continúan presentando algunas limitaciones: a) El intervalo entre infección y seroconversión (período de ventana) oscila entre 9 y 10 semanas para EIA-2y entre 6 y 8 semanas para EIA-3, lo que ha dado lugar a casos aislados de hepatitis C postransfusional a partir de donantes infecciosos en período de ventana; b) Resultados falsos negativos en pacientes inmunodeficientes o bajo terapia inmunosupresora con infección por VHC; y c) Resultados falsos positivos o indeterminados en grupos de bajo riesgo como los donantes de sangre.

### 3.2-Tests confirmatorios o suplementarios para anti-VHC:

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 o EIA-3 es indicativa de infección activa por VHC. En estos casos está indicado un test para RNA viral en suero antes de comunicar el resultado y establecer potenciales consejos terapéuticos. Para los donantes de sangre de bajo riesgo o individuos sin factor de riesgo percutáneo y transaminasas normales, se han desarrollado tests suplementarios para confirmar la especificidad del resultado del EIA.

Los tests suplementarios actualmente disponibles son inmunoblots prefabricados en los que, sobre un soporte de nitrocelulosa se han fijado por separado antígenos recombinantes o mezclas de antígenos recombinantes y péptidos sintéticos. Uno de los más utilizados es un inmunoblot de segunda generación ( RIBA-2. HCV SIA. Chiron Corp. Emeryville, CA.), que consiste en una tira de nitrocelulosa a la que se han fijado en forma de bandas separadas las proteínas recombinantes 5.1.1 y c100-3

(NS4) así como c33c (NS3) y c22-3 (core), así como dos niveles de control de IgG humana. Trás la incubación, la fijación de anticuerpos séricos a cualquiera de los antígenos prefijados en la tira se demuestra por un simple ensayo inmunoenzimático colorimétrico. Se dice que una muestra es positiva cuando reacciona contra al menos dos antígenos distintos del VHC (a excepción de la combinación 5.1.1/c100-3), indeterminada cuándo hay reactividad frente a un sólo antígeno y negativa cuándo no reacciona frente a ninguno.

Un resultado positivo en RIBA-2 se correlaciona estrechamente con la presencia de viremia e infecciosidad, y lesión histológica hepática tanto en donantes de sangre como en grupos de riesgo<sup>59,60</sup>. Otros tests suplementarios de segunda y tercera generación, disponibles comercialmente en Europa han sido objeto de una reciente revisión; en general, estos tests no difieren sustancialmente del inmunoblot recombinante de Chiron, ni en su formato, ni en los antígenos incluidos, ni en su rendimiento<sup>61</sup>.

La proporción de resultados indeterminados en RIBA-2/3 es inferior al 5% en pacientes inmunocompetentes con hepatitis crónica C, pero hasta del 35% en donantes de sangre voluntarios. Se han realizado numerosos estudios a fin de clarificar el significado práctico de los patrones indeterminados en RIBA-2/3 y otros tests equivalentes<sup>63-65</sup>. Los resultados de estos y otros estudios pueden resumirse como sigue: a) Prácticamente todas las reactividades aisladas para 5.1.1. y/o c100-3 en RIBA-2 y frente a NS5 en RIBA-3 corresponden a falsos positivos; b) Dependiendo de la prevalencia de infección por VHC en la población general de un área determinada, una proporción variable de indeterminados frente a core o NS3, reflejan

la presencia de anticuerpos específicos contra dichos antígenos, lo que puede confirmarse mediante tests suplementarios de tercera generación y/o mediante el test para anticuerpos anti-E2; c) A pesar de confirmarse la especificidad de los anticuerpos detectados, la mayoría de donantes con patrón indeterminado en RIBA-2/3 parecen haberse recuperado de la infección por VHC ya que el ARN viral únicamente se detecta, generalmente a título muy bajo (10<sup>2</sup> –10<sup>3</sup>), en alrededor del 20% de casos, y sólo en la minoría de los que presentan viremia persistente puede evidenciarse lesión hepática histológica de hepatitis crónica; d) Los tests suplementarios tienen muy poco valor en pacientes inmunodeficientes de alto riesgo (hemodializados, drogadictos VIH positivos, etc) ya que en éstos, muchos resultados RIBA-2/3 indeterminados o negativos se acompañan de viremia detectable y hepatitis crónica C.

### 3.3-Anticuerpos anti-E2:

Recientemente, se ha desarrollado un inmunoensayo en micropartículas para la detección de anticuerpos contra una proteína recombinante que incluye la gp70 de envoltura codificada por la región E2, expresada en células de mamífero (Abbott Laboratories, Abbott Park. IL).<sup>62</sup> Los resultados preliminares de la evaluación de este inmunoensayo muestran que la seroconversión a anti-E2 se detecta, de forma precoz, en más del 95% de pacientes infectados y suele ser el primer anticuerpo detectable.

Así mismo, el anticuerpo se detecta indefinidamente en el 98% de los casos con infección persistente, mientras que el descenso de sus niveles y eventual desaparición parece ser un marcador fiable de curación espontánea (en pacientes tratados pueden pasar varios años hasta que el anticuerpo sea indetectable). El anti-E2 parece ser el marcador más frecuente en pacientes virémicos (presente en el 97% de casos),

independientemente del genotipo de VHC, y su presencia y nivel se correlacionan con la viremia. Este test es capaz de demostrar exposición al VHC en el 50% de sujetos c22p indeterminados en RIBA-3 (tabla 1). Se trata pues de una mejora significativa en el diagnóstico inmunoserológico de infección por VHC, como test suplementario para confirmar la especificidad de un resultado positivo en el test de cribaje, o como marcador indirecto de viremia.

#### 3.4-Anticuerpos de tipo IgM contra el VHC:

Se han desarrollado métodos para la determinación de anticuerpos de tipo IgM contra distintos antígenos virales en pacientes con infección aguda o crónica<sup>66,67</sup>. La respuesta serológica de tipo IgM que se ha detectado de forma más consistente ha sido la dirigida contra determinantes antigénicos del core. No se ha podido demostrar una relación entre anti-VHC tipo IgM y hepatitis aguda C.

En cambio, durante la infección crónica puede detectarse IgM anti-HCV-core en el 75% de casos y su nivel tiende a ser superior en pacientes con elevada carga viral. Durante el tratamiento antiviral con interferón, el anticuerpo se vuelve indetectable en los respondedores, reaparece en aquellos que recidivan y su nivel no cambia en los no respondedores. El porcentaje de respondedores al tratamiento antiviral es mayor en los pacientes previamente IgM-negativos. Por todo ello, la determinación de Igm anti-VHC core se ha propuesto como un método indirecto para la monitorización del tratamiento antiviral, aunque su utilidad en este sentido todavía no ha sido demostrada.

### 3.5-Técnicas para la detección de antígenos del VHC:

Recientemente se ha desarrollado un enzaimunoen ensayo fluorescente capaz de detectar y cuantificar antígeno del core del VHC en el suero de los pacientes con infección activa<sup>68</sup>. Dicho test, que utiliza dos anticuerpos monoclonales de alta afinidad contra péptidos del core, es muy específico y capaz de detectar el equivalente a  $10^4 - 10^5$  viriones por ml, demostrando una excelente correlación con los niveles de viremia detectados mediante técnicas moleculares (bDNA o PCR competitiva). Esta técnica podría reemplazar o complementar a los métodos moleculares para estimar la carga viral y monitorizar el tratamiento antiviral.

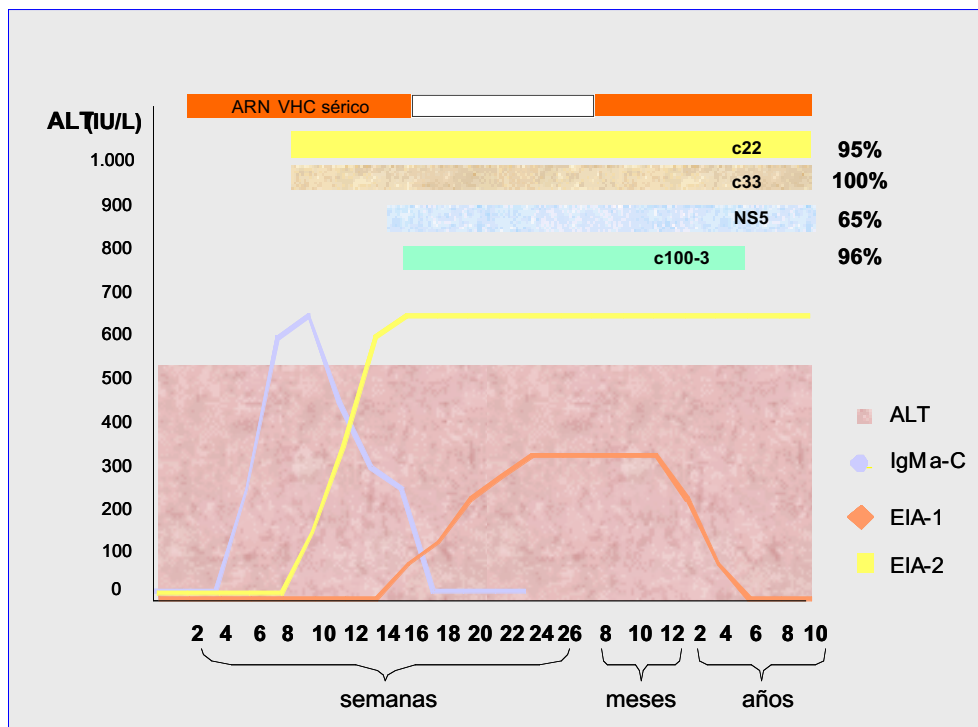


Figura 6. Cronología de la infección por VHC en relación con los hallazgos en las determinaciones de niveles de anticuerpos anti-HCV.