



Universidad de Granada
Programa de Doctorado en Biomedicina

**AVANCES Y DESAFÍOS EN LA ELIMINACIÓN DE LA HEPATITIS C:
ESTRATEGIAS INNOVADORAS PARA COMBATIR UNA
ENFERMEDAD GLOBAL**

TESIS DOCTORAL

Ana Fuentes López

Granada, 2023

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Ana Fuentes López
ISBN: 978-84-1117-023-7
URI: <https://hdl.handle.net/10481/84667>



Universidad de Granada
Programa de Doctorado en Biomedicina

**AVANCES Y DESAFÍOS EN LA ELIMINACIÓN DE LA HEPATITIS C:
ESTRATEGIAS INNOVADORAS PARA COMBATIR UNA
ENFERMEDAD GLOBAL**

Director de Tesis:

Dr. Federico García García

Memoria presentada por **D^a. Ana Fuentes López** para
optar al grado de Doctora por la Universidad de Granada
en el Programa de Doctorado en Biomedicina.

2023

La doctoranda **Ana Fuentes López** y el director de la tesis, **Dr. Federico García García** garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección del director de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, a 20 de junio de 2023.

Director de la Tesis

Doctoranda

Fdo. Dr. Federico García García

Fdo. Ana Fuentes López

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mi director de tesis D. Federico García la confianza depositada en mi para la realización de este trabajo, su apoyo y ánimo constante y sobre todo su paciencia. Por haberme hecho crecer profesionalmente y mostrarme el mundo de la investigación, gracias por dejarme “salvar vidas”.

A todos y cada uno de los profesionales con los que me he cruzado, de los que aprendo cada día, no solo en el terreno laboral sino también en lo personal: Marta, Natalia, Fernando, Violeta, Paco, Laura R, Mabel, Cristina, Alejandro, Javier, Recio, M^a Dolores Valera, Jose Antonio, M^a Ángeles, Mérida, Araceli, Feli, Carmen Pérez, Lola Sánchez, Carmen Costela, Toñi Polo, Toñi García, Paqui López, Yolanda, Óscar, Paco, Estrella, Ana, Rafi, Súper Secre y Jose Luis. Sencillamente, gracias.

Gracias a Paz, por ser una excelente Resi mayor y brindarme su apoyo y amistad desde el principio. Gracias a todos los que vinieron después, por los ánimos y las risas compartidas, por hacer mi día a día más llevadero: Lucía C, Marta, Lucía P, Ana, Alberto, Laura G, Luis y Marco. Mención especial a Esther, Adolfo y Laura Viñuela, que son los que me “soportan” más tiempo, por sus consejos, por acompañarme en este viaje, por estar siempre que los necesito, por tantos y tan buenos momentos vividos; porque sé que este trabajo sin vosotros no sería igual, y en definitiva por cuidarme. Más que compañeros sois amigos.

Por último, pero no menos importante, a mis padres por inculcarme el valor del esfuerzo y la perseverancia, por darme el mejor regalo que se puede tener, a mis hermanas; por su apoyo constante, por creer en mi más de lo que yo lo hago. Por vuestra infinita generosidad y entrega, no hay palabras suficientes para expresar mi agradecimiento. A mis sobrinas. A mis tías y primos. A los que ya no están. Este trabajo también es vuestro.

Y a ti, que tienes esta tesis entre tus manos, por algo será. GRACIAS.

Índice

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	9
LISTADO DE ABREVIATURAS	13
INDICE DE FIGURAS	16
INDICE DE TABLAS	17
RESUMEN	19
SUMMARY	22
INTRODUCCIÓN	24
1. Virus de la Hepatitis C.	25
2. Ciclo de replicación del virus de hepatitis C	31
3. Historia natural de la infección por VHC	33
4. Epidemiología	35
5. Vías de transmisión	39
6. Patogenia	41
7. Diagnóstico	45
7.1. Diagnóstico Indirecto	46
7.2. Diagnóstico Directo	47
7.3. Cinética de los marcadores para el VHC	50
7.4. Diagnóstico del VHC en la práctica clínica asistencial	52
8. Prevención	54
9. Tratamiento	55
10. Estrategias para la eliminación del VHC	64
PLANTEAMIENTO E HIPÓTESIS DE LA TESIS DOCTORAL	69
<i>CAPÍTULO I</i>	<i>73</i>
<i>DERIVACIÓN Y DIAGNÓSTICO EN UN SOLO PASO. CASCADA DE TRATAMIENTO.</i>	<i>73</i>
1. Objetivo y Justificación	74
2. Material y Métodos	75
3. Resultados	79
4. Discusión	83
<i>CAPÍTULO II</i>	<i>91</i>
<i>BÚSQUEDA DE PACIENTES PERDIDOS EN EL SISTEMA: RE-LINK</i>	<i>91</i>
1. Objetivo y justificación	92
2. Material y métodos	93
3. Resultados	94
4. Discusión	95

CAPÍTULO III	99
<i>ESTRATEGIA DE AGRUPACIÓN DE MUESTRAS (POOLING)</i>	99
1. Objetivo y Justificación	100
2. Material y Métodos	101
3. Resultados	104
4. Discusión	106
CAPÍTULO IV	110
<i>ELIMINACIÓN VHC EN PACIENTES CON TRASTORNO MENTAL GRAVES</i>	110
1. Objetivo y Justificación	111
2. Material y Métodos	112
3. Resultados	114
4. Discusión	116
CAPÍTULO V	122
<i>LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE VHC COMO UNA AMENAZA PARA LA ELIMINACIÓN</i>	122
1. Objetivo y justificación	123
2. Material y métodos	124
3. Resultados	125
4. Discusión	129
CONCLUSIONES	132
BIBLIOGRAFÍA	135
ANEXOS: Aspectos éticos	148

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Los resultados de esta tesis doctoral han sido presentados a congresos nacionales e internacionales y finalmente han sido publicados en la revista “*Clinical Microbiology and Infection*”, indexada en *Journal Citation Reports* en las categorías de *Infectious Diseases* en la posición 12 de 95 y *Microbiology* en la posición 13 de 137, según su ranking en el área, situada en un decil 1 (IF: 13,310, año 2021).

Congresos nacionales:

- Aplicación en la vida real de la detección ARN VHC mediante sistema de agrupación de muestras. Comunicación Póster. XXV Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Granada. 02/06/2022.
- Re-LINK Granada, una estrategia para la búsqueda de pacientes diagnosticados de VHC y perdidos en el sistema. Comunicación Póster. XXV Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Granada. 02/06/2022.
- Caracterización mediante secuenciación masiva de pacientes infectados con virus hepatitis C en Jordania. Comunicación Póster. VII Congreso Nacional del Grupo de Estudio de las Hepatitis Víricas (GEHEP) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Murcia. 22/09/2022
- Re-LinK Granada: Búsqueda activa de pacientes diagnosticados de VHC. Comunicación Póster. VII Congreso Nacional del Grupo de Estudio de las Hepatitis Víricas (GEHEP) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Murcia. 22/09/2022.
- Diagnóstico y derivación de pacientes con trastorno mental grave: una oportunidad para la microeliminación de la hepatitis C. Comunicación Póster Oral. VI Congreso Nacional del Grupo de Estudio de las Hepatitis Víricas (GEHEP) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 23/09/2021

- Estudio piloto combinación de muestras de plasma para la detección del ARN de la hepatitis C: una estrategia para ampliar el acceso al diagnóstico. Comunicación Oral. VI Congreso Nacional del Grupo de Estudio de las Hepatitis Víricas (GEHEP) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 23/09/2021
- Micro-eliminación de hepatitis C: estrategia de citación directa de los nuevos diagnósticos de atención primaria. Comunicación Póster Oral. V Congreso Nacional del Grupo de Estudio de las Hepatitis Víricas (GEHEP) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 28/09/2019

Congresos internacionales:

- Pooling of plasma samples for hepatitis C RNA detection in a real-life setting as screening strategy. Comunicación Poster. 32th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. Lisboa. 23/04/2022
- Real-life pooling of plasma samples for hepatitis C RNA detection is feasible and reduces laboratory costs. Comunicación Poster. International Liver Congress. 23/06/2021
- An optimized strategy for linkage to care patients newly diagnosed of active hepatitis C infection. Comunicación Poster. 30th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 21/04/2020

Publicaciones:

- Aguilera A, **Fuentes A**, Cea M, Carracedo R, Viñuela L, Ordóñez P, López-Fabal F, Sáez E, Cebrián R, Pérez-Revilla A, Pereira S, De Salazar A, García F. *Real-life validation of a sample pooling strategy for screening of hepatitis C*. Clin Microbiol Infect. 2023 Jan;29(1):112.e1-112.e4. doi: 10.1016/j.cmi.2022.09.006. Epub 2022 Sep 20. PMID: 36210627.
- **Fuentes A**, Salazar A, Aguilera A, Téllez F, Cervilla J, González-Domenech PJ, Gutiérrez-Rojas L, García F. *HEPATITIS C VIRUS SCREENING AND LINKAGE TO CARE IN MENTAL HEALTH UNITS: AN OPPORTUNITY FOR HCV ELIMINATION*. Actas Esp Psiquiatr. 2022 Mar;50(2):120-121. Epub 2022 Mar 1. PMID: 35312998.

LISTADO DE ABREVIATURAS

AAD	Antiviral de Acción Directa
Ac	Anticuerpo
AEEH	Asociación Española de Estudio del Hígado
Ag	Antígeno
ALT	Alanina aminotransferasa
ARN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN-QS	Estándar de cuantificación ARN
AST	Aspartato aminotransferasa
cDNA	ADN complementario
CLIA	Ensayo de quimioluminiscencia
CMIA	Inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes
CoRIS	Cohorte de la Red de Investigación en SIDA
dTTP	Desoxitimidina trifosfato
dUTP	Desoxiuridina trifosfato
DUSP	Diagnóstico en un solo paso
EASL	Asociación Europea para el Estudio del Hígado
EIA	Enzimainmunoensayo
GAG	Glucosaminoglicanos
GeSIDA	Grupo de Estudio SIDA
HCC	Hepatocarcinoma
HSH	Hombres sexo con hombres
I+D+i	Investigación + Desarrollo + innovación
IMPDH	Inosina Monofosfato Deshidrogenasa
INF	Interferón
IP	Inhibidor de la Proteasa
ITS	Infección Transmisión Sexual
LDLR	Receptor LDL
NGS	Secuenciación nueva generación
nt	Nucleótido
OMS	Organización Mundial de la Salud

PCC	Probe Check Control
PCR	Reacción en cadena de la Polimerasa
PD	Patología Dual
PEAHC	Plan Eliminación Abordaje Hepatitis C
PRISMA	Programa Prescripción médica
RBV	Ribavirina
RdRP	ARN polimerasa dependiente ARN
RLU	Unidades luminosas relativas
RT-PCR	PCR - Transcriptasa inversa
RVS	Respuesta Viral Sostenida
SIL	Sistema informático del laboratorio
TMG	Trastorno Mental Grave
UDVP	Usuario de Drogas Vía Parenteral
VHC	Virus Hepatitis C
VHB	Virus Hepatitis B
VIH	Virus Inmunodeficiencia Humana

INDICE DE FIGURAS

<i>Fig. 1. Estructura del virus de la Hepatitis C.</i>	26
<i>Fig. 2. Organización genómica del virus de la hepatitis C y las proteínas virales.</i>	28
<i>Fig. 3. Representación gráfica del ciclo de vida del VHC.</i>	32
<i>Fig. 4. Evolución natural de la infección por VHC</i>	34
<i>Fig. 5. Distribución mundial de los genotipos del Virus de la Hepatitis C.</i>	36
<i>Fig. 6. Evolución de la infección por VHC.</i>	42
<i>Fig. 7. Diagrama diagnóstico microbiológico.</i>	46
<i>Fig. 8. Cinética de los marcadores virológicos durante la infección aguda (a) y crónica (b) por el virus de la hepatitis C.</i>	51
<i>Fig. 9. Algoritmo diagnóstico en la práctica clínica habitual.</i>	53
<i>Fig. 10. AAD y dianas de acción.</i>	60
<i>Fig. 11. Resumen de sustituciones asociadas con la resistencia a los inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5A e inhibidores de NS5 B nucleósidos y no nucleósidos.</i>	63
<i>Fig. 12. Impacto de las líneas estratégicas del PEAHC.</i>	68
<i>Fig. 13. Cascada Diagnóstico. Estrategia Diagnóstico en un solo paso y citación directa.</i>	78
<i>Fig. 14. Cascada y tiempo de diagnóstico.</i>	81
<i>Fig. 15. Cascada de diagnóstico y tratamiento en pacientes VHC.</i>	82
<i>Fig. 16. Algoritmo Diagnóstico Tradicional.</i>	84
<i>Fig. 17. Circuito asistencial del Diagnóstico VHC mediante Diagnóstico Tradicional.</i>	85
<i>Fig. 18. Diagnóstico tradicional e incremento del tiempo.</i>	85
<i>Fig. 19. Incremento de la vinculación al Sistema Sanitario y adherencia al tratamiento.</i>	88
<i>Fig. 20. DTRA vs DUSP vs DUSP+ Citación directa.</i>	89
<i>Fig. 21. Estrategias en la eliminación de VHC.</i>	92
<i>Fig. 22. Pasos para la recuperación de pacientes VHC.</i>	93
<i>Fig. 23. Resultados de la fase I del estudio Re-link.</i>	94
<i>Fig. 24. Formación del Pool.</i>	102
<i>Fig. 25. Técnica desenmascarar pool.</i>	103
<i>Fig. 26. Resultados de la Estrategia de agrupación de muestras.</i>	105
<i>Fig. 27. Circuito asistencial unidad de agudos de Salud Mental.</i>	113
<i>Fig. 28. Cascada de diagnóstico en Salud Mental.</i>	115
<i>Fig. 29. Cascada de tratamiento en TMG.</i>	115

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Antivirales de acción directa y diana de acción.</i>	59
<i>Tabla 2. Características demográficas y virológicas de los pacientes diagnosticados VHC</i>	80
<i>Tabla 3. Ensayos comerciales para detección ARN-VHC y límites de detección.</i>	104
<i>Tabla 4. Características demográficas de los pacientes ingresados en Salud Mental.</i>	114
<i>Tabla 5. Características demográficas de los pacientes estudiados.</i>	126
<i>Tabla 6. Concordancia entre NS5B y ensayo Gen 2.0 line. En amarillo las discordancias menores, y en rojo las discordancias mayores.</i>	127
<i>Tabla 7. Prevalencia y frecuencia relativa de las RAS. Se muestra la prevalencia de RAS a nivel de "secuenciación poblacional" (>15%) y como variantes minoritarias (3-15%).</i>	128

RESUMEN

La hepatitis C es una enfermedad viral crónica que afecta al hígado y representa un importante problema de salud a nivel global. Se estima que alrededor de 71 millones de personas están infectadas con el virus de la hepatitis C (VHC) en todo el mundo (1). La mayoría de las personas infectadas no presentan síntomas durante años o décadas, lo que dificulta su detección e inicio temprano del tratamiento. Esta infección se caracteriza por la acumulación progresiva de fibrosis hepática, y a medida que la enfermedad progresa, si esta no resuelve espontáneamente o no se trata, puede causar complicaciones graves como cirrosis hepática, insuficiencia hepática y hepatocarcinoma.

Sin embargo, en los últimos años se han logrado avances significativos en el tratamiento y en la eliminación del VHC debido a la aparición de los tratamientos antivirales de acción directa (AAD) los cuales han demostrado una alta tasa de curación, cercana al 95%. Estos tratamientos son efectivos en la curación del virus, lo que, además, puede prevenir las complicaciones asociadas con la hepatitis C, y es factible hablar de eliminación del VHC. Pese a la alta eficacia de los AADs, se estima que un 80% de la infección por VHC a nivel mundial continua sin ser diagnosticada, por lo que se requiere de la implementación y optimización de programas de diagnóstico activos que permitan identificar aquellas personas infectadas por el VHC.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en sintonía con otras instituciones sanitarias y gobiernos, estableció en el año 2016 una estrategia global en el sector sanitario en hepatitis virales, con el objetivo de conseguir su eliminación para el año 2030. Diferentes países miembros de la Organización Mundial de la Salud están trabajando en estrategias de control de la hepatitis para lograr la eliminación de la hepatitis. Hasta el momento, solo 12 países están en camino de alcanzar los objetivos de eliminación de la hepatitis (2). En el caso particular de España cuenta con el Plan Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C (PEAHC), en el que se ha establecido diferentes líneas de actuación (vigilancia epidemiológica, prevención, detección, tratamiento e investigación) contra la hepatitis C. Desde la puesta en marcha del Plan

Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C, en España se han tratado más de 161.000 pacientes con unas tasas de curación en torno al 95%, lo que muestra el esfuerzo realizado para transformar la vida de estos pacientes y situar al país como una referencia en este campo. A pesar de los esfuerzos realizados, todavía existen más de 76.500 personas con el VHC entre la población general, de las que 22.500 tienen la infección activa por VHC y no han sido diagnosticadas. Para ello, es fundamental aprovechar todas las oportunidades para diagnosticar a los pacientes poniendo el foco en aquellas iniciativas encaminadas a mejorar su prevención, detección temprana, tratamiento y manejo integral.

En términos de estrategias de eliminación del VHC, se han propuesto y están siendo implementadas diversas medidas entre las que se incluyen mejorar el acceso a la detección, es fundamental el diagnóstico y aumentar la disponibilidad y el acceso a las pruebas de detección del VHC; lo que implica la implementación de programas de cribado, así como la integración de las pruebas del VHC en los servicios de atención médica rutinaria. Es importante identificar a las personas infectadas en estadios tempranos de la enfermedad, ya que permite iniciar tratamiento lo antes posible y prevenir complicaciones asociadas a la progresión de la enfermedad, así como la transmisión y contagio a otras personas. Se debe garantizar el acceso equitativo a los tratamientos antivirales a toda persona infectada por el VHC, independientemente de su situación socioeconómica o ubicación geográfica. Entre las estrategias de eliminación del VHC también se incluye la reducción de la transmisión, implementando estrategias de prevención, especialmente en los grupos poblacionales de alto riesgo, como programas de reducción de daño, acceso a terapias sustitutivas con opioides y promoción del uso de prácticas sexuales seguras.

Finalmente, es fundamental concienciar y educar a la población y a los profesionales sanitarios sobre VHC, riesgos, métodos de prevención y opciones de tratamiento disponibles. La concienciación pública puede ayudar a reducir el estigma asociado con la enfermedad y fomentar la búsqueda de pruebas y tratamiento.

La implementación de estas estrategias de eliminación del VHC tiene como objetivo reducir la carga de la enfermedad, prevenir las complicaciones hepáticas y mejorar la salud de las personas afectadas. La colaboración entre los gobiernos, las organizaciones internacionales de salud y la sociedad civil es esencial para lograr la eliminación del VHC como un problema de salud pública.

SUMMARY

Hepatitis C is a chronic viral disease that affects the liver and represents a major global health problem. It is estimated that around 71 million people are infected with hepatitis C virus (HCV) worldwide (WHO) (1). Most infected people have no symptoms for years or decades, making it difficult to detect and initiate early treatment. This infection is characterised by the progressive accumulation of liver fibrosis, and as the disease progresses, if it does not resolve spontaneously or is left untreated, it can lead to serious complications such as liver cirrhosis, liver failure and liver cancer.

However, in recent years, significant advances have been made in the treatment and elimination of HCV due to the advent of direct-acting antiviral (DAA) treatments which have demonstrated a high cure rate of close to 95%. These treatments are effective in curing the virus, which can also prevent the complications associated with hepatitis C, and HCV elimination is feasible. Despite the high efficacy of DAAs, an estimated 80% of HCV infection worldwide remains undiagnosed, requiring the implementation and optimisation of active diagnostic programmes to identify those infected with HCV.

In 2016, the World Health Organization (WHO), together with other health institutions and governments, established a global health sector strategy on viral hepatitis, with the goal of elimination by 2030. Different member countries of the World Health Organization are working on hepatitis control strategies to achieve hepatitis elimination. So far, only 12 countries are on track to achieve hepatitis elimination targets (2). In the particular case of Spain, it has the National Strategic Plan against hepatitis C (PEAHC), in which different lines of action (epidemiological surveillance, prevention, detection, treatment and research) against hepatitis C have been established. Since the launch of the Strategic Plan for Tackling Hepatitis C, more than 161,000 patients have been treated in Spain with cure rates of around 95%, which shows the effort made to transform the lives of these patients and to position the country as a benchmark in this field. Despite efforts, there are still more than 76,500 people with HCV in the general population, 22,500 of whom have active HCV infection and have not been diagnosed.

To this end, it is critical to seize every opportunity to diagnose patients by focusing on initiatives to improve prevention, early detection, treatment and comprehensive management.

In terms of HCV elimination strategies, a number of measures have been proposed and are being implemented, including improving access to screening, diagnosis, and increasing the availability and accessibility of HCV testing; this involves implementing screening programmes, as well as integrating HCV testing into routine health care services. It is important to identify those infected at an early stage of the disease, as this allows for early treatment and prevents complications associated with disease progression, transmission and transmission to others. Equitable access to antiviral treatment should be ensured for all HCV-infected people, regardless of socioeconomic status or geographic location. HCV elimination strategies also include reducing transmission by implementing prevention strategies, especially in high-risk populations, such as harm reduction programmes, access to opioid substitution therapy, and promotion of safer sex.

Finally, it is essential to raise awareness and educate the public and healthcare professionals about HCV, risks, prevention methods and available treatment options. Public awareness can help reduce the stigma associated with the disease and encourage people to seek testing and treatment.

Implementation of these HCV elimination strategies aims to reduce the burden of disease, prevent liver complications and improve the health of affected individuals. Collaboration between governments, international health organisations and civil society is essential to achieve HCV elimination as a public health problem.

INTRODUCCIÓN

La hepatitis C es una enfermedad infecciosa causada por el virus de la hepatitis C, que afecta fundamentalmente al hígado. En un 70% de las personas con virus hepatitis C, la infección se cronifica, pudiendo desencadenar en el paciente cirrosis y posterior carcinoma hepatocelular, si la infección no resuelve o el paciente no es tratado.

La infección por virus de la hepatitis C constituye un problema de salud pública a nivel mundial, que afecta aproximadamente a 58 millones de personas en el mundo. En 2019, La Organización Mundial de la Salud, estimó que 290000 personas fallecieron a causa de infección crónica por virus de la hepatitis C. Está distribuido principalmente en regiones de Europa y del Mediterráneo Oriental, con una distribución que afecta principalmente a hombres en una franja de edad de 40-70 años, personas usuarias de drogas por vía parenteral (UDVP) y hombres que tienen sexo con hombres (HSH).

A raíz de la aparición de los nuevos antivirales de acción directa (AAD) para el tratamiento de esta infección, cuyas tasas de eficacia son superior al 95% de curación y con efectos adversos mínimos, la Organización Mundial de la Salud ve plausible hablar de eliminación de hepatitis C, y es uno de los objetivos que se ha propuesto conseguir para 2030 (1) (3–5).

1. Virus de la Hepatitis C.

El virus de la hepatitis C (VHC) fue identificado y caracterizado por M. Houghton en 1989, cuando el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitió la construcción de una biblioteca de ADN complementario cebador, a partir de plasma que contenía lo que en aquel momento se denominaba un agente de la hepatitis no A, no B (6). Se clasifica dentro de la familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*. Es un virus ARN monocatenario de polaridad positiva y envuelto por una bicapa lipídica. Los primeros análisis por microscopía electrónica de partículas virales aisladas en muestras de suero e hígado de pacientes y chimpancés infectados, mostraron la presencia de partículas esféricas de un tamaño de unos 33-70 nm.

Presenta un genoma constituido por 9600 nucleótidos, que contiene una única estructura de lectura que ocupa casi todo el genoma y está flanqueada por dos regiones no codificantes en 5' y 3', las cuales tienen una estructura secundaria conservada, esenciales para la replicación y traducción del virus. Entre estas dos regiones nos encontramos con una poliproteína de unos 3000 aminoácidos, la cual se divide por la acción de diferentes proteasas virales y del huésped en proteínas estructurales (core, E1 y E2), la proteína p7 y seis proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) cuya función se centran básicamente en el procesamiento de la poliproteína y en la replicación viral (7).

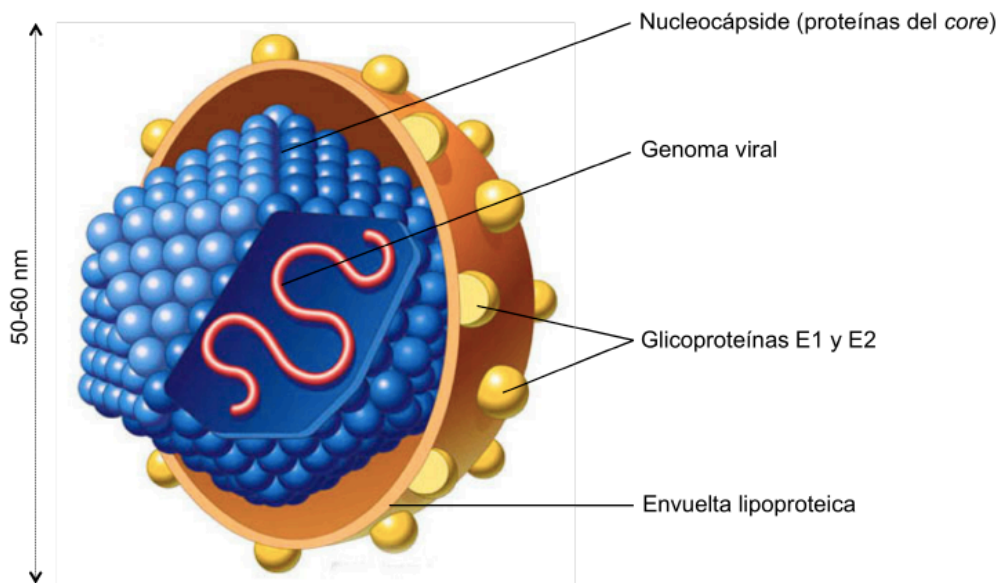


Fig. 1. Estructura del virus de la Hepatitis C.

▪ Estructurales:

- Core: forma parte de la nucleocápside y además interacciona con diversas proteínas que son claves en el ciclo de vida de VHC (por ejemplo, apoptosis, transcripción de genes, metabolismo lipídico, respuesta inmunitaria, etc.).
- E1 y E2: glucoproteínas de envuelta responsables de la entrada y fusión viral.

▪ No estructurales:

- Proteína p7, es una proteína integral de membrana, cuya función es poco conocida, probablemente relacionada con un canal iónico de calcio. Estudios recientes demuestran que esta proteína está implicada en la morfogénesis y la secreción de partículas infecciosas (8).
- NS2, junto con NS3 constituye la proteasa NS2-NS3, que procesa el corte entre ambas proteínas. También interacciona con la proteína p7 y E2 e interviene en la producción de viriones.

- NS3, proteasa implicada en el procesamiento de proteínas no estructurales. Contiene un dominio serina proteasa en el extremo aminoterminal y un dominio helicasa/ATPasa en el extremo carboxiterminal.
- NS4A, cofactor necesario para la actividad proteolítica de NS3. Esta proteasa NS3-NS4 es crucial en el ciclo replicativo del virus ya que cataliza el procesamiento del resto de proteínas no estructurales. Por ello, es una de las dianas farmacológicas más interesante en el tratamiento del VHC.
- NS4B, es una proteína integral de membrana altamente hidrofóbica, en la que se predicen 4 dominios transmembrana y un extremo N-terminal implicado en la unión a las membranas intracelulares. Su principal función es crear una red de membranas que es vital para la formación del complejo de replicación.
- NS5A, es una metaloproteasa dependiente de cinc, que interviene en la replicación viral y en la producción de viriones, e interactúa con un gran número de proteínas celulares regulando diversas vías de señalización.
- NS5B, polimerasa viral, ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp) que interviene en la síntesis de ARN VHC, produciendo nuevos genomas virales que se incorporan a las partículas del virus. La RdRP NS5B del VHC carece de actividad correctora, lo que resulta en una alta tasa de errores durante la replicación del VHC, promueve la heterogeneidad genética del VHC y la complejidad de la población (9).

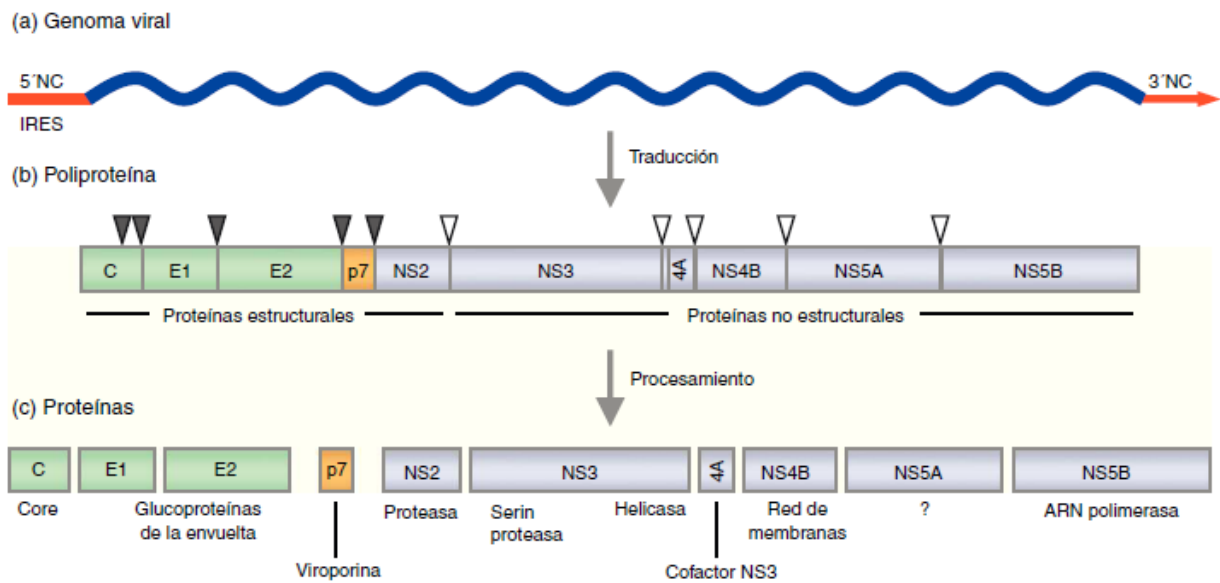


Fig. 2. Organización genómica del virus de la hepatitis C y las proteínas virales.

Imagen cedida por Pérez-Del Pulgar, S. Esquema de la organización genómica del VHC y las proteínas virales. a) Representación lineal del genoma viral: el marco de lectura abierto (azul) y las regiones no traducidas 5' y 3' (rojo). b) Organización de las proteínas en el precursor poliproteico: proteínas estructurales (verde) y no estructurales (lila). Los triángulos grises círculos en negro indican los sitios de corte de las peptidasas celulares para dar lugar a las proteínas estructurales. Los triángulos blancos se refieren a los sitios de corte de las proteasas virales para dar lugar a las proteínas no estructurales. c) Proteínas virales y su función.

La variabilidad genética es una de las características biológicas más relevantes del VHC. Esta alta diversidad genética del VHC está respaldada por su alta cinética de replicación (1012 viriones al día) y la baja fidelidad de su RdRP, similar a la de otros virus ARN. Este virus se caracteriza por un alto grado de heterogeneidad genómica, y el resultado de su evolución a largo plazo (presión selectiva, recombinación y deriva genética) es la aparición de grupos virales genéticamente distintos, dando lugar a los diferentes genotipos y cuasiespecies. Mediante el análisis comparativo de las secuencias genómicas de virus aislados en diferentes zonas geográficas se han podido identificar hasta Los distintos genotipos del VHC, denominados del 1 al 8 por orden de descubrimiento, difieren entre sí en un 30-35% de su secuencia nucleotídica. Estos genotipos se dividen a su vez en subtipos, definidos por letras (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, etc.), que difieren entre sí en un 20-25% de su secuencia de nucleótidos. Los aislados de un mismo subtipo pueden diferir en un 10%. Aunque los diferentes genotipos y subtipos

comparten características biológicas y patogénicas básicas, difieren en su epidemiología y respuestas al tratamiento (10).

Al igual que otros virus ARN, el VHC presenta una alta tasa de variabilidad genética generada por su elevada tasa de mutación y la acción de fuerzas evolutivas a lo largo del tiempo. Existen dos niveles de variabilidad genética del VHC: la variabilidad intrahospedador, caracterizada por la distribución de genomas mutantes del VHC presentes en un individuo infectado, dando lugar a lo que se denomina cuasiespecie. La diversidad de secuencias se genera continuamente durante la replicación viral debido a que la polimerasa viral no tiene capacidad correctora de errores (1 error cada 10⁴ o 10⁵ nt), y a que la tasa de producción de nuevos viriones es muy alta (10¹² viriones por día) resultando en un gran tamaño poblacional.

La variabilidad entre hospedadores, representada por los virus que circulan a nivel mundial y que dan lugar a diferentes genotipos y subtipos del VHC. Las tasas de prevalencia y la distribución de los distintos genotipos y subtipos varían según la zona geográfica. El genotipo 1 es el más prevalente en todo el mundo, con el subtipo 1a mostrando una mayor prevalencia en Estados Unidos y Canadá, y el subtipo 1b más prevalente en Europa. El genotipo 2 predomina en África Occidental, mientras que el genotipo 3 es endémico en el Sudeste Asiático. El genotipo 4 se encuentra principalmente en Oriente Medio, Egipto y África Central. El genotipo 5 se da casi exclusivamente en Sudáfrica, mientras que el genotipo 6 se distribuye predominantemente por Asia. El genotipo 7, descubierto recientemente, se identificó en siete individuos infectados en la República Democrática del Congo, y el genotipo 8 se encontró en cuatro individuos infectados de Punjab (India). En todo el mundo, los genotipos más prevalentes son el 1 y el 3, que representan respectivamente el 44% y el 25% de las infecciones por VHC.

La distribución de los genotipos del VHC también varía en función de la epidemiología de los individuos infectados, por ejemplo, usuarios de drogas vía parenteral (UDVP), personas que han recibido transfusiones sanguíneas y hombres que tienen sexo con hombres (HSH). Por ejemplo, el genotipo 4 predomina en Oriente

Medio, Egipto y África Central, pero ahora también muestra una alta prevalencia entre los UDVP del sur de Europa. La diversidad de genotipos y subtipos del VHC afecta a la eficacia clínica de los medicamentos antivirales. Los recombinantes intra o intergenotípicos de origen natural son poco frecuentes; sin embargo, un recombinante intergenotípico específico 1b/2k se ha extendido lo suficiente como para adquirir importancia epidemiológica (11).

La diversidad genética del VHC tiene importantes implicaciones para la persistencia del virus, la patogénesis, las respuestas inmunitarias, la transmisión y el desarrollo de vacunas y estrategias antivirales eficaces (10).

En el tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C, la correcta determinación del genotipo ha sido determinante para la elección de un régimen óptimo y un resultado eficaz. Con la aparición de los regímenes de tratamiento pangotípicos hacen plantearse la necesidad de la determinación del genotipo previo al inicio de la terapia, puesto que no sería necesario para iniciar tratamiento, pero debe considerarse la importancia de éste a nivel epidemiológico para poder detectar probables brotes epidémicos o la diferenciación entre recidivas y reinfecciones en un mismo paciente.

2. Ciclo de replicación del virus de hepatitis C.

El VHC, es un virus hepatotrofo y se replica fundamentalmente en los hepatocitos. A través de las diferentes vías de transmisión (parenteral, vertical y sexual) accede hasta las células hepáticas de la persona infectada y es en el citoplasma del hepatocito, fundamentalmente, donde tendrá lugar la replicación del virus. También se ha descrito la presencia de este virus en otras localizaciones extrahepáticas como en las células mononucleares de sangre periférica, células dendríticas y sistema nervioso central.

El virus de la hepatitis C circula libre o unido a lipoproteínas (formando las llamadas lipovirionpartículas). Una vez alcanza el hepatocito, la interacción con la membrana celular esta mediada por glucosaminoglicanos (GAG) que facilita la concentración del virus en la superficie celular. A continuación, interacciona con los diversos receptores presentes en la membrana celular. Primeramente, el virus interacciona con el receptor LDL (LDLR) (debido a su unión a las lipoproteínas) a continuación se une a receptor clase B tipo 1 (SR-B1) (que interviene en la regulación del metabolismo del colesterol), CD-81 y las proteínas claudina-1 y ocludina; todos estos receptores participan de manera secuencial en la entrada del virus a la célula huésped. Una vez que se ha unido a sus receptores, el virus penetra en el hepatocito por endocitosis mediada por clatrina. En los endosomas tiene lugar la fusión de la envuelta del virus con el endosoma de la membrana. A continuación, tiene lugar la desencapsidación del virus, dejando libre en el citoplasma el ARN viral, funciona como molde en dos eventos importantes de la replicación, la traducción de la poliproteína, y la replicación del ARN viral. Dando lugar a una única proteína que es procesada por proteasas celulares y virales. Las proteínas estructurales y la proteína p7 son procesadas por una peptidasa del retículo endoplasmático (9). Las proteínas no estructurales son procesadas por las proteasas virales NS2-NS3 y NS3-NS4. La replicación del ARN viral de cadena positiva se lleva a cabo en un compartimento membranosos en el citoplasma de la célula y da lugar a un ARN de cadena negativa, formando ARN de doble cadena que funciona como intermediario para la nueva formación de ARN viral de cadena positiva.

Finalmente tiene lugar el ensamblaje y liberación de las nuevas partículas virales a través de la secreción celular (12).

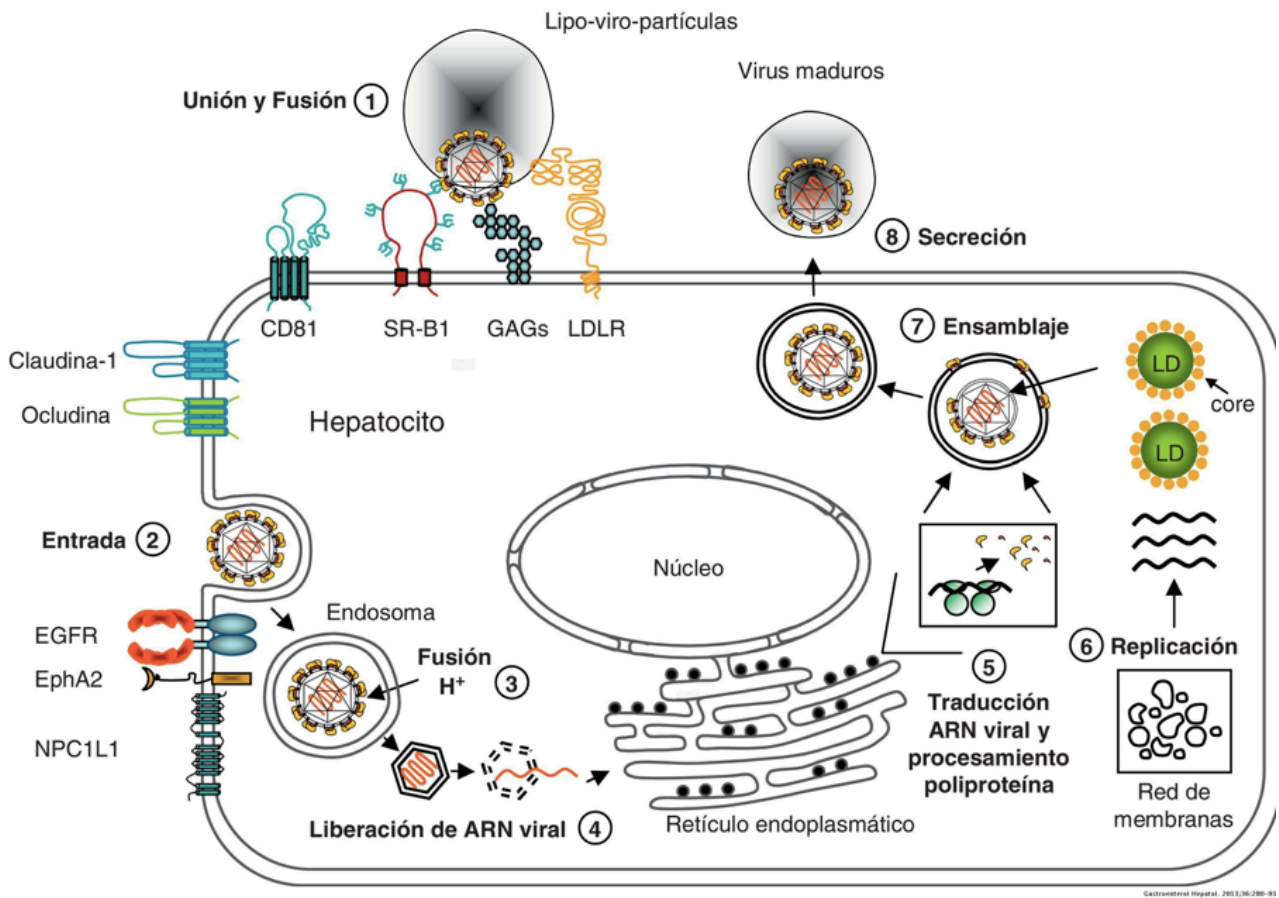


Fig. 3. Representación gráfica del ciclo de vida del VHC.

1) La interacción inicial del virion con la membrana celular está mediada por glucosaminoglucanos (GAG). A continuación, el VHC interactúa de manera secuencial con los receptores LDLR, SR-B1, CD81, claudina-1 y ocludina. 2) La entrada en el hepatocito se produce por endocitosis dependiente de clatrina. 3) La fusión de la envuelta del virus con la membrana del endosoma. 4) Desencapsidación y liberación del ARN viral. 5) Traducción del ARN viral y procesamiento de la poliproteína por proteasas virales y del huésped. 6) Replicación del ARN viral en el complejo de replicación, asociado a la red de membranas. 7) Formación de la cápside y ensamblaje de los nuevos viriones. 8) Las partículas del VHC se asocian a lipoproteínas y son liberadas a través de la vía de secreción celular.

3. Historia natural de la infección por VHC

La historia natural de la hepatitis C sigue un curso paralelo al acúmulo de fibra colágena en el hígado, y puede variar ampliamente entre los diferentes individuos afectados; dicha infección se caracteriza por ser un proceso lento, con un amplio periodo asintomático en la mayor parte de los pacientes, o con clínica inespecífica como astenia, fatiga, dolor abdominal entre otros. Muchos de estos pacientes son identificados como pacientes con infección activa en las fases finales de la enfermedad, cuando la infección crónica provocando un daño histológico y la sintomatología hepática se hace evidente en forma de cirrosis, descompensaciones hepáticas, complicaciones extrahepáticas y hepatocarcinoma (HCC) (13).

Tras una primera etapa de exposición al virus, cuando la persona entra en contacto con el VHC a través de las diferentes vías de transmisión, tiene lugar la fase aguda de la infección que se caracteriza por ser una fase clínicamente asintomática o signos inespecíficos, previamente comentados, que pueden hacer que la infección pase desapercibida. Tras producirse la infección aguda, si el VHC evade el sistema inmune y este no logra eliminar completamente el virus, la infección se vuelve crónica. Durante esta etapa, el virus puede seguir replicándose en el hígado y causar daño progresivo.

El riesgo de cronicidad varía entre un 50-90%, dependiendo de la vía de transmisión, de la presencia de síntomas en la fase aguda (48-75% en sintomáticos y 85-90% en asintomáticos) o de la edad de adquisición de la infección (superior en mayores de 40 años). Esta infección crónica puede durar toda la vida si no se trata (14). Conforme avanza el tiempo, la inflamación del hígado va a provocar la cicatrización del tejido hepático, que es lo que denominamos fibrosis, y en este estado puede evolucionar a cirrosis donde la cicatrización es extensa y el daño irreversible. La velocidad de progresión de la fibrosis no sigue un patrón lineal, sino que se acelera a medida que se incrementa la edad del huésped. Los diferentes estudios que han evaluado la historia natural de la infección han calculado que entre el 10-40% de los pacientes desarrollarán una cirrosis, en un periodo de seguimiento entre 20 y 30 años. Los factores que parecen

influir en la aceleración de la progresión histológica dependen del virus, del huésped o de conductas socioambientales. Entre ellos se encuentran el sexo masculino, la edad de contagio (mayor de 40 años), la raza afroamericana, los años de infección, la presencia de factores metabólicos (obesidad, esteatosis y diabetes mellitus), el uso de tratamiento inmunosupresor y la coinfección con el VIH o VHB. Entre los condicionantes ambientales, el más importante es el consumo de alcohol y el tabaquismo también se ha relacionado con la evolución hacia cirrosis o hepatocarcinoma (HCC) (15).

Afortunadamente, parece que la historia natural del VHC puede modificarse con los regímenes antivirales disponibles en la actualidad que ayudan a prevenir la progresión de la enfermedad y reducir el riesgo de complicaciones graves.

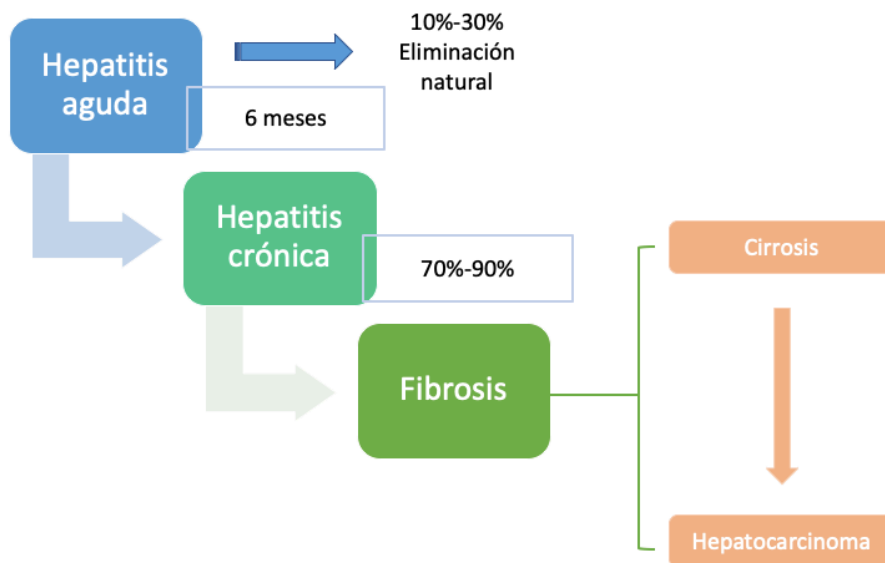


Fig. 4. Evolución natural de la infección por VHC

4. Epidemiología

Es difícil establecer estimaciones precisas de la prevalencia a nivel mundial de la Hepatitis C, ya que es una enfermedad infradiagnosticada e infranotificada, pero a pesar de ello, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el mundo existen, aproximadamente, alrededor de 58 millones de personas con infección crónica por el VHC y cada año se producen aproximadamente 1,5 millones de nuevas infecciones (1) (16).

La hepatitis C presenta una distribución a nivel mundial, y constituye un problema de salud pública global. La prevalencia global de anticuerpos frente al VHC (Ac-VHC) se estima que en adultos es del 2,0 % y del 1,6 % en todas las edades. La prevalencia de la infección virémica es del 1,4 % (1,2-1,7 %) en adultos y del 1,1 % (0,9-1,4 %) en todas las edades. Todo ello supone unas cifras de entre 92 y 150 millones de personas con anticuerpos VHC y entre 64 y 103 millones de personas con infección virémica (17–20).

Esta prevalencia varía según la región estudiada, siendo más alta en el norte de África y Oriente Medio, principalmente Egipto, que ha reportado una prevalencia de 14%; le sigue el resto de África (3%), China y otros países asiáticos (2.1%). En los países desarrollados, se estima que la prevalencia de infección por VHC, se sitúa entorno al 1%–1,9%. En Europa, la población infectada se calcula que está en torno al 0,5%–2% de la población, aunque las cifras varían a lo largo del continente; siendo la región de Europa del Este donde se encuentran mayor número de afectados (hasta el 6% de la población) (21).

Según los datos disponibles, se calcula que el genotipo de VHC más prevalente a nivel global es el genotipo 1 que constituye el 46,2% de todos los casos de VHC (83,4 millones de personas afectadas por este genotipo), y aproximadamente un tercio de ellos se encuentran localizados en el este de Asia. Le sigue el genotipo 3, que representa el 30,1% del global (54,3 millones de casos); los genotipos 2, 4 y 6 componen el 22,8% de los casos, y el genotipo 5 comprende el <1% restante. Respecto a la distribución de

estos genotipos también existen diferencias a nivel global. Los genotipos 1a y 1b que son los más frecuentes, los encontramos principalmente en Europa, Estados Unidos y Japón. Los genotipos 2 y 3 se encuentran distribuidos por todo el mundo, el genotipo 4 es habitual en Oriente Medio y África central, el genotipo 5 es frecuente en Sudáfrica y el genotipo 6 se encuentra principalmente en Asia (19) (22)

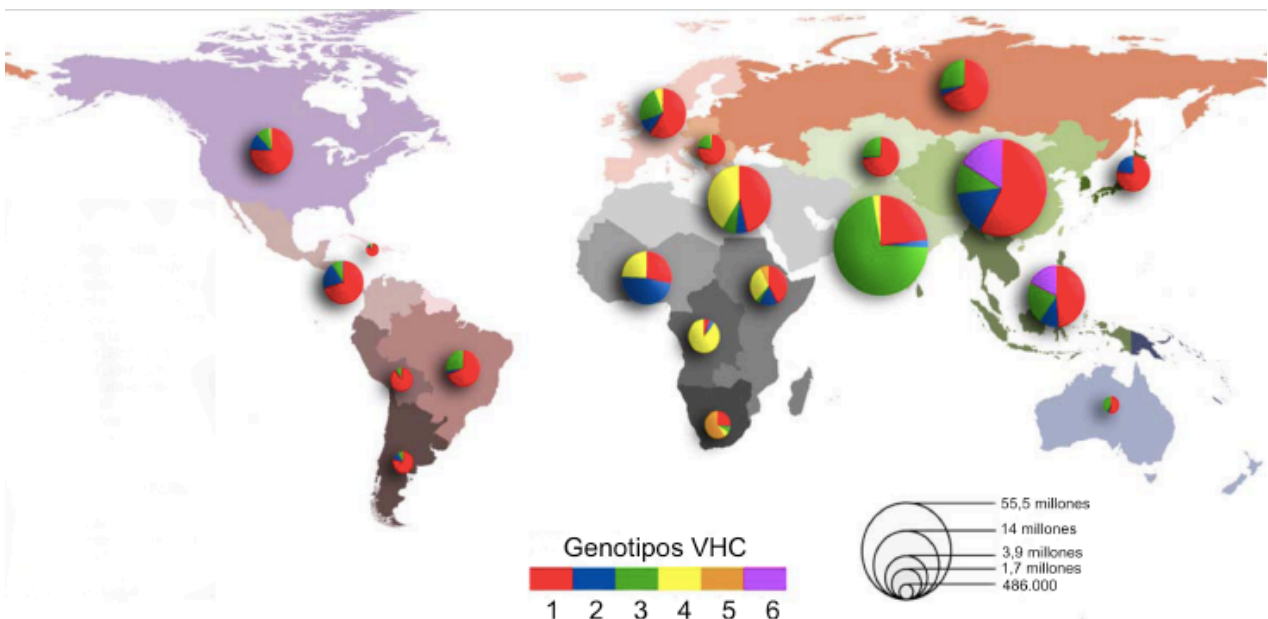


Fig. 5. Distribución mundial de los genotipos del Virus de la Hepatitis C.

En España, dentro de la línea estratégica 1 del Plan de Eliminación para el Abordaje de Hepatitis C (PEAHC), se recoge la acción de cuantificar, describir las características epidemiológicas de la población infectada por VHC y establecer una serie de medidas preventivas; y para ello, propone la realización de la encuesta nacional de seroprevalencia de hepatitis C en la población adulta, cuyo objetivo es estimar la prevalencia y distribución de anticuerpos y de infección activa frente al VHC, entre otras infecciones, en la población española entre los años 2017 y 2018 (23). Según estos resultados, en el ámbito de la población general se ha observado una prevalencia de anticuerpos frente al VHC de 0,85% (IC 95%: 0,64%-1,08%) y de infección activa de 0,22% (IC 95%: 0,12%-0,32%) en la población de 20 a 80 años en el período de estudio

comprendido. En cuanto a la distribución por sexo, tanto la prevalencia de anticuerpos como la de infección activa fue mayor en hombres que en mujeres 1,24% frente a 0,46%, y 0,35% frente a 0,08%, respectivamente. En cuanto a la distribución por edad, se observa una prevalencia de infección activa más elevada en hombres nacidos entre 1958 y 1967, alcanzando el 0,86%, y del 0,72%, entre los nacidos entre 1948 y 1957, y el resto de grupos se sitúa por debajo de 0,20%. También se observa diferencias significativas en la distribución en cuanto menor nivel de estudios (1,71%) y situación social desfavorecida (1,20%), en contraste con una prevalencia de 0,12% en el grupo con clase social favorecida y del 0,05% en personas con estudios universitarios; esta tendencia se mantiene tanto en hombres como en mujeres. Según los datos disponibles el genotipo predominante en España en personas con infección activa es 1b, seguido de 1a (17) (24–26)

En cuanto a los grupos vulnerables, aquellas poblaciones que presentan una mayor exposición o situación de riesgo, la prevalencia de la infección es superior. Según el Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones, entre las personas usuarios de drogas por vía parenteral alguna vez en su vida y las que han sido admitidas a tratamiento por abuso o dependencia de sustancias psicoactivas, la prevalencia de anticuerpos frente al VHC fue de 61,4% en 2017 (60,7% en hombres y 65,1% en mujeres) y se sospecha que la prevalencia de infección sea más elevada en las personas que se inyectan drogas y que no acuden a los centros de tratamiento (27).

En 2018, la prevalencia de infección activa por el VHC en personas que tienen infección por VIH en seguimiento hospitalario en España ha variado entre el 3,7% (IC 95%: 2,9%– 4,7%) en el estudio de prevalencia realizado por el grupo de estudio nacional GeSIDA (28) el 6,5% en la encuesta realizada por el Centro Nacional de Epidemiología en pacientes con infección por el VIH (29) y el 3,9% en personas incluidas en la cohorte de la Red de Investigación en SIDA (CoRIS) (30). En los tres estudios se ha constatado una marcada tendencia descendente en los últimos años atribuida a la aparición de los tratamientos AAD para el tratamiento del VHC, si bien es cierto, que se ha observado un aumento de la incidencia y la reinfección por el VHC en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) coinfectados con el VIH asociado a la presencia de otras ITS y a la práctica

sexuales de riesgo asociadas al consumo de sustancias de abuso (chemsex o slamming) (31–33).

El conocimiento de la epidemiología de la infección por el VHC en la población inmigrante en España es limitado y son necesarios más estudios que nos permitan conocer de manera más exacta la prevalencia de infección, pero se estima que se sitúa entorno al 1,6% y que varía según procedencia, siendo más elevada entre migrantes de países de Europa del Este, Asia y África (34–36).

La prevalencia de anticuerpos e infección activa por el VHC en la población interna en centros penitenciarios ha descendido del 18,7% y 11,0% en 2016 al 10,2% y 1,9% en 2019, respectivamente, en relación con los regímenes de tratamiento AAD para el VHC (37).

Esta imagen de la epidemiología de la infección por el VHC, sitúa a España en un país de baja prevalencia, capaz de abordar un problema de Salud Pública global y alcanzar el objetivo propuesto por la OMS de eliminación de hepatitis C para el año 2030.

5. Vías de transmisión

La forma más común de infección por el VHC es el contacto directo con sangre y productos sanguíneos contaminados. Las principales vías de transmisión de esta infección son las siguientes (38):

Usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP). Estos comparten los materiales necesarios para el consumo de droga, como son agujas y jeringas. Por lo que se hace necesario medidas de reducción de daños en esta población.

Transfusiones de productos sanguíneos no seguras e inyecciones. Principalmente, antes de 1992, en los que no se realizaba cribado de VHC en las donaciones de sangre. En cuanto a la transmisión por la administración de inyecciones es debido al uso de jeringas no desechables y un uso inadecuado de material quirúrgico que puede haber estado en contacto con sangre infectada. Se relaciona con prácticas inadecuadas en el ámbito laboral, tales como el uso de viales multidosis, limpieza inadecuada de equipo y falta de técnicas de asepsia.

Contacto sexual de Riesgo. En los que no emplean medidas de protección y además tienen múltiples parejas sexuales, y en ocasiones estas prácticas están asociadas al consumo de sustancias de abuso (ChemSex). Se encuentra una mayor prevalencia en Hombres que tienen sexo con Hombres (HSH) y el riesgo se ve aumentado si la persona es VIH positivo y si además se producen prácticas sexuales de alto riesgo con traumatismo de mucosas.

Sin embargo, estudios de prevalencia realizados en parejas monogámicas en donde uno de ellos está infectado con el VHC sugieren que el contagio de la hepatitis C por contacto sexual es raro.

Transmisión vertical. La transmisión a recién nacidos de madres infectadas varía de 4.6 a 10%. Principalmente esta vía de transmisión se da en el momento del parto y siempre cuando la madre sea virémica en el momento del parto.

Trabajadores del ámbito sanitario. La transmisión del VHC de pacientes infectados al personal de salud se presenta principalmente por accidentes con agujas contaminadas. Aunque es poco frecuente, las personas pueden infectarse cuando los profesionales de atención médica no siguen los pasos adecuados necesarios para evitar la transmisión de infecciones transmitidas por la sangre.

Tatuajes o piercings corporales en establecimientos no reglamentados. La hepatitis C puede transmitirse al hacerse tatuajes o piercings corporales en instalaciones sin licencia, en entornos informales o con instrumentos no estériles.

6. Patogenia

La infección por VHC se distingue en una fase aguda y una fase crónica. La fase aguda se denomina a la infección por VHC en los primeros seis meses tras la exposición al VHC, ocurre aproximadamente en el 15% de los pacientes infectados por VHC. Clínicamente la mayoría de los pacientes son asintomáticos, aunque puede asociarse a ictericia, náuseas, vómitos, astenia, orina de color oscura y dolor abdominal en el flanco superior derecho. En la analítica de estos pacientes podemos encontrar niveles elevados de transaminasas, superando el límite superior de detección de 10 a 20 veces y también pueden tener elevados el valor de bilirrubina total, si bien es cierto, que estos valores son muy variables entre los pacientes.

Tras la fase aguda, la infección por VHC desaparece espontáneamente (aclaramiento espontáneo) sin necesidad de tratamiento, hasta en un 30% de las personas con infección aguda por VHC (39).

Cuando la infección por el VHC no se resuelve espontáneamente, se conoce como hepatitis C crónica, afecta aproximadamente al 70% de los infectados. La Hepatitis C crónica suele ser una enfermedad lentamente progresiva, que se puede mantener sin síntomas durante 20-30 años, por lo que hace difícil su diagnóstico. Se caracteriza por una inflamación hepática persistente, que conduce a fibrosis hepática y al desarrollo de cirrosis en aproximadamente el 10-20% de los individuos infectados. Una vez establecida el estado cirrótico del hígado, la progresión de la enfermedad es impredecible. La cirrosis permanece indolente durante muchos años en algunos individuos; pero en las fases avanzadas, el paciente puede presentar algunos síntomas como ascitis, encefalopatía, hemorragia por varices, edemas e ictericia, debido a que el hígado ha dejado de funcionar correctamente.

Otros pacientes, aproximadamente entre 1%-5% muestran progresión a hepatocarcinoma, descompensación hepática y muerte (40).

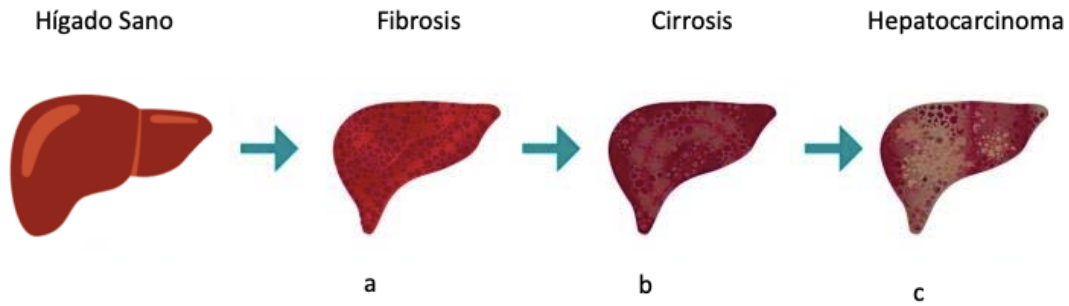


Fig. 6. Evolución de la infección por VHC.

a) Fibrosis: la infección por VHC crónica puede conducir al desarrollo de tejido cicatricial fibroso en el hígado. b) Cirrosis: con el tiempo, la fibrosis puede progresar causando mayor cicatrización del hígado, restricción del flujo sanguíneo insuficiencia hepática y fallo hepático. c) Cáncer de hígado puede desarrollarse años después de infección crónica por VHC.

El VHC no afecta sólo al hígado, si no que también produce síntomas o manifestaciones extrahepáticas, debido a las alteraciones inmunológicas que produce este virus. Estas manifestaciones extrahepáticas suelen observarse en un tercio de los pacientes infectados, con años de evolución de la enfermedad sin tratar. Estas manifestaciones son muy diversas e inespecíficas y en ocasiones difícil de distinguir de las alteraciones que produce el alcohol, las drogas, fármacos e infección por otros microorganismos. Entre estas manifestaciones nos encontramos con: crioglobulinemia mixta, glomerulonefritis membranoproliferativa, nefropatía membranosa, purpura trombocitopénica, síndrome antifosfolípido, fibrosis pulmonar idiopática, alteración de las glándulas salivales y lagrimales, porfiria cutánea tarda y liquen plano (41).

El daño hepático causado por la hepatitis C se puede cuantificar mediante una serie de pruebas y evaluaciones clínicas que permite clasificar, de forma objetiva y sistemática los estadios de la fibrosis hepática. La fibrosis y la cirrosis son las principales responsables de la morbimortalidad del VHC. La valoración de la fibrosis constituye la información más relevante para evaluar la gravedad de la enfermedad.

Algunas de las herramientas empleadas con tal fin son, la biopsia hepática, considerada la técnica de referencia para evaluar el grado de fibrosis hepática, en la que se obtiene tejido hepático y se analiza microscópicamente el grado y extensión de fibrosis, y además, permite determinar la coexistencia de otros factores histológicos que pueden influir en la progresión de la enfermedad, como por ejemplo, el grado de esteatosis; el principal inconveniente es que es una prueba invasiva y que a pesar de ser la técnica de referencia puede haber errores en el muestreo. Clásicamente se ha utilizado la biopsia hepática como método principal para su evaluación; sin embargo, en los últimos años se han desarrollado otros métodos no invasivos que intentan desplazar a la biopsia.

La elastografía por ultrasonidos (FibroScan®) a diferencia de la anterior presenta como principal ventaja que es una prueba no invasiva, fácil de realizar; mide la rigidez hepática evaluando la velocidad de propagación de las ondas de ultrasonido a través del hígado. Otra técnica disponible es FibroTest® que se realiza en sangre y evalúa el grado de fibrosis analizando múltiples marcadores como enzimas hepáticas, proteínas y factores de coagulación que se combina con otros datos como la edad y sexo del paciente para generar una puntuación que refleje el grado de fibrosis. Las técnicas de imagen, como resonancia magnética y tomografía computarizada, también son empleadas para valorar el estado del hígado ya que permiten detectar signos de daño o cicatrización en el tejido hepático. Por último, también se puede medir en sangre biomarcadores hepáticos como las enzimas transaminasas, bilirrubina, albumina y tiempo de protombina que son marcadores de función hepática y se van a ver alterados.

Cada una de estas pruebas tienen sus propias limitaciones y todas son complementarias entre sí; la elección de una u otra dependerá del profesional clínico y de los recursos disponibles.

Respecto a las escalas de valoración empleadas para valorar el grado de daño hepático existen varias, algunas de las más empleadas son, la escala METAVIR, es una escala de clasificación histológica, que evalúa la fibrosis y la inflamación del hígado, el grado de fibrosis se clasifica en una escala de F0 a F4, siendo F0 ausencia de fibrosis y F4 indicador de cirrosis, y la inflamación va de A0 a A3 donde A0 es ausencia de inflamación

y A3, inflamación severa. Otra escala empleada para valorar la fibrosis y el grado de inflamación es la escala Ishak, el grado de fibrosis se puntúa de 0 a 6, donde 0 es ausencia de fibrosis y 6 indicador de cirrosis, y la actividad inflamatoria se valora de 0 a 18, siendo 0 ausencia de inflamación y 18, inflamación severa. El índice de Fibrosis-4 (FIB-4) es una fórmula matemática que emplea los valores de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), recuento de plaquetas y edad del paciente para estimar el grado de fibrosis, y lo clasifica en 4 grupos, F0-F1 sin fibrosis o fibrosis mínima, F2 fibrosis moderada, F3 fibrosis avanzada y F4 cirrosis. El índice APRI es similar al FIB-4 solo que únicamente emplea los valores de AST y el recuento plaquetario en su fórmula matemática, y lo clasifica de igual manera de F0 a F4 (13) (42).

7. Diagnóstico

El diagnóstico del VHC es el primer paso para acceder al tratamiento y conseguir su eliminación. La infección aguda con VHC es generalmente asintomática, por lo que su diagnóstico precoz no es frecuente. En las personas que desarrollan la infección crónica con el VHC, dicha infección puede permanecer sin diagnóstico hasta que se haya producido un grave daño hepático.

Un correcto diagnóstico del VHC debe incluir una analítica general donde se incluya los niveles de transaminasas, bilirrubina, albúmina, tiempo de protombina y marcadores de función renal. Respecto al diagnóstico inmuno-infeccioso se debe solicitar marcadores serológicos frente a otros virus hepatotropos y VIH, para realizar un adecuado diagnóstico diferencial (43–45).

En ocasiones, está indicado la realización de una biopsia hepática que permita conocer la presencia y el grado de fibrosis (F0: ausencia de fibrosis, F1: fibrosis portal sin septos, F2: escasos septos, F3: septos abundantes sin cirrosis, F4: cirrosis), pero actualmente existen técnicas disponibles no invasivas que permiten medir el grado de rigidez hepática, como es el caso de la elastografía de transición o Fibroscan®, que emplea una tecnología de ultrasonidos que mide el grado de elasticidad y los cambios grasos en el hígado (46).

A nivel microbiológico, las pruebas para diagnosticar infección por VHC, se clasifican en pruebas indirectas (detección de anticuerpos) y pruebas directas (ensayos que pueden detectar, cuantificar o caracterizar los componentes de las partículas virales del VHC, como ARN y Antígeno Core). Las técnicas indirectas (anticuerpos) constituyen la primera línea diagnóstica y son indicativas de infección activa o pasada, mientras que las técnicas directas de demostración de viremia (ARN o antígenos) indican infección activa.

Todas estas pruebas son complementarias y necesarias para el diagnóstico de la infección y valorar la respuesta al tratamiento una vez finalizado (47) (48).

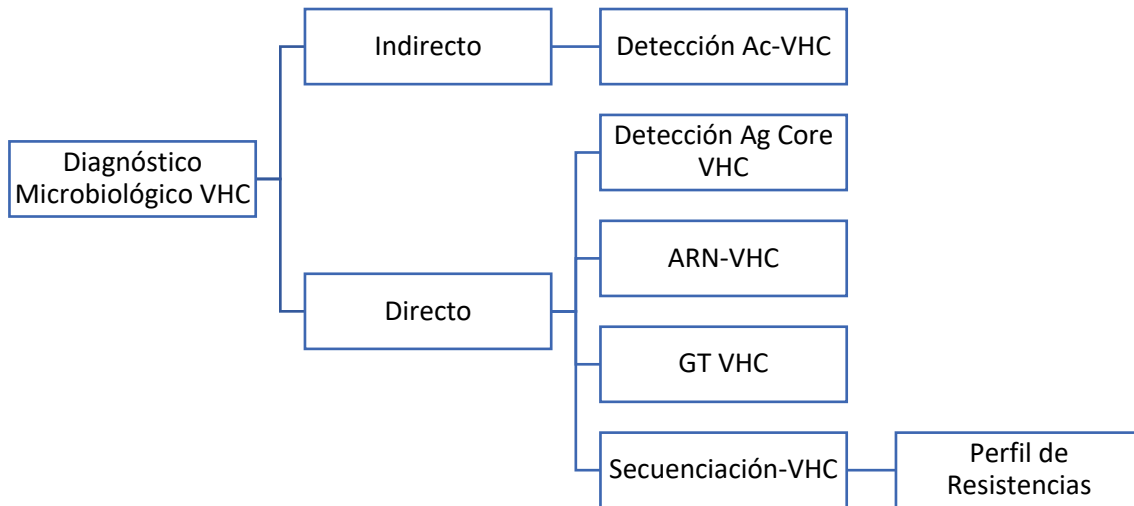


Fig. 7. Diagrama diagnóstico microbiológico.

7.1. Diagnóstico Indirecto

Se detecta anticuerpos (Ac) frente al VHC, permite conocer el estado serológico del paciente y solo indica si este ha estado en contacto o no con el virus. Estos ensayos no permiten distinguir entre pacientes con infección activa y aquellos que han eliminado el virus. Los anticuerpos frente al VHC no son neutralizantes ni protectores y entre el 70% y el 90% de las infecciones evolucionan a una fase crónica. Por eso una persona que se haya infectado y curado, puede volver a contagiarse según las distintas vías de transmisión previamente descritas.

La detección de estos anticuerpos se realiza mediante enzima enzimoimmunoensayos (EIA) o por inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) que son técnicas más sensibles que las primeras mencionadas y además permiten su automatización.

Existen diferentes ensayos para la detección de anticuerpos frente al VHC, los empleados actualmente son ensayos de tercera generación, que detectan anticuerpos a antígenos recombinantes de NS3, NS4 y NS5 del VHC. Son sistemas de alta especificidad y sensibilidad y su periodo ventana está en torno a las 6 o 7 semanas.

En recién nacidos de madres infectadas por el VHC y en algunos pacientes inmunodeprimidos, es posible que no se detecten fácilmente los anticuerpos anti-VHC; en estos casos está indicada la utilización de técnicas moleculares para la detección del ARN del VHC.

La detección por anticuerpos, también tienen una utilidad reducida en la sospecha de una infección muy reciente, por lo que también debería de utilizarse una técnica directa para la detección del virus.

7.2. Diagnóstico Directo

Detección Antígeno core del VHC: existen ensayos comercializados de detección de antígeno core mediante EIA o CLIA. La cuantificación de Ag core VHC permite una medición indirecta pero precisa de la replicación viral en los pacientes infectados por VHC y su detección indica también replicación viral. Además, los resultados de la prueba Ag core VHC podrían obtenerse en laboratorios de rutina sin necesidad de equipo o capacitación especial, el principal inconveniente de la detección de este marcador como medidor de replicación viral es su menor sensibilidad respecto a la cuantificación del ARN viral, y en pacientes que presenten una carga viral baja (inferior a 5000-10000 UI/ml) podríamos obtener un resultado falso negativo (49).

Carga viral del VHC: la cuantificación del ARN VHC, es el marcador que más se emplea para el diagnóstico y confirmación de una infección activa por VHC. La detección del ARN-VHC en plasma implica infección activa y por lo tanto capacidad infectiva de este paciente. Existen en el mercado, diferentes ensayos moleculares comercializados que optimizan la sensibilidad de la detección del ARN viral, identificando portadores

infectados del VHC y cuyo conocimiento es el primer paso necesario para evitar la transmisión del virus. En la práctica clínica la determinación del ARN VHC es útil en diversas circunstancias. Permite acortar el período ventana de la infección, ya que es el primer marcador de infección que se puede detectar proporcionando evidencias de una infección aguda cuando los anticuerpos VHC aún no son detectables; permite verificar el diagnóstico de infección vertical, en estos casos la detección de Ac VHC no permiten indicar si el origen de estos es materno o indicativo de infección en el recién nacido; corrobora una hepatitis C crónica; confirma la infección en pacientes con una alteración de la inmunidad humoral y que no expresan anticuerpos frente al VHC en plasma y permite la monitorización de la respuesta al tratamiento antiviral.

Los diferentes ensayos de detección de ARN del VHC comercializados, se encuentran calibrados utilizando estándares de la OMS (basados en secuencias genómicas del virus), de tal manera que permite asegurar su precisión y garantizar resultados comparables entre sí, aunque, en cualquier caso, podría haber diferencias en la cuantificación entre los diferentes ensayos, por lo que se recomienda el seguimiento de cada paciente empleando siempre el mismo ensayo. En la actualidad, existen multitud de técnicas para la cuantificación de la carga viral en plasma o en suero.

Las utilizadas en este trabajo han sido HCV COBAS 6800 (Roche®) y Xpert HCV (Cepheid®). Ambas son técnicas cuantitativas que presentan excelentes sensibilidades, permitiendo la detección hasta 15 UI/ml del VHC. Requieren un volumen entre 500 µL y 1 mL de plasma o suero respectivamente y se basan en una RT-PCR a tiempo real con sondas fluorescentes, permitiendo la detección y cuantificación del VHC. En estos ensayos, no es necesario la realización de la extracción previa del material genético antes del proceso de amplificación, ya que se realiza una extracción automática, por lo que disminuye el sesgo de variabilidad en esta fase que es una de las más críticas del procedimiento.

Todas las técnicas comerciales disponibles presentan una elevada sensibilidad y especificidad y las principales diferencias entre unas y otras radican en el formato, la capacidad de automatización, tiempos de respuesta y capacidad de procesamiento.

Genotipado del VHC: El VHC debido a su alta tasa de mutación, forma cuasiespecies virales, clasificadas según las regiones altamente variables en la proteína de la cubierta y la proteína no estructural 5B (NS5B). Como resultado de esta gran variabilidad genética, se han identificado hasta ocho genotipos y más de 67 subtipos. La determinación del genotipo hasta el momento ha sido fundamental para la elección del correcto tratamiento antiviral para el paciente y para predicción del pronóstico de éste. Actualmente con los tratamientos pangénóticos disponibles, que presentan una alta barrera genética a la resistencia y gran potencia antiviral, el no conocer el genotipo no supone una limitación a la hora de iniciar la terapia antiviral. Hoy en día, la información del genotipo cobra especial relevancia para comprender la clasificación, la epidemiología, evolución, transmisión e historia natural del VHC.

Uno de los métodos empleados para conocer el genotipo del VHC y el considerado gold standard es la realización de la secuenciación. El análisis del genoma viral ha resultado en el análisis de determinadas regiones del virus: NS3, NS5A y NS5B. Principalmente NS3 y NS5A para el estudio de resistencias a fármacos y NS5B para estudios relacionados con la genotipificación y también resistencias a antiretrovirales.

La secuenciación se puede realizar mediante secuenciación Sanger o secuenciación masiva (NGS), la ventaja que ofrece esta última frente a la secuenciación Sanger es que permite identificar las variantes minoritarias que pueden tener repercusión clínica en la respuesta al tratamiento (50).

Existen diferentes métodos comerciales de genotipificación del VHC. Uno de ellos es el ensayo cobas HCV GT para su uso en el sistema cobas 4800. Este ensayo emplea tres regiones diferentes en el genoma del VHC: 5'-UTR, core, NS5B. Esta prueba se basa en el empleo de una PCR en tiempo real que permite la identificación cualitativa de los genotipos del 1 al 6 y los subtipos A y B del VHC.

Existen otros métodos comerciales que también permiten la genotipificación del VHC, y la mayoría de los métodos disponibles detectan correctamente los 6 genotipos principales, aunque algunos no logran identificar el subtipo en 10–25 % de los casos (51).

Secuenciación: La secuenciación directa de los amplicones de la PCR se lleva a cabo con un secuenciador de ADN automatizado que proporciona secuencias exactas de nucleótidos y aminoácidos del fragmento analizado.

La secuenciación del genoma viral puede realizarse mediante secuenciación Sanger o secuenciación de nueva generación (NGS) que permiten identificar los genotipos y subtipos del VHC, así como determinadas sustituciones asociadas a resistencias (RAS) en las regiones NS3, NS5A y NS5B con gran repercusión clínica en el tratamiento antiretroviral. La principal diferencia entre una técnica y otra es, que mediante secuenciación Sanger solo permite detectar variantes que se encuentren en una proporción igual o superior al 15-20%, frente a la secuenciación mediante NGS que permite detectar variantes asociadas a sustituciones que se encuentren en una proporción menor, dando lugar a variantes minoritarias (52).

Una sustitución específica puede o no conferir una reducción fenotípica de la susceptibilidad a uno o varios agentes antivirales. Un RAS específico de un fármaco es una sustitución de aminoácidos que reduce la susceptibilidad del VHC a un fármaco específico, mientras que los RAS de clase de fármaco son sustituciones de aminoácidos que reducen la susceptibilidad del virus a al menos un (pero posiblemente más) miembro de una clase de drogas.

7.3. Cinética de los marcadores para el VHC

La figura 8 muestra la secuencia temporal de aparición de los anti-VHC, y marcadores de replicación en relación con la alteración enzimática durante la infección aguda con resolución espontánea o evolución a la cronicidad. La presencia de ARN viral circulante puede detectarse dentro de las primeras 2 semanas tras la exposición y su nivel aumenta hasta alcanzar un máximo antes de la aparición de los signos biológicos de hepatitis aguda. Luego desaparece rápidamente en los casos que resuelven la infección espontáneamente (15-30% de casos) o desciende hasta estabilizarse en los que desarrollan infección persistente. No es infrecuente que, durante la fase aguda de la hepatitis, el ARN sea indetectable durante semanas para reaparecer posteriormente y establecer infección persistente. Durante la infección crónica, los valores de ARN son muy estables y no guardan relación con la gravedad de la lesión hepática. La presencia

de antígeno del core (cápside) del VHC en sangre, marcador fiable (aunque mucho menos sensible) de replicación viral, aparece 1-2 días después que el ARN tras la infección y sus variaciones suelen ser paralelas a las del ARN durante la infección aguda y crónica.

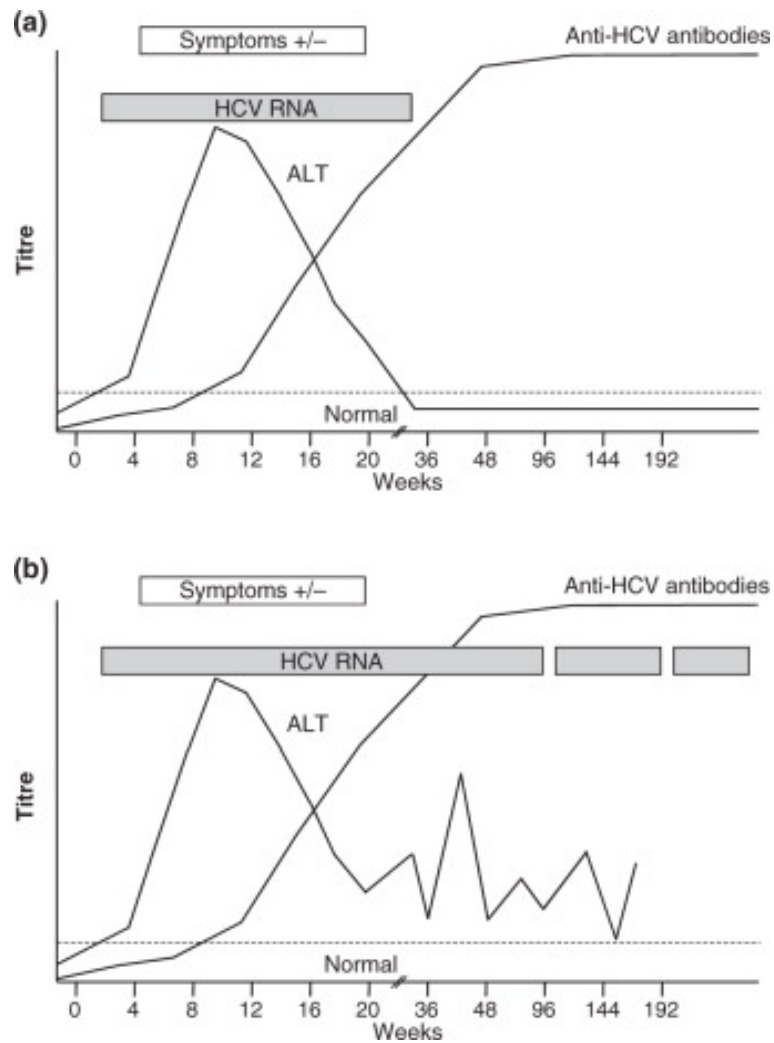


Fig. 8. Cinética de los marcadores virológicos durante la infección aguda (a) y crónica (b) por el virus de la hepatitis C.

Imagen tomada de *Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection*. S. Chevaliez et al.

7.4. Diagnóstico del VHC en la práctica clínica asistencial

En la práctica clínica, el diagnóstico de la infección por VHC, se realiza siguiendo el algoritmo de diagnóstico en un solo paso (DUSP). En la misma muestra se realiza detección de anticuerpos frente VHC, es el primer paso para conocer el estado inmune del paciente, y si esta determinación resulta positiva, se hace como prueba refleja la cuantificación de ARN VHC, conociendo así si es una infección activa o resuelta; sin necesidad de solicitar una nueva muestra de tal manera que el principal objetivo con esta estrategia es disminuir las barreras en el diagnóstico, que constituye la puerta de entrada a los servicios de prevención y tratamiento.

Con el DUSP se consigue una atención especializada más eficiente en el manejo de la infección, al identificar pacientes con infección resuelta y que no es necesario que acudan a atención hospitalaria para evaluación del tratamiento y sobrecargar las consultas de los especialistas de manera innecesaria, y además, se evita una importante pérdida en el número de pacientes debido al retraso del diagnóstico en el tiempo que se observaba con el algoritmo diagnóstico tradicional que se venía realizando, en el que el paciente es sometido a diferentes pruebas con las consiguientes visitas al facultativo responsable. Con la instauración del diagnóstico en un solo paso y la implementación de alertas para la derivación de los pacientes a atención especializada se consigue un aumento significativo del número de pacientes que se evalúan para candidatos a tratamiento antiviral.

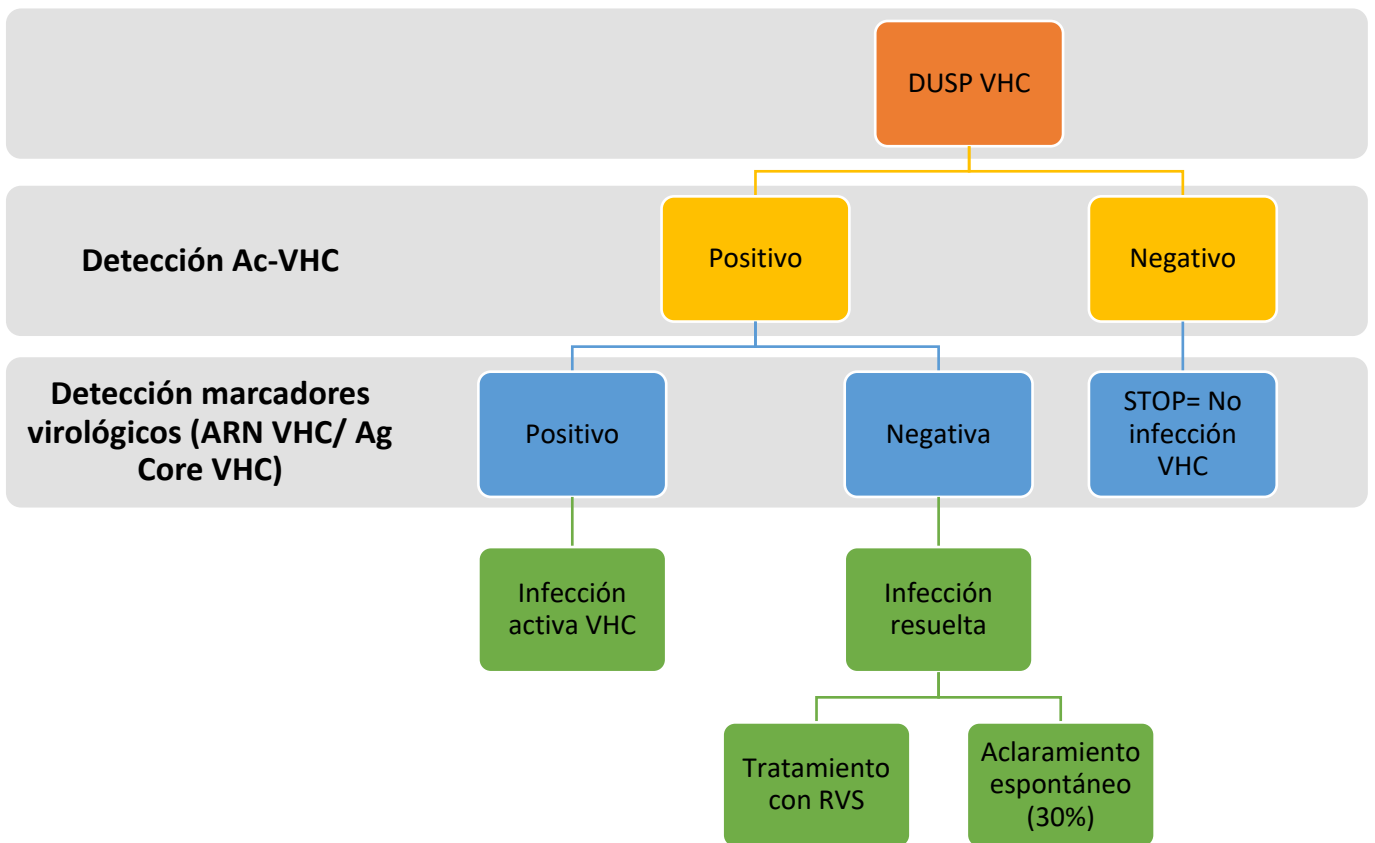


Fig. 9. Algoritmo diagnóstico en la práctica clínica habitual.

8. Prevención

El primer paso para la prevención de la infección por el VHC consiste en diagnosticar a todos los pacientes con infección activa, y a estos y a los diagnosticados, pero no tratados, tratarlos, ya que los tratamientos actuales para la infección por VHC presentan unas elevadas tasas de curación. Hasta el momento, no existe una vacuna para evitar la infección por VHC, debido a la diversidad genética del virus, así que la mejor opción es reducir las prácticas de riesgo que nos puedan llevar a contraer una hepatitis C.

El VHC se transmite a través de sangre infectada, por lo que es importante evitar que esta sangre infectada entre en contacto con la de otras personas.

La mayoría de los casos de infección por VHC se han dado en Usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) al compartir jeringas, y en el ámbito sanitario, principalmente, en pacientes que han recibido transfusiones sanguíneas, sobre todo anteriores a 1992 en los que no se realizaba el cribado para VHC. También ha sido debido a la reutilización de material médico, fundamentalmente, el empleado en inyectables. Por eso, se recomienda no compartir material punzante tipo agujas o jeringas, ni artículos personales en los que exista la posibilidad de contacto sangre-sangre o sangre-tejido.

Respecto a la transmisión vía sexual, se recomienda utilizar siempre métodos de barrera. Se ha visto que la transmisión sexual suele darse entre hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y que practican prácticas sexuales asociadas al consumo de drogas (ChemSex) y las probabilidades de contraer una hepatitis C aumentan si existe coinfección con VIH.

La transmisión vertical madre-hijo tiene lugar en el momento del parto, el que entran en contacto las mucosas. El riesgo de transmisión por esta vía aumenta si la madre es VIH. En estos casos la prevención hoy en día, es conseguir carga viral indetectable porque así la infección será no transmisible.

9. Tratamiento

Conseguir la eliminación del VHC es el objetivo primario con la finalidad de detener la progresión de la enfermedad crónica hepática y disminuir el número de personas infectadas. Se han postulado otros objetivos, como frenar la evolución de la fibrosis y, en definitiva, la cirrosis, y prevenir la aparición de otras complicaciones como hepatocarcinoma.

El tratamiento actual de la infección por VHC, se realiza con Antivirales de Acción Directa (AAD), que comenzaron a emplearse en 2014. Estos tratamientos presentaban una serie de ventajas respecto al tratamiento inicial que se venía haciendo en estos pacientes. Presentan unas elevadas tasas de curación, cercanas al 95% y con escasos efectos adversos; además, actualmente existen regímenes pangénómicos con alta resistencia genética a la barrera y gran potencia antiviral que facilita el tratamiento de estos pacientes. Estos AAD han revolucionado el escenario del tratamiento de la infección por VHC y permite que hoy en día se hable de erradicación y eliminación, ya que al tratar al paciente y curarlo, se elimina también el reservorio del virus, fuente de contagio que puede producir nuevas infecciones (53)(54).

La curación de la infección o respuesta viral sostenida (RVS) se define como la negativización de la viremia en la semana 12 después del tratamiento. Esta RVS se asocia a una normalización de las pruebas de función hepática y a una mejoría o desaparición de la necroinflamación y la fibrosis hepática en los pacientes sin cirrosis. En los pacientes con cirrosis, la curación se asocia a una disminución, pero no eliminación, del riesgo de eventos clínicos relacionados con la hepatopatía crónica (55)(56).

Una vez alcanzada la RVS, se considera al paciente curado, pero es importante remarcar que la RVS no confiere inmunidad frente a una posible reinfección, por lo que en determinados grupos de riesgo (HSH coinfectados con VIH, UDVP y pacientes en régimen penitenciario) se recomienda, la monitorización de la carga viral de manera periódica (cada 12 meses) además de la interrupción de las prácticas de riesgo.

En el momento de la evaluación del paciente antes de iniciar el tratamiento antiviral debe incluir evaluación clínica, marcadores séricos, métodos radiológicos clásicos y la valoración de la rigidez hepática por métodos no invasivos (métodos elastográficos), ya que esta valoración puede ser necesaria para decidir la duración del régimen al usar algunas combinaciones de antivirales y es esencial identificar a los pacientes con fibrosis avanzada, pues estos requerirán seguimiento a largo plazo una vez curados. En la mayoría de los casos, si se utilizan combinaciones pangénóticas, no es necesaria la determinación del genotipo para decidir el tratamiento de antemano, sin embargo, el conocimiento del genotipo puede ayudar a diferenciar entre reinfecciones y recidivas, si las hubiera, y a conocer la epidemiología de la infección en determinados escenarios, y realizar filogenética (57).

El tratamiento de la infección por VHC, que se venía realizando hasta la aparición de los primeros AAD, consistía en la combinación de Interferón pegilado (Peg-IFN) y Ribavirina (RIB), pero solo conseguía respuesta viral sostenida (RVS) en alrededor del 50% de los pacientes, unido además a las reacciones adversas graves, lo que complicaba la adherencia al tratamiento (58).

Interferon- α (INF) es una proteína con actividad antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora. Por ello se empleó como terapia antiviral, con el objetivo de reducir la inflamación de las células hepáticas, previniendo las complicaciones posteriores que se derivan de esta inflamación como son la cirrosis y el carcinoma hepatocelular.

Entre los efectos adversos del Interferon- α nos encontramos con síntomas inespecíficos como fatiga, pérdida de peso, de apetito, dolor muscular, a nivel neurológico pueden darse complicaciones psiquiátricas (depresión), complicaciones hematológicas como anemia, trombocitopenia y neutropenia, a nivel dermatológico, uno de los efectos adversos más comunes es la sequedad de piel y prurito, y reacciones en el lugar de inyección que se caracterizan típicamente por dolor, eritema. A nivel gastrointestinal, se incluye náuseas y dolor abdominal.

Ribavirina es un antiviral con actividad inmunomoduladora, de tal manera que puede aumentar la actividad de los linfocitos T, y un cambio en el perfil de citoquinas; esta respuesta inmunitaria adaptativa favorece la eliminación de las células infectadas por el VHC y disminuye el daño hepático.

El mecanismo de acción de este fármaco se debe a que es un nucleósido análogo de guanosina, que es capaz de inhibir la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) que es el paso clave en la síntesis de *novó* de guanina, necesaria para la replicación viral. Entre sus reacciones adversas destaca la anemia hemolítica severa (59).

El tratamiento del VHC con IFN y Ribavirina (RBV) no era válido para cualquier tipo de paciente infectado por VHC, era necesario hacer una preselección de los pacientes candidatos a recibir esta terapia debido a las reacciones adversas y poder anticipar cualquier reacción adversa, unido a que la tasa de curación era del 50%-60% (60).

Afortunadamente, el tratamiento del VHC ha cambiado a regímenes con antivirales de acción directa, de administración oral, de corta duración (de 8 a 12 semanas), gran eficacia y efectos secundarios muy limitados. Las combinaciones de AAD que las directrices internacionales recomiendan actualmente como tratamiento de primera línea para los pacientes infectados por el VHC alcanzan tasas de respuesta virológica sostenida (RVS) >95% para todos los genotipos del VHC.

Antivirales de Acción Directa

Cada paso del ciclo de replicación del VHC constituye una diana potencial de actuación de los fármacos disponibles. Las dianas farmacológicas mejor estudiadas entre las diferentes enzimas virales son la proteasa NS3/4A, la ARN polimerasa dependiente de ARN NS5B y la enzima NS5A. La proteasa NS3/4A interviene en el corte de la poliproteína, que es requerida para la formación del complejo replicasa, así que los fármacos que actúen a este nivel van a impedir la formación de dicho complejo. La polimerasa NS5B, interviene en la replicación del virus, de tal manera que los antivirales

que intervengan en este paso van a detener el proceso de replicación. La enzima NS5A interviene en los procesos de replicación del ARN y ensamblaje de las partículas virales, por lo que al inhibir esta enzima se interrumpe simultáneamente estos dos pasos.

Inhibidores de la proteasa (IP) NS3/4A:

La proteína NS3 es una proteína multifuncional ya que actúa como proteasa y como helicasa. El dominio amino-terminal de la proteína NS3 y su cofactor NS4A, se combinan y forman un heterómero con actividad serin proteasa, la NS3/4A, rompe la poliproteína VHC en 4 proteínas funcionales no estructurales entre las que se incluye la polimerasa del VHC, la enzima NS5B. La actividad de la enzima NS3/4A es esencial para la generación de componentes del complejo de replicación del ARN viral, ya que este proceso sólo se iniciará después de que todas las proteínas individuales se hayan separado de la poliproteína. La proteína NS3 también ha mostrado actividad nucleótido trifosfatasa, que es una parte incorporada de la actividad helicasa.

Inhibidores de la polimerasa (NS5B):

La proteína NS5B es la principal enzima responsable de la replicación viral y por ello constituye una diana terapéutica debido a su actividad ARN polimerasa dependiente de ARN, esta enzima cataliza la síntesis de la cadena ARN complementaria de cadena negativa y posterior ARN genómico de cadena positiva.

Inhibidores de la proteína NS5A:

La proteína NS5A es una fosfoproteína multifuncional que interviene en funciones esenciales como la replicación del ARN y en el ensamblaje de las partículas virales, por lo cual también constituye una diana farmacológica de acción de los antivirales, por lo que al inhibir esta enzima se consigue interrumpir simultáneamente la replicación y el ensamblaje.

En la siguiente tabla se muestra los AAD disponibles y su diana de acción

<i>Diana AAD</i>	<i>Fármaco</i>
<i>Inhibidor NS3/4A</i>	Telaprevir
	Boceprevir
	Simeprevir
	Paritaprevir
	Grazoprevir
	Voxilaprevir
	Glecaprevir
<i>Inhibidor NS5A</i>	Ledipasvir
	Ombitasvir
	Daclatasvir
	Elbasvir
	Velpatasvir
	Pibrentasvir
<i>Inhibidores NS5B</i>	Sofosbuvir
	Dasabuvir

Tabla 1. Antivirales de acción directa y diana de acción.

Hoy en día las combinaciones más empleadas (Sofosbuvir + Velpatasvir 12 semanas y Glecaprevir + Pibrentasvir 8 semanas) las cuales presentan un adecuado perfil de tolerancia, alta barrera genética y con escasas interacciones con la gran mayoría de fármacos. Existe una herramienta sencilla “HEP Drug interactions” de la Universidad de Liverpool para la comprobación de interacciones (www.hep-druginteractions.org) (61).

Otras combinaciones disponibles son Elbasvir/Grazoprevir, Ledipasvir/Sofosbuvir, Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir + Dasabuvir, Sofosbuvir/Daclatasvir, Sofosbuvir/Simeprevir, Sofosbuvir/Velpatasvir.

Actualmente, teniendo en cuenta los datos epidemiológicos de los que disponemos y la evolución natural de la enfermedad se apuesta por tratar a todos los pacientes infectados por VHC independientemente de los síntomas y del estado en el que se encuentren, ya que esto reduciría notablemente el reservorio de virus, foco a

partir del cual se producen nuevas infecciones, y es el único sistema (junto con la prevención) que permitiría considerar la posibilidad de eliminación de esta infección.

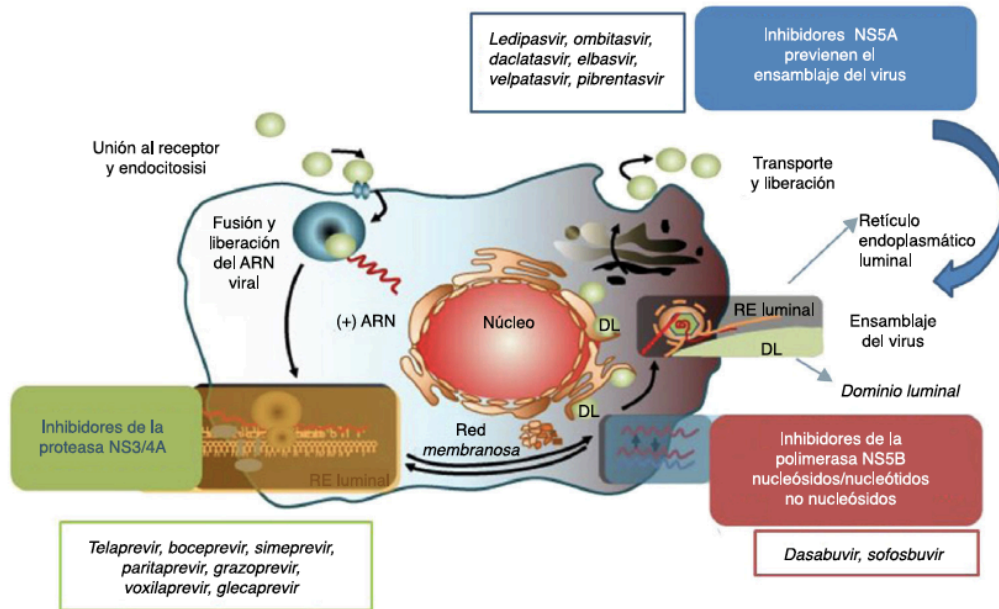


Fig. 10. AAD y dianas de acción.

Imagen tomada de Hepatitis C y trasplante renal: el tiempo de la erradicación del virus ha llegado. N. Esforzado et al.

Resistencias VHC

Los regímenes antivirales de acción directa (AAD) alcanzan tasas de curación cercanas al 95% de los pacientes con infección crónica por VHC. Sin embargo, en algunos pacientes en los que falla la terapia, se pueden desarrollar sustituciones asociadas a la resistencia (RAS), lo que hace que los medicamentos antivirales sean ineficaces o solo parcialmente efectivos y limita las opciones de retratamiento, corriendo el riesgo de una transmisión del virus resistente. Es muy importante el estudio de resistencias que nos permitan conocer estas sustituciones, especialmente en los pacientes que han fallado a la primera línea de tratamiento antiviral (62) (63).

El VHC emplea una ARN polimerasa dependiente de ARN que interviene en su replicación, la cual carece de actividad correctora, unido a que su cinética de replicación es muy elevada, lo que favorece la aparición de cuasiespecies, donde es muy probable que coexistan sustituciones asociadas a resistencias. Por ello se necesita un tratamiento antiviral potente que consiga eliminar VHC, incluso los que presentan estas cuasiespecies con sustituciones. Por el contrario, una vez retirado el tratamiento, se producirá una recidiva viral a expensa de la sustitución seleccionada.

Respecto a la reinfección por VHC, puede darse en determinadas poblaciones, como son UDVP, Coinfectados con VIH, HSH que practiquen prácticas sexuales de riesgo. Es importante asegurar si el fallo al tratamiento es por recidiva o reinfección, y es necesario conocer el genotipo basal y el posterior, y para ello se emplean técnicas de secuenciación.

NS3-protease (1-181 aa)

Asunaprevir (1st generation)	36	43	54	55	56	80	122	168				
	Q	L	S	A	H	K	Q	A Q C I E V H Y				
Glecaprevir (2nd generation)	36				56	80	155	156	166	168		
	M				H	K	I	G T G	T	A E K V Y		
Grazoprevir (2nd generation)	36	43			56	80	155	156	158	168		
	L	S	C		F E	K L	I G K	G I S	A	A K A V A A E G N V Y		
Paritaprevir (1st generation)	36				56	80	155	156	168			
	A				H H	K K	G K	H V	A E A K A E N E V H V Y			
Simeprevir (1st generation)	36	41	43			80	122	155	156	168	170	
	M	R	S			K K R	R R I	G Q K	T S G	A N A A A E V H	A N E Q E V Y	I
Vaniprevir (1st generation)	36					80	155	156	168			
	M					L	G Q K K S Q N I T	G G S T V	A H A I F N E V G S F Y I V H Y			
Voxilaprevir (2nd generation)	36	41	43		56	80	122	155	156	168	170	175
	L A G M	R K R K	S S V		H	K K R	D	G W K W	L S L T L T T V V V	A K V E A R A F L Y T H Y H I R V K T V	A	M

NS5A domain I (1-213 aa)

Daclatasvir (1st generation)	24	28			30	31	32	58	62	92	93
	R	A M C I M			D K G K	G I F M F Y V M	L L S	D A N	L	K R	C C H H H R W
Elbasvir (2nd generation)		28			30	31		58			93
		A M S			D K Q F	F E		D D			C H C H H S
Ledipasvir (1st generation)	24	28			30	31	32	38	58	92	93
	R	A M M			E L H H	F F I	L	E	D D L	I K I	C S C C H S W
Ombitasvir (1st generation)	24	28			30	31		58		92	93
	R Q	I M I			E R Q R	V F I		D S		I	C E S H H S
Pibrentasvir (2nd generation)	24	28			30	31		58			93
	R F	A G K			D G K K	M F I M		D I			H H N
Velpatasvir (2nd generation)	24	28			30	31	32	58		92	93
	R K	A F T M			E S H	F F I F I	L A L	D R A G G		K K R K T	C C H H H H A H H F N H N R S N S

NS5B-polymerase (1-591 aa)

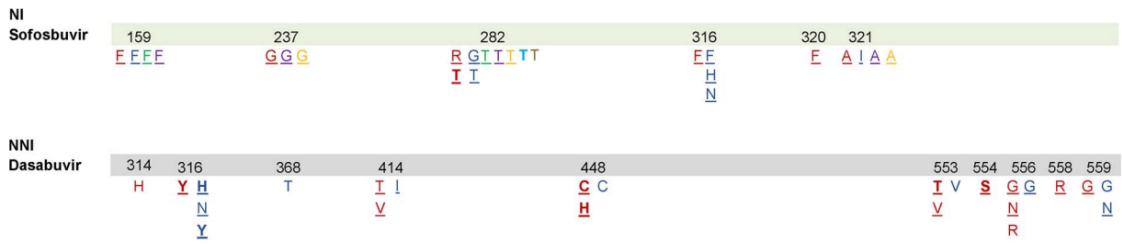


Fig. 11. Resumen de sustituciones asociadas con la resistencia a los inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5A e inhibidores de NS5 B nucleósidos y no nucleósidos.

Los genotipos y subtipos del VHC están representados por diferentes colores: 1a-rojo, 1b-azul, 2a/b/c-verde, 3a-morado, 4a/d-amarillo, 5-azul claro, 6-marrón. Las sustituciones de aminoácidos detectadas in vivo en pacientes que fallan en DAA están subrayadas. Imagen adaptada Sorbo et al.

10. Estrategias para la eliminación del VHC

La eliminación de la hepatitis C como problema de salud pública es un objetivo importante a nivel mundial. Para conseguir alcanzar el objetivo propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de la eliminación de hepatitis C para 2030, es necesario establecer diferentes estrategias que permitan solventar las barreras ante las que nos encontramos para acceder al cribado de la población, vinculación al seguimiento y tratamiento de la infección por VHC. En cada uno de estos contextos es necesario facilitar el acceso y uso adecuado de cada uno de los servicios de la atención sanitaria, adecuándolo a las necesidades de las personas y garantizando la universalidad (31) (64) .

Entre las diferentes estrategias para conseguir la eliminación de VHC en los diferentes ámbitos, se proponen las siguientes acciones:

- Mejorar el acceso al diagnóstico: Una estrategia fundamental para la eliminación de la hepatitis C es aumentar el acceso a las pruebas de detección y simplificar el diagnóstico, apostando e implementado la estrategia del diagnóstico en un solo paso y la incorporación de alertas sanitarias. Esto implica promover y ofrecer pruebas de detección de hepatitis C de forma rutinaria en entornos de atención médica; se debe descartar infección por VHC en todas las personas con sospecha clínica, aunque las manifestaciones clínicas en la fase aguda de la infección son inespecíficas y también en los pacientes que presenten alterados las pruebas de función hepática, así como en poblaciones de alto riesgo, tales como usuarios de drogas vía parenteral, personas que reciben transfusiones de sangre, actualmente, es obligatorio la realización de pruebas para la detección de VHC en centros de transfusión para la donación de sangre, células, tejidos y trasplante de órganos, y personas con antecedentes de exposición a la hepatitis C, se estima que más del 80% de las personas que tienen infección por VHC refieren situaciones de riesgo para la transmisión del virus, situaciones como consumo de drogas vía parenteral y/o inhalada, relación sexual de riesgo, pareja sexual con infección activa por VHC, coinfección VIH y/o VHB, tatuajes y/o piercings o cualquier procedimiento estético realizado con instrumental

punzante realizado en establecimientos sin cumplir las condiciones higiénicas ni de seguridad, exposición laboral al VHC, ingreso en centros penitenciarios y procedencia de países con prevalencia media-alta de infección por el VHC.

Promover la búsqueda activa de pacientes perdidos en el sistema, es decir pacientes con una serología positiva sin posterior confirmación de viremia o pacientes ya diagnosticados en los que no constan que hayan recibido tratamiento o hayan alcanzado RVS (25) (65) (66)

- Tratamiento temprano y accesible: Es crucial que las personas diagnosticadas con hepatitis C reciban tratamiento de manera temprana y accesible, esta estrategia se ve favorecido por el DUSP que mejora la vinculación con la atención sanitaria y disminuye el tiempo de acceso al tratamiento. Los avances en los tratamientos antivirales de acción directa (AAD) han demostrado altas tasas de curación de la hepatitis C, reduciendo el riesgo de desarrollar complicaciones en una fase posterior. Por lo tanto, se deben implementar programas para asegurar que todas las personas diagnosticadas tengan acceso a estos tratamientos eficaces. La OMS estima que en ausencia de tratamiento entre el 20%-30% de las personas infectadas por el VHC desarrollarán complicaciones tales como cirrosis o hepatocarcinoma, pudiendo llegar a provocar 7,2 millones de muertes entre 2015-2030.
- Reducción de la transmisión: La hepatitis C se transmite principalmente a través del contacto con sangre infectada. Por lo tanto, es importante implementar estrategias para reducir la transmisión de la hepatitis C. Esto incluye la promoción de prácticas seguras en entornos de atención médica, garantizando la seguridad de la sangre (cribado de donantes), las inyecciones y la cirugía. La implementación de programas de intercambio de jeringuillas para personas que se inyectan drogas, y el acceso a programas de reducción de daños (conjunto de jeringuillas/aguja estériles distribuidas por persona y año para usuarios de drogas), y la implementación de terapias de sustitución de opiáceos, que reducen la conducta de inyectarse y por lo tanto disminuye el riesgo de transmisión y de reinfección después del tratamiento. Combinar estrategias de prevención y tratamiento es esencial para combatir la infección por VHC.

- Educación y concienciación pública: La educación y la concienciación pública son elementos clave para la eliminación de la hepatitis C. Es importante proporcionar información precisa sobre las vías de transmisión de la hepatitis C, las medidas de prevención y la importancia de la detección y el tratamiento temprano. Se observa una falta de conocimiento y concienciación entre los profesionales sanitarios, responsables políticos, poblaciones vulnerables y en el público en general. Por lo que se recomienda implementar actividades de formación y sensibilización para profesionales, actividades que permitan identificar pacientes con exposiciones y situaciones de riesgo (67). También se recomienda fomentar acciones de sensibilización en la población general y en poblaciones específicas se recomienda trabajar conjuntamente con las entidades locales para poder facilitar el cribado de estas poblaciones con mayor dificultad de acceso al sistema sanitario. Por todo ello, se hace necesario el desarrollo de planes estratégicos para la eliminación del VHC (68).

- Abordar las desigualdades en el acceso a la atención: Las personas en situaciones de vulnerabilidad, como las personas sin hogar, las encarceladas, las que consumen drogas, personas con problemas de salud mental y migrantes (especialmente procedentes de países con prevalencia de infección media o alta), enfrentan barreras adicionales para acceder a los servicios de atención médica encargados de tratar la infección por VHC. Es difícil conseguir tratar a estos grupos poblacionales ya que muchos de ellos no acceden a los servicios sanitarios. Por eso en estos casos se recomienda mantener una actitud proactiva y acercar el cribado a poblaciones con dificultades de acceso al sistema sanitario, ofertando el diagnóstico en centros de atención de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), centros de drogodependencia, unidades móviles autorizadas en campañas y a toda persona al ingreso a un centro penitenciario.

Para lograr la eliminación de la hepatitis C, es importante abordar estas desigualdades en el acceso a la atención y garantizar que todas las personas tengan la oportunidad de recibir la detección y el tratamiento adecuados.

Estas son algunas de las estrategias clave que se están implementando en todo el mundo para lograr la eliminación de la hepatitis C. Estas estrategias proporcionan una base sólida para abordar este problema de salud pública que quedan recogidas en los diferentes planes nacionales y regionales para la eliminación del VHC (31).

Nuestro país, cuenta con la elaboración de el Plan Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C (PEAHC) en el Sistema Nacional de Salud en el año 2015 y con distintos planes a nivel autonómicos como son, Plan de prevención y control de la hepatitis C en Cataluña (2018), Plan Estratégico para la eliminación de la hepatitis C en Aragón (2019), Estrategia para la eliminación de la hepatitis C en Cantabria (2019), Estrategia para la eliminación de la hepatitis C como problema de salud pública en Galicia (2022) y el Plan para la Eliminación de Hepatitis C en Andalucía (2022).

El objetivo general del PEAHC es disminuir la morbimortalidad causada por el virus de la hepatitis C en la población española, abordando eficientemente la prevención, el diagnóstico, el tratamiento y el seguimiento de los pacientes; para ello se fundamenta en 4 líneas estratégicas, en las que se establece una serie de objetivos específicos y acciones prioritarias a desarrollar (17).

A continuación, se resumen las 4 líneas estratégicas:

- Línea Estratégica 1: Epidemiología de la infección. Promoción y prevención.

Cuantificar la magnitud del problema, describir las características epidemiológicas de los pacientes con infección VHC y establecer las medidas de prevención.

- Línea Estratégica 2: Estrategia terapéutica.

Definir los criterios científico-clínicos que permitan establecer la adecuada estrategia terapéutica considerando el uso de antivirales de acción directa para el tratamiento de la hepatitis C en el ámbito del Sistema Nacional de Salud, así como el seguimiento clínico y virológico del paciente.

-Línea Estratégica 3: Mecanismos de coordinación.

Establecer los mecanismos de coordinación necesarios para la adecuada implementación de la estrategia para el abordaje de la hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud, de tal manera que se garantice el acceso al diagnóstico y al tratamiento, y seguimiento del paciente.

-Línea Estratégica 4: Fomentar el avance en el conocimiento de la prevención, diagnóstico y tratamiento de la hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud a través de actuaciones específicas en el área de la I+D+i.

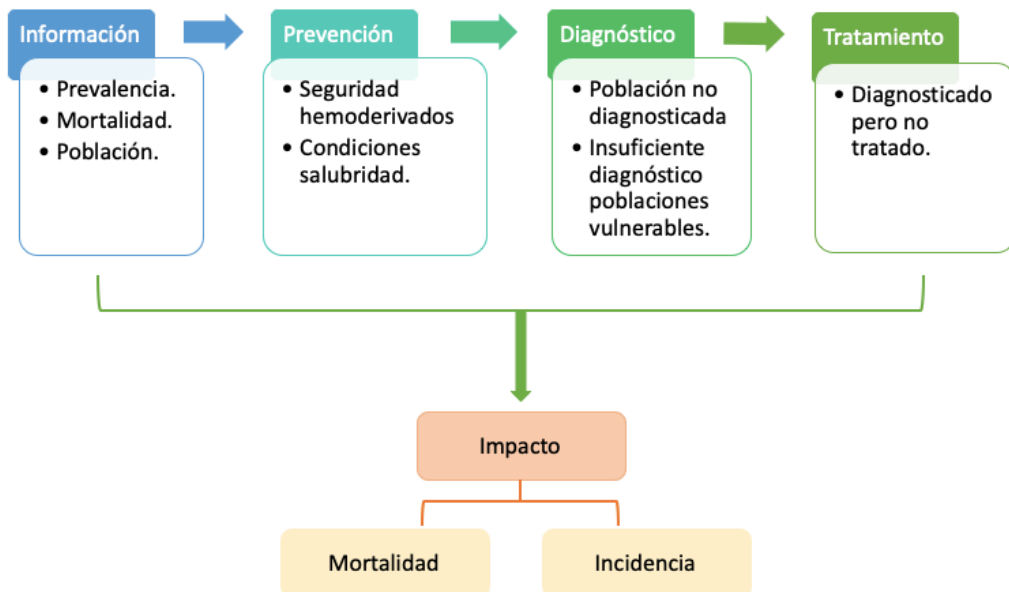


Fig. 12. Impacto de las líneas estratégicas del PEAHC.

PLANTEAMIENTO E HIPÓTESIS DE LA TESIS DOCTORAL

Uno de los principales desafíos para lograr la erradicación global del VHC sigue siendo reducir el infradiagnóstico. El diagnóstico es el primer obstáculo a solventar para conseguir la eliminación del VHC, ya que el diagnóstico es la puerta de entrada al resto de prestaciones sanitarias como evaluación del paciente, tratamiento y seguimiento.

La implementación de estrategias de eliminación del virus de la hepatitis C tanto a nivel global, nacional como autonómico, puede conducir a una reducción en la incidencia y en la mortalidad de la infección por VHC, lo que se traduce en una disminución de la carga de la enfermedad y en la mejora de la salud de las poblaciones afectadas. Existe un compromiso global con la eliminación VHC que se ha convertido en objetivo de la OMS, para ello es necesario mejorar el acceso a los tratamientos antivirales y aumentar la detección y el tratamiento de la hepatitis C en todo el mundo. La implementación de estrategias de eliminación es una forma de cumplir con estos compromisos y promover la salud global.

Justificación

La existencia de los regímenes de tratamiento desarrollados en los últimos años, los antivirales de acción directa, debido a su alta efectividad y escasas reacciones adversas constituyen una base sólida para la eliminación VHC. Al tratar a las personas infectadas, no solo se produce la curación a nivel individual, previniendo complicaciones y mejorando la salud y la calidad de vida de estos, sino que, además hay una reducción de la transmisión, lo que repercute a nivel poblacional, ya que contribuye a la disminución de la incidencia de nuevas infecciones, el tratamiento es la prevención. Esto hecho es crucial, pero además tiene especial relevancia entre los grupos poblacionales de alto riesgo o poblaciones vulnerables. Pero la simple disponibilidad de estos fármacos no es lo único necesario para obtener un impacto real sobre la morbilidad y la mortalidad, y la eliminación del VHC. Es necesario un conocimiento claro de la epidemiología, la identificación de las personas infectadas, la vinculación a la estructura

de administración del tratamiento y los programas de vigilancia tras la eliminación del virus.

Con la eliminación del VHC también se reduce la carga económica asociada a la atención médica de las complicaciones de esta infección, lo que beneficia a los sistemas de salud.

En resumen, es necesaria la implementación de estrategias de eliminación del VHC, justificada por la eficacia de los tratamientos antivirales disponibles, que repercute en la reducción de la transmisión, en beneficios para la salud pública y mejoras en los sistemas de salud. La eliminación del VHC puede conducir a una disminución significativa de la carga de la enfermedad y mejorar la salud de las poblaciones afectadas.

Entre las estrategias de eliminación recomendadas se incluyen entre otras medidas, el diagnóstico en un solo paso y la vinculación del diagnóstico al tratamiento, los programas de cribado poblacional etario, la búsqueda activa de pacientes diagnosticados no tratados y la microeliminación en poblaciones vulnerables. Estas estrategias de eliminación han sido objeto de estudio de la presente tesis y serán abordadas a continuación.

Objetivo principal

Establecer diferentes estrategias de eliminación del VHC que permita el diagnóstico en distintas situaciones y la vinculación de las personas diagnosticadas al tratamiento y seguimiento posterior.

Objetivos secundarios

- Disminuir la prevalencia de las complicaciones asociadas a la infección por VHC (cirrosis y hepatocarcinoma).
- Conocer la carga de la enfermedad por virus C en los distintos focos primarios de infección.

- Conseguir la adhesión de colectivos desfavorecidos a los servicios sanitarios, como los pacientes con trastorno mental grave
- Reforzar la colaboración entre atención primaria y atención hospitalaria en el abordaje de un problema de salud.

Para abordar estos objetivos hemos planteado, en los cinco capítulos que se exponen a continuación, nuestras aportaciones para el diagnóstico y vinculación de los pacientes a seguimiento (Capítulo 1), las estrategias para localizar a los pacientes ya diagnosticados pero que por cualquier causa se han perdido de seguimiento y no se han tratado (Capítulo 2), planteamos estrategias innovadoras para poder mejorar la capacidad diagnóstica a gran escala de los servicios de microbiología (Capítulo 3), y abordamos estrategias de eliminación en una población de especial vulnerabilidad, como es el trastorno mental grave (Capítulo 4). Finalmente, en el último capítulo abordamos un tema de total actualidad, la influencia que determinadas variantes de VHC pueden ejercer sobre la eliminación de la hepatitis C, especialmente en países en vías de desarrollo con difícil acceso a nuevos tratamientos.

Capítulo I

Derivación y Diagnóstico en un Solo Paso.

Cascada de Tratamiento.

1. Objetivo y Justificación

El primer paso para la eliminación de la hepatitis C, es el diagnóstico y la identificación de los pacientes infectados, para poder iniciar la cascada de cuidados.

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) no diagnosticada y/o el acceso inadecuado a la atención sanitaria son obstáculos para la eliminación del VHC. Se ha demostrado que las pruebas reflejas facilitan la derivación a la atención sanitaria, el tratamiento y la eliminación del virus.

Los pacientes que acuden a los centros sanitarios constituyen un objetivo accesible, si bien es cierto, que en Atención Primaria el número de pacientes que quedan por diagnosticar es cada vez menor, pero, para conseguir la microeliminación de la hepatitis C hacen falta estrategias de diagnóstico innovadoras y de adaptación local. En este estudio hemos iniciado una estrategia de alerta, comunicación de resultados y citación directa de los pacientes desde atención hospitalaria, con el fin de disminuir la pérdida de pacientes ya diagnosticados y vincularlos al tratamiento. De esta manera se acorta el número de visitas al especialista y se reduce el tiempo de espera, lo que repercute positivamente en la salud individual del paciente, y puede repercutir en la salud global.

2. Material y Métodos

Tras el documento consenso avalado por diferentes Sociedades Científicas (69), en las que se insta a la realización de Diagnóstico en un solo Paso (DUSP), en 2018 se comienza a realizar en nuestro centro. Así, ante la petición de serología VHC, se realiza la determinación de anticuerpos frente al VHC y ante un resultado positivo, se procede a la determinación de la viremia en la misma muestra.

Las técnicas comerciales empleadas han ido variando a lo largo del tiempo. El diagnóstico serológico de VHC, se realizó mediante el ensayo LIAISON® XL HCV Ab, inmunoensayo de quimioluminiscencia indirecta (CLIA) o bien con el ensayo Anti-HCV Reagent Kit (Alinity Abbot) que emplea tecnología de inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA), ambos permiten la detección cualitativa de anticuerpos frente al VHC y emplean polipéptidos del VHC capaces de reconocer anticuerpos dirigidos contra el VHC. Los polipéptidos corresponden a determinantes altamente antígenicos de las regiones estructurales y no estructurales del VHC.

Ambos ensayos emplean dos antígenos recombinantes (núcleo y NS4) específicos del VHC para el recubrimiento de partículas magnéticas (fase sólida), y un tercer antígeno del VHC listo para usar (NS3 biotinilado). Durante la primera incubación, el antígeno biotinilado es capturado por las partículas magnéticas recubiertas de estreptavidina, y los anticuerpos del VHC presentes en las muestras se unen a la fase sólida a través de los antígenos recombinantes del VHC. Durante la segunda incubación, un anticuerpo monoclonal de ratón frente a IgG humana, unido a un derivado del isoluminol (conjugado isoluminol-anticuerpo), reacciona con la IgG frente al VHC ya unida a la fase sólida. Después de cada incubación, el material no unido se elimina con un ciclo de lavado.

A continuación, se añaden los reactivos para que tenga lugar la reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por tanto la cantidad de conjugado isoluminol-anticuerpo, se mide mediante un fotomultiplicador como unidades

luminosas relativas (RLU) y es indicativa de la presencia de anticuerpos frente al VHC en las muestras(70).

Si el resultado de esta primera prueba resulta positivo, en esta misma muestra se realiza la detección del Ag Core del VHC o bien la carga viral.

La detección del Ag Core se realiza mediante el ensayo Architect HCV core Ag assay® es un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA) que utiliza micropartículas recubiertas con Ac VHC monoclonal para la detección de Ag VHC. Es un inmunoensayo de dos pasos, en un primer paso, la muestra es pretratada y se mezcla con el diluyente específico del ensayo y con las micropartículas recubiertas con anti-VHC. Tras este paso, se añade el conjugado Ac-VHC marcado con acridinio. Se produce una reacción quimioluminiscente que se mide como unidades luminosas relativas (RLU). Existe una relación directa entre la cantidad de Ag VHC en la muestra y las RLU detectadas por el sistema óptico ARCHITECT (71).

Para la detección de la Carga Viral de VHC, empleamos cobas® HCV que se realiza en el sistema cobas® 6800 System. Permite detectar y cuantificar el ARN del VHC. La cuantificación de VHC permite que se emplee no sólo el diagnóstico de la enfermedad, si no también para la respuesta viral al tratamiento antiviral.

Cobas® HCV utiliza sondas duales que permiten detectar y cuantificar los genotipos 1-6, pero no los discrimina. La carga viral se cuantifica frente a un estándar de cuantificación de ARN no VHC blindado (ARN-QS), que se introduce en cada muestra durante la preparación de la misma. El ARN-QS también funciona como control interno que garantiza el proceso de preparación de la muestra y el de amplificación por PCR. La prueba utiliza tres controles externos: un positivo de título alto, un positivo de título bajo y un control negativo.

En Cobas 68000 System tienen lugar los procesos de extracción de ácido nucleico, purificación, amplificación y detección por PCR.

La amplificación selectiva del ácido nucleico diana de la muestra del paciente se consigue mediante el uso de cebadores específicos del virus diana, que se seleccionan a partir de regiones altamente conservadas del VHC. Se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable tanto para la transcripción inversa como para la amplificación por PCR. Las secuencias diana y ARN-QS se amplifican simultáneamente utilizando un perfil de amplificación PCR universal con pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. La mezcla maestra incluye desoxiuridina trifosfato (dUTP), en lugar de desoxitimidina trifosfato (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado amplicon. La enzima AmpErase, que se incluye en la mezcla de PCR, elimina cualquier amplicon contaminante procedente de ciclos de PCR anteriores durante el primer paso del ciclo térmico. Sin embargo, los amplicones recién formados no se eliminan, ya que la enzima AmpErase se inactiva una vez expuesta a temperaturas superiores a 55°C.

La mezcla maestra cobas® HCV contiene dos sondas de detección específicas para las secuencias diana del VHC y una para el ARN-QS. Las sondas están marcadas con colorantes fluorescentes específicos de la diana, lo que permite la detección simultánea de la diana del VHC y del ARN-QS en dos canales diana diferentes. Cuando no está unida a la secuencia diana, la señal fluorescente de la sonda intacta se suprime mediante un colorante quencher. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de las sondas con el molde de ADN monocatenario específico provoca la escisión de la sonda por la actividad nucleasa 5'-3' de la ADN polimerasa, lo que da lugar a la separación de los colorantes y quencher y a la generación de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal aumenta concomitantemente. La detección y discriminación en tiempo real de los productos de la PCR se consigue midiendo la fluorescencia de los colorantes informadores liberados para las dianas virales y el ARN-QS (72).

La prueba del antígeno core es menos sensible que la del ARN del VHC (sólo es positiva cuando la carga viral es superior a 2000 UI/ml); sin embargo, diversos estudios han demostrado que presenta una sensibilidad adecuada para detectar la infección crónica y, probablemente, para confirmar la curación vírica tras el tratamiento (73) (74).

De hecho, las guías de EASL en su última actualización la incluyen como un método válido para emplear en el diagnóstico de la hepatitis C (75).

A partir de enero de 2019, se comienza a realizar citación directa de los pacientes diagnosticados de infección activa por VHC, desde los Servicios de Atención Especializada (Hepatología/Enfermedades Infecciosas) que previamente han sido avisados de manera telefónica y electrónica, por parte del Servicio de Microbiología. En estas consultas de Atención Hospitalizada se re-evalúa el paciente y se valora si son candidatos a recibir tratamiento.

En este capítulo hemos analizado la tasa de derivación, el tiempo desde el diagnóstico hasta la primera visita, el nº de pacientes que han iniciado tratamiento, y si han alcanzado respuesta viral sostenida. La figura 13 muestra la cascada de cuidados empleada en nuestro centro.

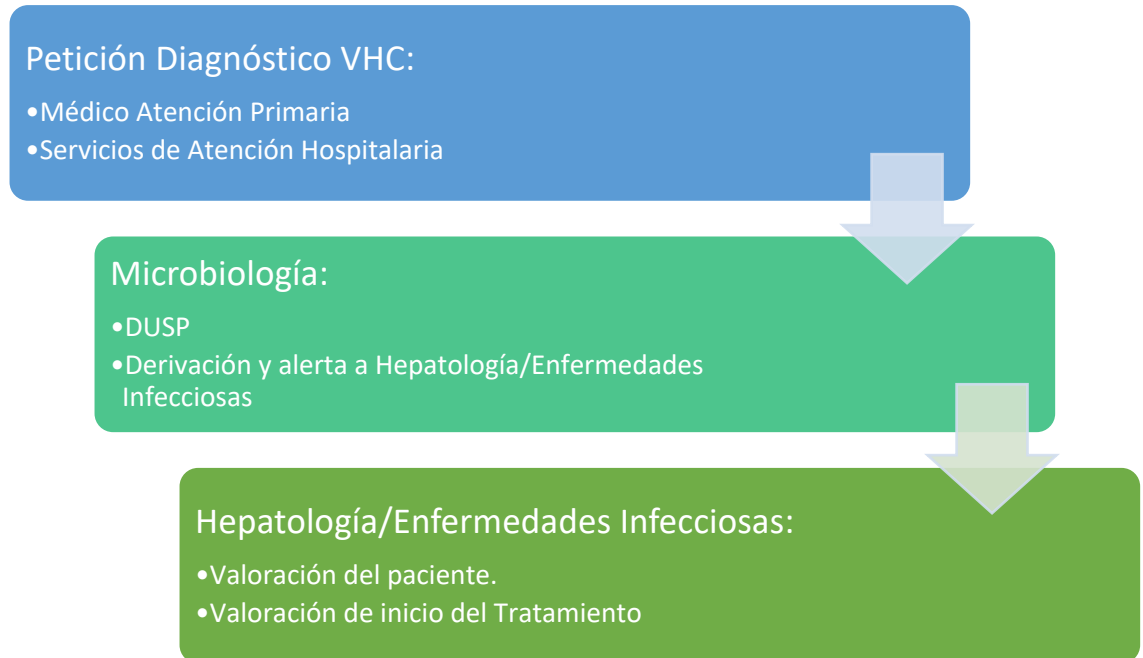


Fig. 13. Cascada Diagnóstico. Estrategia Diagnóstico en un solo paso y citación directa.

3. Resultados

Se analizaron las intervenciones operativas para mejorar las pruebas de detección de la hepatitis C, la vinculación a la atención sanitaria, la aceptación del tratamiento, el cumplimiento terapéutico y la respuesta viral sostenida, marcador indicativo de la curación del paciente.

En el periodo de estudio que comprende desde 2019 hasta 2023, se han diagnosticado en nuestro centro 338 pacientes con infección activa por VHC remitidos desde atención primaria y desde unidades de Atención Hospitalaria (como Urgencias, Hemodiálisis...). No se han incluido los pacientes diagnosticados directamente desde Hepatología y Enfermedades Infecciosas.

La mediana de edad de los pacientes fue de 56 años, el 65% eran hombres, las medianas de CV o Ag core fueron de 1290000 UI/ml y 3220,5 fmol respectivamente. Se realizó genotipo de VHC en 151 pacientes y la distribución por genotipos fue 25,1% 1a, 37,7% 1b, 5,3% 2, 19,8% 3, 3,3% 3a y 7,3% genotipo 4. El grado de fibrosis se obtuvo en 77 pacientes, siendo la distribución 32,4% F0-F1, 24,7% F2, 11,7% F3 y 31,2% F4. Estos resultados se muestran en la tabla 2.

Edad, años	56 [49-63]
Sexo (masculino), n (%)	220 (65)
Genotipo	1 (0,6)
	1a (25,1)
	1b (37,7)
	2 (5,3)
	3 (19,8)
	3a (3,3)
	4 (7,3)
	4a (0,6)
Tratamiento	Glecaprevir/Pibrentasvir 135 (59,5)
	Sofosbuvir/Velpatasvir 90 (39,6)
	Elbasvir/Grazoprevir 2 (0,9)
Grado de Fibrosis	F0-F1 (32,4)
	F2 (24,7)
	F3 (11,7)
	F4 (31,2)

Tabla 2. Características demográficas y virológicas de los pacientes diagnosticados VHC

Del total de pacientes diagnosticados, 291 (86,1%) fueron citados, y 257 (88,3%) acudieron a su cita. De estos, se inició tratamiento en 227 (88,3%). En los 30 pacientes en que no se inició tratamiento, las razones fueron las siguientes: 15 (50%) pacientes pluripatológicos con comorbilidades y de avanzada edad, 5 (16,7%) en espera de pruebas complementarias, 3 (10%) por interacciones farmacológicas con otros tratamientos del paciente y encontrarse clínicamente estable, 3 (10%) por consumo de alcohol, 2 (6,7%) deciden no recibir tratamiento, 1 exitus (3,3%) y 1 cambio de domicilio (3,3%). El tiempo desde el diagnóstico hasta la primera visita fue de 30 días [22-60] y el tiempo hasta el inicio de tratamiento fue de 37 días [27,5-67]. Los pacientes iniciaron

tratamiento con Glecaprevir/Pibrentasvir en el 59,5% de los casos. La tasa de curación solo estaba disponible en 147 de los pacientes tratados, siendo del 100%. Las figuras 14 y 15 resumen estos resultados.

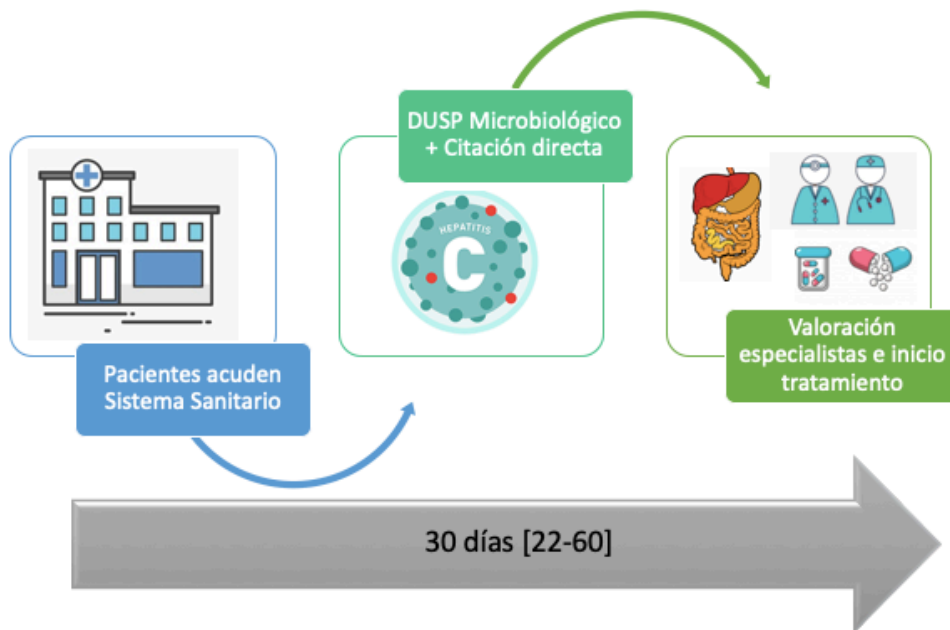


Fig. 14. Cascada y tiempo de diagnóstico.

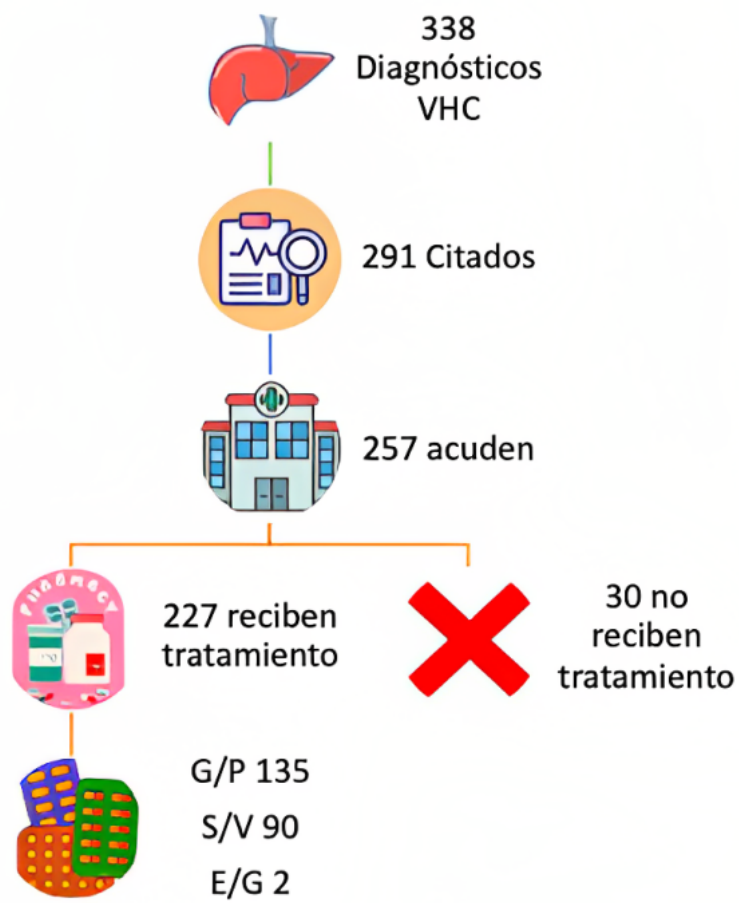


Fig. 15. Cascada de diagnóstico y tratamiento en pacientes VHC.

4. Discusión

En nuestro estudio, la estrategia de Diagnóstico en un solo paso (DUSP) junto con la citación de los pacientes directamente desde Atención Hospitalaria, ha resultado en una elevada tasa de inicio de tratamiento y en un menor tiempo de inicio de este. En respuesta a nuestros resultados, el circuito que comenzó como un estudio piloto prospectivo, ha sido incorporado definitivamente a la práctica clínica habitual del Servicio de Microbiología. Nuestra metodología se ha exportado a otros servicios de nuestro país.

El Diagnóstico en un solo paso permite la determinación definitiva de infección por VHC en una única muestra (anticuerpos y viremia, si fuera necesario) unido a una comunicación eficiente entre los servicios implicados (Microbiología y Hepatología/Enfermedades Infecciosas), lo que se traduce en un mayor acceso al tratamiento por parte del paciente diagnosticado, con un menor número de visitas al especialista y menor número de pruebas diagnósticas innecesarias. De esta manera se superan las barreras del diagnóstico tradicional que se venía realizando hasta 2018, en el que existía un retraso en el diagnóstico y una potencial pérdida de pacientes durante el seguimiento, y que se traducía en un mayor número de diagnósticos tardíos y un incremento de las complicaciones originadas por la infección crónica de VHC: cirrosis o hepatocarcinoma, repercutiendo en un incremento de la morbi-mortalidad.

Cómo en el nuestro, diversos estudios muestran que el aumento del número de visitas al médico antes de iniciar tratamiento repercute de manera directa en la pérdida de pacientes, los cuales se quedan sin tratar y constituye por tanto un problema que solventar (76–78). Las figuras 16 y 17 muestran el algoritmo diagnóstico y la cascada de diagnóstico mediante el esquema tradicional.

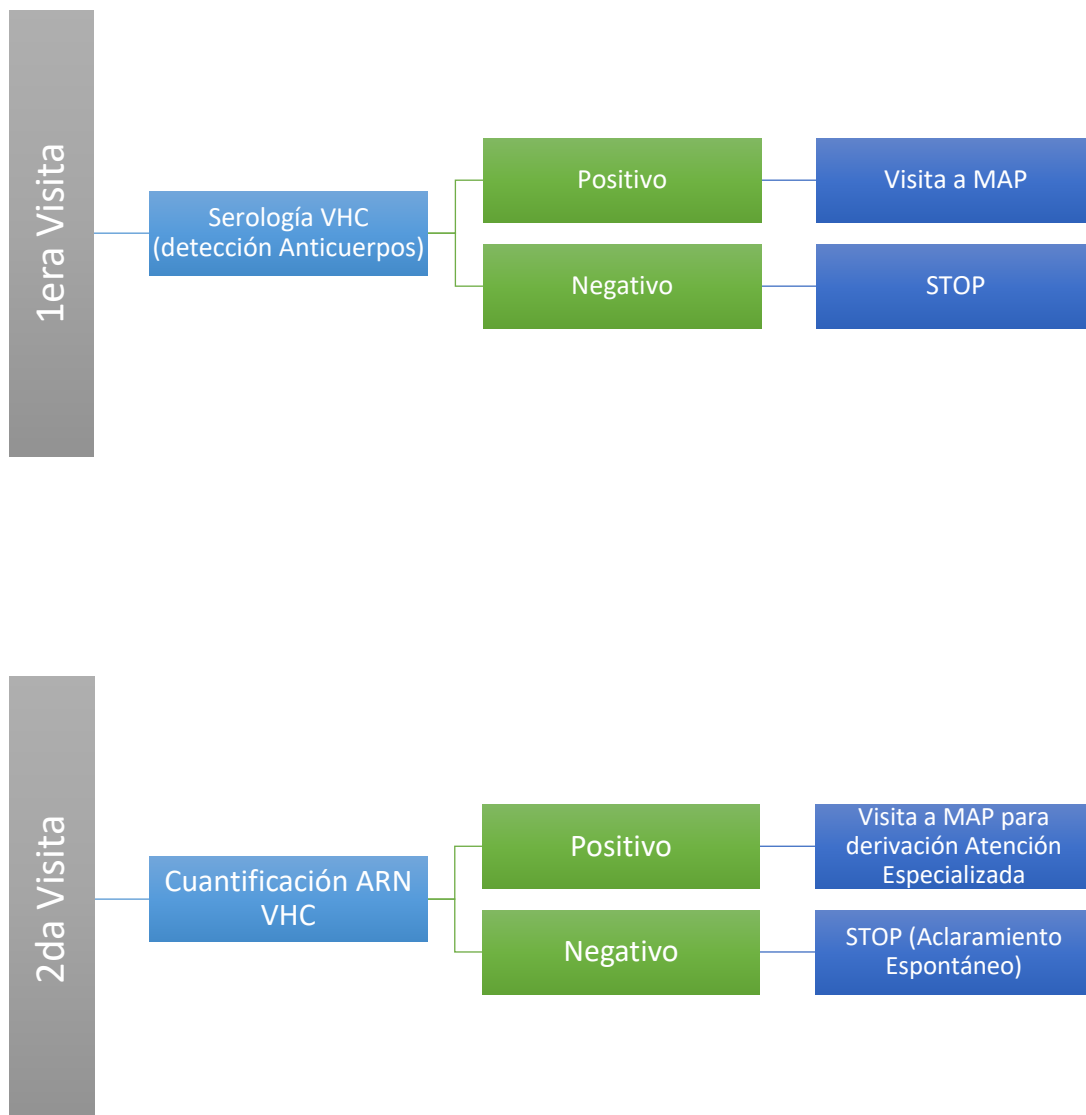


Fig. 16. Algoritmo Diagnóstico Tradicional.

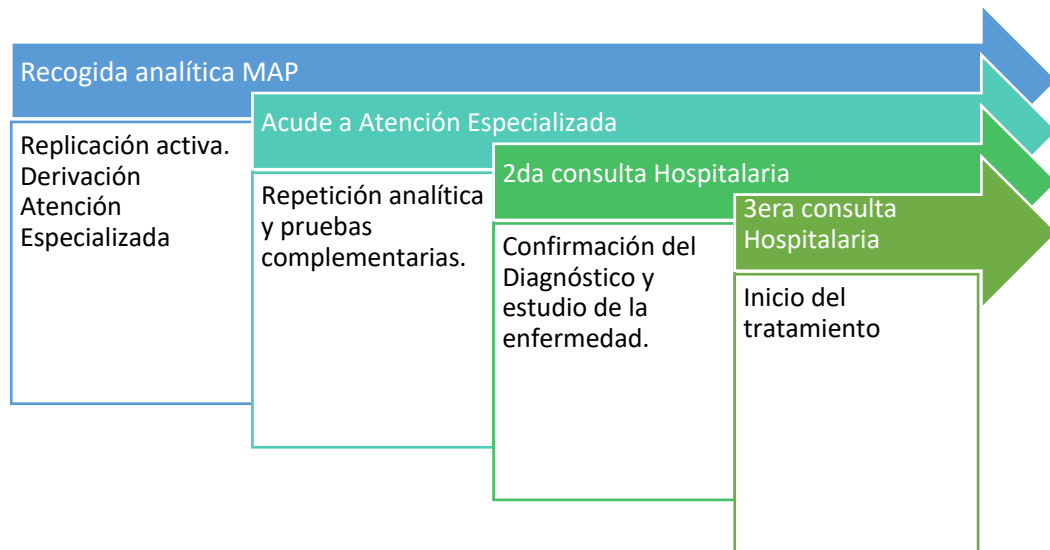


Fig. 17. Circuito asistencial del Diagnóstico VHC mediante Diagnóstico Tradicional.

En el trabajo de *Grebelly J. et al (79)* se propone la estrategia de realización del DUSP con el objetivo de simplificar al máximo el diagnóstico de hepatitis C y así mejorar el proceso asistencial, al reducir el número de visitas y pruebas innecesarias con el diagnóstico reflejo. Ya que con el diagnóstico tradicional son necesarias más visitas, si se omite o retrasa alguna de estas, es posible que no se alcance el diagnóstico definitivo. Además, los autores abogan también por la detección de VHC en el lugar de atención al paciente, realizando un diagnóstico descentralizado de tal manera que se asegura la continuidad asistencial del paciente durante el proceso diagnóstico.

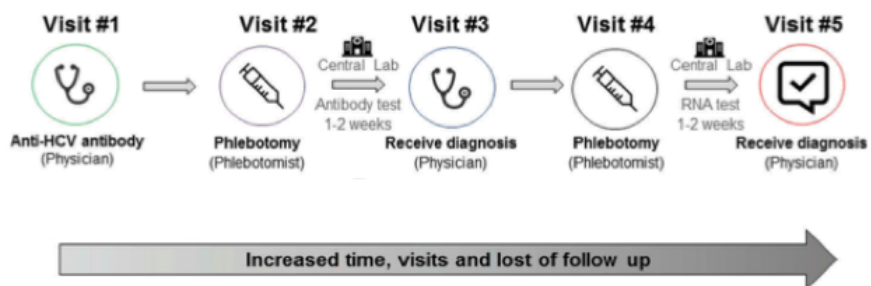


Fig. 18. Diagnóstico tradicional e incremento del tiempo.

Imagen adaptada de *Grebelly J et al.*

En nuestro estudio, demostramos que con la estrategia de citación directa y comunicación al servicio de Hepatología/Enfermedades Infecciosas se consigue reducir el tiempo de inicio de tratamiento y evitar pérdidas de pacientes durante el proceso de diagnóstico, consiguiendo de esta manera solventar la barrera de la discontinuidad asistencial una vez que el paciente ha sido diagnosticado (80).

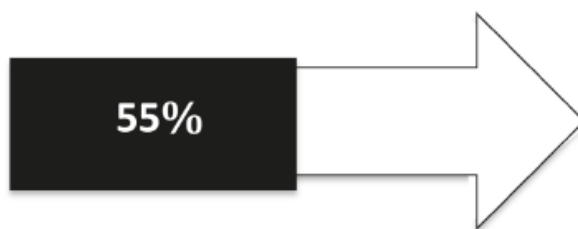
Casas et al. (81), en un estudio piloto muestran cómo al comparar el método tradicional con el DUSP, se consigue disminuir la pérdida de pacientes durante el proceso asistencial (71 pacientes vs 18 pacientes) y el tiempo de derivación a las consultas de Atención Especializada (83 días vs 69 días). Estos datos muestran que el DUSP constituye una alternativa al diagnóstico tradicional de la Hepatitis C, al evitar un menor número de pérdida de pacientes, menor tiempo hasta la visita a la consulta de Atención Hospitalaria, y también repercute positivamente en las consultas de Atención Primaria, puesto que disminuye la sobrecarga asistencial al tener un menor número de visitas innecesarias.

Hasta 2017 se venía realizando en los Hospitales del Sistema Nacional de Salud el diagnóstico tradicional. En este año, lideramos la realización de una encuesta a nivel nacional donde participaron un total de 90 Hospitales, observando que el 80% tenían capacidad para poder realizar DUSP, y que sólo el 31% lo realizaban (82) (83).

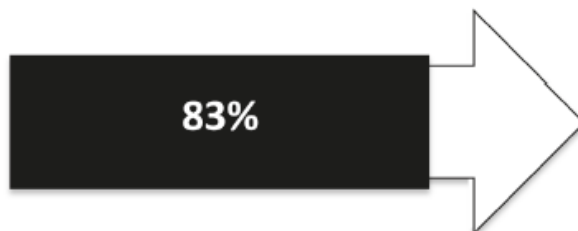
Es por ello que, a partir de esta encuesta, diferentes Sociedades Científicas como SEIMC, SEPD, AEEH Y AEHVE redactan diferentes documentos consensos y guías clínicas donde se posicionan al respecto, recomendando e instando a realizar el DUSP de la infección por VHC (69). Esto se ve como una oportunidad de mejora para alcanzar la eliminación de VHC y se comienza, inicialmente, aplicando la estrategia de DUSP. Además de la realización del diagnóstico de VHC en un solo paso, en nuestro centro, se añadió a los informes la siguiente alerta informativa: “La positividad del antígeno core o carga viral del VHC indica replicación activa. En la actualidad existen tratamientos para la hepatitis C con elevadas tasas de curación y erradicación y escasos efectos adversos. Aconsejamos que consideren derivar este paciente a Atención Hospitalizada, para que se valore si es subsidiario de tratamiento”.

En un nuevo estudio observacional retrospectivo y prospectivo, *Casas P et al.* (84), comparan el diagnóstico tradicional frente al diagnóstico en un solo paso y se evalúa la tasa de derivación al especialista. En la fase retrospectiva se identificaron los pacientes que habían sido diagnosticados de infección por el VHC en 2016 mediante el sistema diagnóstico tradicional, se recuperaron las historias clínicas electrónicas y los datos de los sistemas de información de los laboratorios y se calculó el número de pacientes que no fueron evaluados para tratamiento antiviral en el plazo de un año desde el diagnóstico inicial. En la fase prospectiva se instauró el diagnóstico reflejo, y se les realizó determinación de carga viral en la misma muestra a los que presentaron anticuerpos positivos frente al virus de la hepatitis C, y además en los informes emitidos se añadió la alerta en la que se aconsejaba derivación al especialista para valoración de tratamiento. Posteriormente, se calculó el número de pacientes que no fueron evaluados en la atención hospitalaria para el tratamiento antiviral. Este estudio pone de manifiesto que tras la estrategia de diagnóstico reflejo y las alertas en los informes emitidos por los Servicios de Microbiología resultaron en un incremento en el número de pacientes evaluados para tratamiento antiviral, pasando del 55% tras un año de seguimiento en la fase retrospectiva frente al 83% en la fase prospectiva. Además, también se redujo el tiempo en el que se evaluó a los pacientes, de una mediana de 70 días (IQR 35-128) con el método tradicional a una mediana de 52 días (IQR 28-86) con la estrategia del diagnóstico en un solo paso.

A. Retrospective phase: pre-reflex cohort



B. Prospective phase: post-reflex cohort



*Fig. 19. Incremento de la vinculación al Sistema Sanitario y adherencia al tratamiento.
Imagen adaptada de MP Casas et al.*

El DUSP junto con la alerta electrónica en los informes supone una mejora respecto al diagnóstico tradicional en cuanto al número de pacientes en seguimiento y en el menor tiempo de diagnóstico y derivación, pero aun así, esta medida puede mejorarse con el fin de alcanzar la eliminación de hepatitis C, puesto que tras un correcto diagnóstico es necesario que los pacientes acudan al especialista y se requiere de una mejor vinculación a dichos Servicios, para valoración de su patología digestiva. Es por ello que en nuestro trabajo, además de las estrategias anteriormente citadas, se decidió informar directamente a Hepatología/Enfermedades Infecciosas de los nuevos casos de VHC o de los casos que son conocidos, pero nunca han sido valorados por los especialistas y proporcionarles una cita directamente desde estos Servicios sin necesidad de que previamente sean derivados por su médico de Atención Primaria; de este modo, se consigue una mejora en la continuidad asistencial del paciente durante el abordaje de su infección.

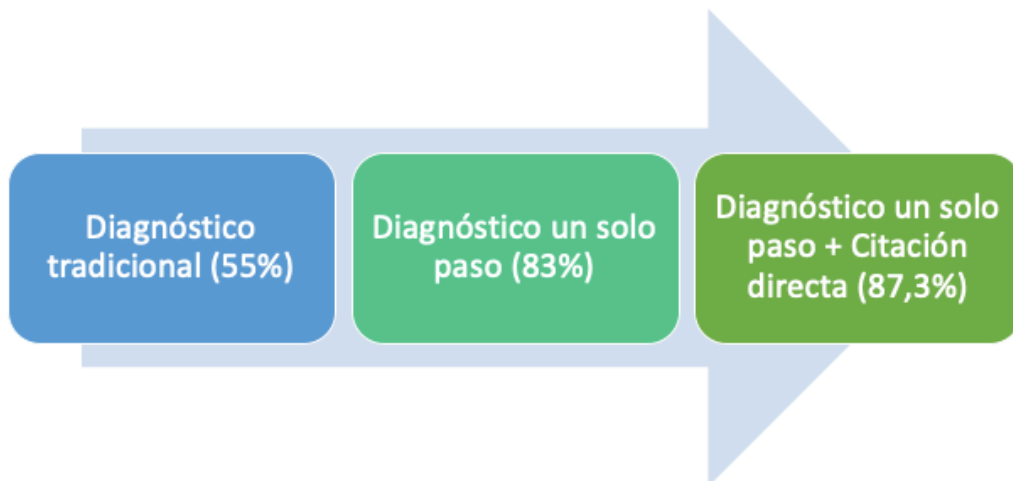


Fig. 20. DTRA vs DUSP vs DUSP+ Citación directa.

Además, se ha visto que estas medidas de DUSP frente al Diagnóstico Tradicional son coste-efectivas, tal y como se expone en el trabajo de *García F et al.* (85), en el que se confirma el ahorro económico que supone esta estrategia de prueba refleja: para los costes de la comunidad andaluza, supondría un ahorro de 184.928€ anuales, además de los beneficios de un diagnóstico temprano y la vinculación al sistema sanitario.

Capítulo II

Búsqueda de Pacientes perdidos en el Sistema: Re-Link

1. Objetivo y justificación

La ponencia de cribado de hepatitis C del Ministerio de Sanidad reconoce la búsqueda e identificación activa de pacientes VHC con diagnóstico incompleto de la infección; es decir, personas con anticuerpos VHC positivos en algún registro sanitario, sin confirmación de diagnóstico y de seguimiento y tratamiento con antivirales de acción directa (AAD); pacientes virémicos diagnosticados pero que no consta registro de curación o de inicio de tratamiento, y pacientes diagnosticados y con tratamiento, pero sin confirmación de respuesta viral sostenida. La búsqueda de estos pacientes en los registros electrónicos es una acción prioritaria a implementar en los servicios de salud de las comunidades autónomas. Esta acción, junto a las que se muestran en la figura 21, es fundamental para avanzar en la eliminación de la hepatitis C y es un obstáculo a solventar para alcanzar el objetivo de eliminación de hepatitis C fijado por la OMS.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia y limitaciones de la implementación de la estrategia de búsqueda de pacientes perdidos en el sistema e intentar la vinculación a este para seguimiento clínico y virológico de los pacientes.

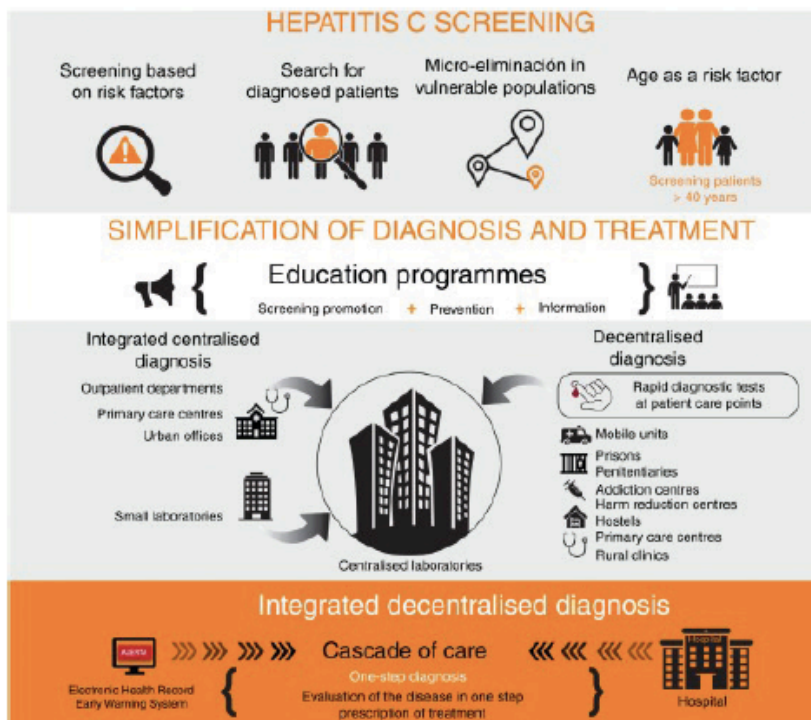


Fig. 21. Estrategias en la eliminación de VHC.

Imagen tomada de *Elimination of hepatitis C. Positioning document of the Spanish Association for the Study of the Liver.*

2. Material y métodos

Este trabajo se desarrolla en dos fases: en la fase I se ha interrogado la base de datos del Sistema informático del laboratorio (SIL) del servicio de microbiología para detectar los pacientes que sólo tienen determinación de anti- VHC positiva sin posterior determinación de ARN, y de aquellos pacientes cuya ultima determinación de ARN fue positiva y no consta que se les haya realizado seguimiento alguno. En ambas situaciones, se ha revisado la Historia Clínica del paciente y el programa de prescripción médica (PRISMA) para localizar a los pacientes que nunca se han tratado. En la fase II se informó a los especialistas del área de Hepatología de los pacientes encontrados con diagnóstico de hepatitis C incompleto, para que localizaran y citaran a dichos pacientes para ser evaluados por el profesional y completaran el estudio de infección por VHC. Los pasos de esta estrategia se muestran en la figura 22.



Fig. 22. Pasos para la recuperación de pacientes VHC.

3. Resultados

Se presentan los resultados de la Fase I. El periodo de búsqueda ha comprendido los años 2015 a 2021. El área de salud sobre el que se ha hecho el análisis comprende un total de 633.413 usuarios, habiéndose realizado el análisis sobre 125.926 usuarios. Sobre un total de 3452 pacientes anti VHC positivo se han localizado un total de 280 pacientes: en 176 sólo disponíamos de un resultado de anti VHC positiva, en 73 además se detectó ARN de VHC y no habían iniciado tratamiento, 28 fueron tratados, pero nunca se les había realizado analítica para conocer si habían alcanzado la curación (Respuesta Viral Sostenida), y en 3 no se había iniciado tratamiento por edad, comorbilidades y patologías de base. Respecto a las variables demográficas de estos pacientes, la mediana de edad fue de 56 años [50-68] y el 73,5% (n=206) fueron varones. Estos resultados se presentan en la figura 23.

Estos pacientes han sido notificados a los Servicios de Digestivo de los diferentes Hospitales de la provincia de Granada, para que sean citados y valorar el manejo terapéutico.

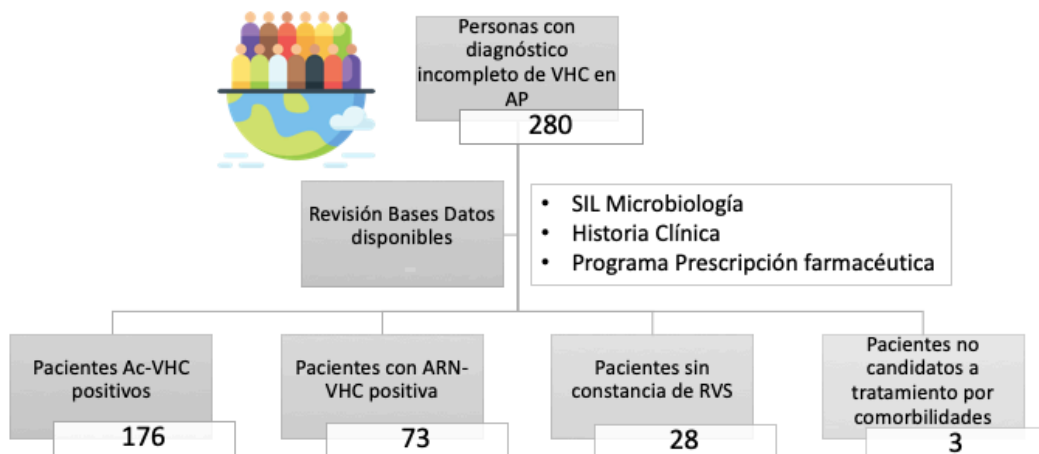


Fig. 23. Resultados de la fase I del estudio Re-link.

4. Discusión

Para conseguir la eliminación de Hepatitis C es necesario la implicación de diferentes estrategias y servicios, que se coordinen adecuadamente. La búsqueda de pacientes perdidos, de una manera periódica y sistematizada, es una herramienta fundamental para alcanzar y mantener los objetivos de eliminación de la OMS.

En este capítulo se presentan los resultados de la búsqueda proactiva de los pacientes con diagnóstico incompleto de VHC, como estrategia de eliminación (fase I), con el fin de que sean valorados por Hepatología/Infecciosos y considerar si son candidatos a recibir tratamiento para la infección por VHC (fase II). Diferentes sociedades científicas y sanitarias como la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH) en su documento de consenso *Elimination of hepatitis C. Positioning document of the Spanish Association for the Study of the Liver (AEEH)* de J. Crespo et al., y la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL) (*European Association for the Study of the Liver (EASL). Policy Statement on Hepatitis C Elimination*), avalan esta estrategia de eliminación de VHC como herramienta que contribuye al objetivo global. El éxito de la estrategia será mayor cuanto mayor sea el número de pacientes encontrados, diagnosticados y tratados (86)(87).

En nuestro trabajo se siguió la estrategia de búsqueda activa de pacientes identificándolos dentro de la estructura de Atención Primaria, ya que Atención Primaria suele ser la principal vía de entrada de estos pacientes al Sistema Sanitario y desempeña un papel clave en la identificación de pacientes con infección por VHC. La Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria en el documento *Consenso de recomendaciones para el diagnóstico precoz, la prevención y la atención clínica de la hepatitis C en Atención Primaria*, apuesta también por las diferentes estrategias de cribado para la búsqueda activa de pacientes no estudiados y perdidos en el Sistema (88).

Existen diversos estudios, como el de *Andaluz I. et al.*, (89) que ponen de manifiesto que la búsqueda de pacientes perdidos es una estrategia rentable debido al número de pacientes con diagnóstico inacabado y que resulta relativamente sencillo mediante el acceso a las diferentes bases de datos disponibles en los que se puede encontrar dicha información, como la Historia Clínica electrónica del paciente o programas de prescripción farmacéutica, herramientas empleadas en el día a día. Además, desde el punto de vista ético es legal contactar con estos pacientes tanto desde el punto de vista de beneficio individual como desde el de Salud Pública.

Es necesario buscar y recuperar estos pacientes perdidos e identificar los factores predictivos de pérdida del seguimiento (90) y aplicar medidas que permitan vincular estos pacientes al sistema sanitario (91) (92). El seguimiento de estas recomendaciones permitirá la identificación y el tratamiento posterior de los casos perdidos, con el consiguiente beneficio de evitar el desarrollo de complicaciones que conlleva esta infección sin tratamiento y además contribuir al fin de la eliminación del VHC (93).

A pesar de que el acceso a las diferentes bases de datos clínicas que contienen información del paciente, es relativamente sencillo, es un proceso manual y tedioso, que, con la inminente llegada de las herramientas de Inteligencia Artificial al campo de la Salud, posiblemente este hecho se vea facilitado, el trabajo *Hepatitis C: un ejemplo de planificación estratégica desde un área sanitaria* de *G. Sánchez et al.*, presentado en el XXI Congreso Nacional de Hospitales y Gestión Sanitaria, muestran la utilización de sistemas basados en inteligencia artificial capaz de identificar en las historias clínicas la posible infección por VHC y evitar así la pérdida de pacientes con anticuerpos VHC o viremia positiva, el principal inconveniente al que se enfrenta esta herramienta, es que la Historia Clínica es escrita por profesionales sanitarios y cada uno se expresa de manera diferente, por lo que dificulta la homogeneidad de los datos recabados y el análisis posterior de estos.

La principal limitación del trabajo realizado en este capítulo es que la fase II del estudio sigue en proceso, por lo que aún no conocemos los datos de vinculación de los pacientes, así como si son subsidiarios o no a recibir tratamiento y si lo fuesen cuantos han recibido o iniciado terapia antiviral y si han alcanzado RVS. Asimismo, hacen falta más medidas para mejorar la adherencia al seguimiento una vez diagnosticados, con vistas a evitar el mayor número de pérdidas de casos durante el proceso de tratamiento y confirmación de RVS.

Capítulo III

Estrategia de agrupación de muestras (Pooling)

1. Objetivo y Justificación

El diagnóstico de la infección activa por el virus de la hepatitis C, es el primer paso necesario para su eliminación. En la mayoría de los países, el cribado universal de la población y/o el cribado por grupos de edad no se han adoptado debido a consideraciones de coste y rentabilidad.

Las estrategias de diagnóstico por agrupación de muestras pueden contribuir a superar este reto y ayudar a aumentar la capacidad de diagnóstico de los laboratorios clínicos y ampliar el acceso al cribado masivo de la hepatitis C. Estas herramientas deben tener la suficiente sensibilidad para no perder ningún positivo entre las muestras agrupadas.

2. Material y Métodos

En primer lugar, para evaluar la sensibilidad de la estrategia de agrupación de muestras se utilizaron dos ensayos comerciales diferentes (CAP CTM HCV v2.0 y el sistema COBAS 6800, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), que determinan la concentración de ARN-VHC en plasma/suero. Se seleccionó retrospectivamente una muestra con una carga viral conocida entre 10^5 y 10^6 , y se analizaron diluciones seriadas de base 10 (de 10^1 a 10^6), para determinar su sensibilidad mediante la capacidad de detectar una muestra positiva de VHC en un número diferente de muestras agrupadas (entre 10 y 1000000 de muestras) (94). Para validar esta estrategia en otras 5 plataformas de diagnóstico (TaqMan HCV 2.0 -Roche Diagnostics-, HCV VL Alinity Real Time HCV Assay -Abbott Diagnostics-, Aptima HCV Quant -Hologic-, Versant HCV kPCR Assay -Siemens-, se envió este protocolo a los siguientes centros colaboradores: Complejo Hospitalario Arquitecto Marcide-Profesor Novoa Santos, Ferrol; Hospital General de Móstoles; Laboratorio Central de la Comunidad de Madrid (URSALUD); Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

En segundo lugar, se realizó un estudio de validación, en el que todas las muestras con solicitud de diagnóstico de VHC recibidas en el Hospital Universitario Clínico San Cecilio, y Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, durante un periodo de tres semanas, se analizaron siguiendo el algoritmo de análisis estándar (DUSP) y, en paralelo, se realizaron agrupaciones de 100 muestras con la siguiente estrategia: en primer lugar, se construyeron 10 pools de 10 muestras (Paso 1); en segundo lugar, se hicieron dos pools que incluían cinco de las anteriores (Paso 2); finalmente, estos dos se agruparon y se analizaron para detectar el ARN del VHC utilizando Cobas® HCV 6800 (Roche Diagnostics) en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y tanto Xpert HCV Viral load (Cepheid) como Cobas® HCV 6800 en el Hospital Universitario Clínico San Cecilio (Paso 3). Como se muestra en la Figura 24.

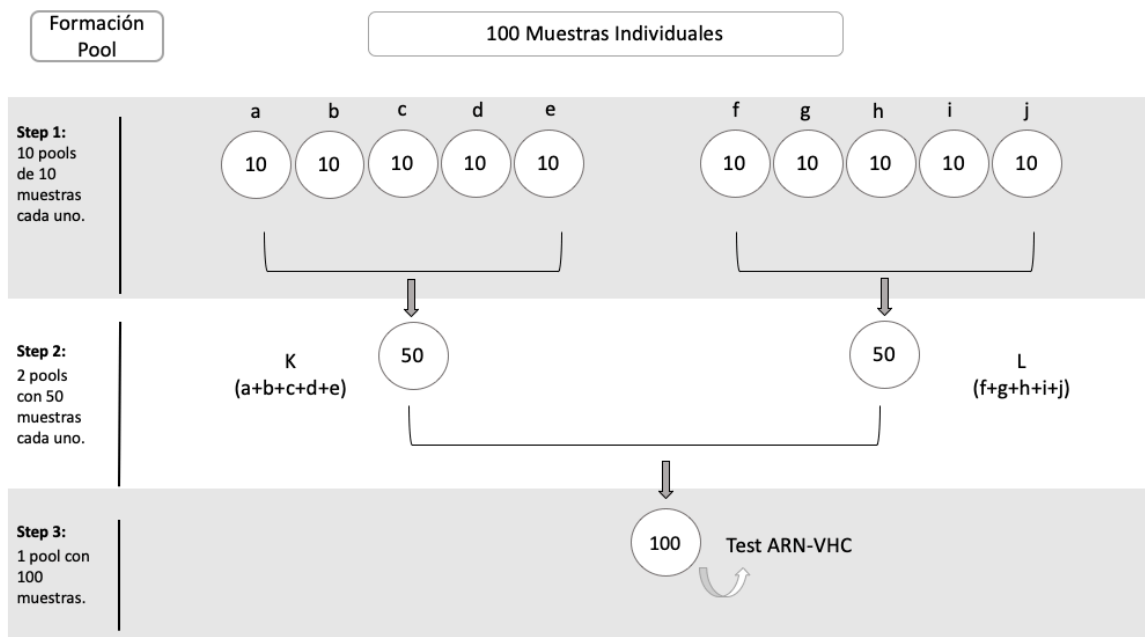


Fig. 24. Formación del Pool.

Cuando se obtenía un resultado positivo, se utilizaba una estrategia para desenmascarar la muestra o muestras positivas, que necesitaba hasta 15 pruebas totales de ARN-VHC por pool positivo. Se analizaban los dos pools anteriores (Paso 2); después se analizaban los 5 pools del Paso 1 y para desenmascarar el pool que contenía la muestra positiva, se crean dos pools adicionales que contiene cada uno cinco muestras, y finalmente se analiza de manera individual cada una de esas 5 muestras (figura 25).

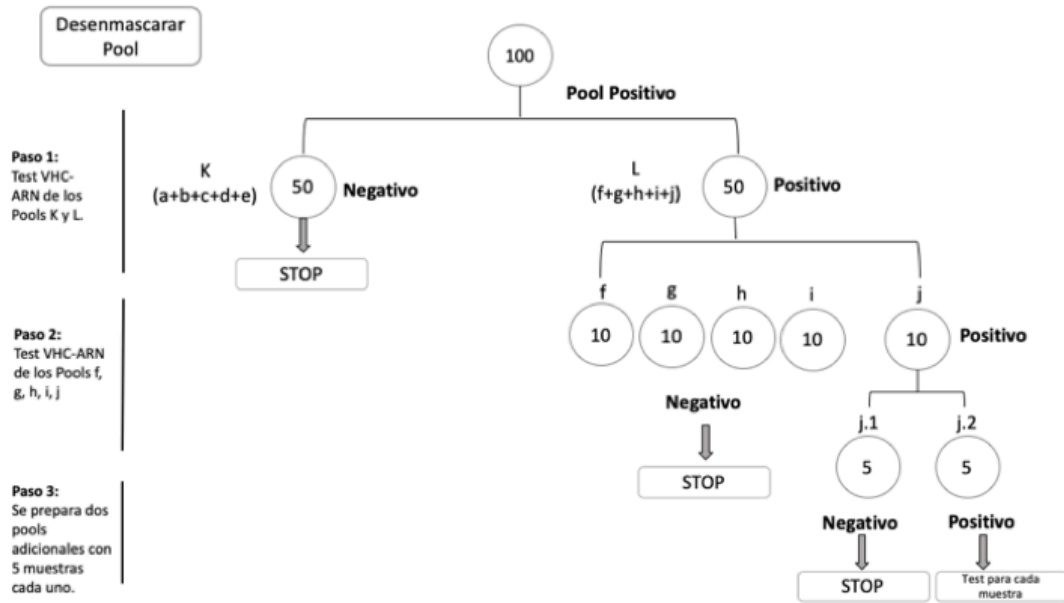


Fig. 25. Técnica desenmascarar pool.

3. Resultados

En relación al estudio para conocer la sensibilidad de la estrategia de pooling, y así conocer el tamaño de pool plausible, las pruebas/plataformas analizadas fueron capaces de identificar una muestra positiva cuando se agruparon hasta 10 000 muestras (94). Los resultados pormenorizados en función de la plataforma utilizada se muestran en la tabla 3.

Tamaño de Pool	Ensayo Comercial						
	TaqMan HCV 2.0 (Roche Diagnostic)	Cobas HCV 6800 (Roche Diagnostic)	HCV VL Alinity m (Abbott Diagnostic)	Real Time HCV Assay (Abbott Diagnostic)	Aptima HCV Quant (Hologic)	Versant HCV kPCR Assay (Siemens)	Cepheid GenXpert
	UI/mL	UI/mL	UI/mL	UI/mL	UI/mL	UI/mL	UI/mL
1:1	610311	115000	775000	173260	1445558	528120	329000
1:10	51839	14700	83214	18154	67704	70440	37500
1:100	4642	1730	7081	1902	10672	10690	3910
1:1000	604	229	965	228	844	1720	410
1:10000	94	43	235	36	50	509	17
1:100000	<15	<15	49	<12	<10	122	<15
1:1000000	ND	ND	16	ND	ND	107	ND

UI/mL: Unidad Internacional/mililitro; ND: No Detectable

Tabla 3. Ensayos comerciales para detección ARN-VHC y límites de detección.

Una vez estimada la sensibilidad de la estrategia de pooling, se realizó un estudio donde se analizaron un total de 1700 muestras remitidas a los laboratorios de Microbiología Clínica de los hospitales Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y Hospital Universitario Clínico San Cecilio de Granada, las cuales tenían una petición de serología VHC.

Los resultados obtenidos a nivel de agrupación de muestras resultaron en un total de 4 pools positivos. A nivel individual, resultó también 4 muestras positivas, es decir, en cada uno de los pools positivos hubo una única muestra positiva. La prevalencia global de pacientes virémicos fue de 0,24% (4/1700). La carga viral para cada una de estas muestras positivas fue: $2,75 \times 10^5$; $2,67 \times 10^6$; $7,94 \times 10^6$; and $2,4 \times 10^6$ IU/ml.

Para desenmascarar un pool positivo se necesita un total de 15 determinaciones, por lo que, en esta situación, se necesitó un total de 60 determinaciones ARN-VHC (15 determinaciones x 4 pools positivos, figura 26).

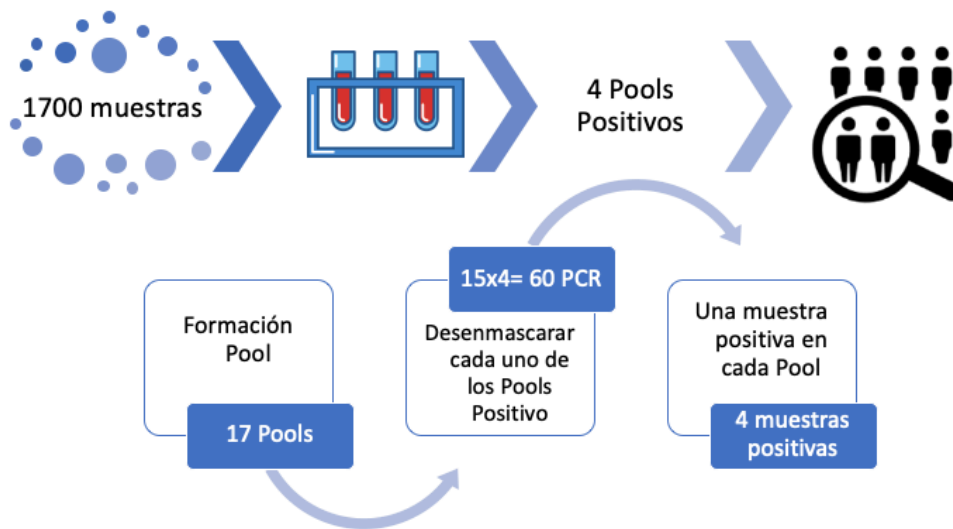


Fig. 26. Resultados de la Estrategia de agrupación de muestras.

Teniendo en cuenta los precios medios actuales del mercado en España para el anti-VHC (3€) y el ARN-VHC (30€), el análisis de las muestras mediante la estrategia de pooling habría supuesto un ahorro de 3420 € en reactivos (5220 € mediante el análisis tradicional -1700 pruebas de anti-VHC más 4 pruebas de ARN-VHC- frente a 1800 € -60 pruebas de ARN-VHC- mediante la estrategia de pooling). El ahorro total, teniendo en cuenta los costes de personal (15 euros/1 hora de técnico de laboratorio) habría sido de 3320 euros (85 euros para la preparación de muestras y 15 euros para el desenmascaramiento).

4. Discusión

La estrategia de pooling de muestras para el diagnóstico de la infección activa por VHC tiene grandes ventajas que pueden y deben ser aprovechadas con el objetivo de eliminar el VHC como amenaza para la salud pública. En este estudio, se demuestra que, al mejorar sustancialmente la rentabilidad, esta estrategia permite y proporciona la sostenibilidad necesaria para su uso en el diagnóstico a gran escala del VHC.

Para alcanzar los objetivos de eliminación de la hepatitis C de la OMS, se necesitan estrategias innovadoras e imaginativas que permitan realizar pruebas masivas a la población. Aquí se ha comprobado que una estrategia de agrupación de 100 muestras para pruebas directas de ARN-VHC, presenta la sensibilidad adecuada para ser utilizada por las plataformas de pruebas de ARN-VHC más comúnmente disponibles en el mercado, tiene una especificidad adecuada para ser utilizada en un entorno real, y por último podría ser una alternativa rentable como estrategia de cribado masivo especialmente en los entornos de baja prevalencia de infección activa por VHC. Proponemos esta estrategia de una única agrupación frente al diagnóstico convencional con el objetivo de proporcionar una herramienta que permita la reducción de costes y procesos, manteniendo la misma eficiencia diagnóstica.

Las estrategias de agrupación de muestras (95) han demostrado su utilidad en el diagnóstico de enfermedades infecciosas (96–99), pudiendo identificar correctamente a todos los individuos infectados con un número significativamente menor de pruebas diagnósticas (100)(101). En este estudio se ha elegido 100 muestras para agrupar, ya que la sensibilidad mostrada en todos los ensayos evaluados permite detectar una única muestra positiva en el rango de 2000 UI/mL. Se ha estimado que los pacientes naïve sin tratamiento con cargas virales de VHC por debajo de este umbral son inferiores al 3% (102). Esta estrategia también permitirá detectar casos de reinfecciones, frecuentes en la población de usuarios de drogas intravenosas, en la que la infección puede producirse con cargas virales inferiores (10^3 - 10^4 UI/ml) (103).

En la vida real, la estrategia de pooling tuvo una sensibilidad y especificidad del 100% para la detección de los 4 casos de infección crónica activa de las 1700 solicitudes de diagnóstico de VHC. Como era de esperar, la carga viral de los 4 pacientes positivos era elevada, muy por encima del límite de detección de 2000 UI/ml de nuestra estrategia de agrupación. Para la prevalencia de infección crónica activa observada en este estudio, que representa en gran medida la prevalencia real en España (23), la agrupación de muestras puede suponer un importante ahorro de costes que puede hacer del cribado masivo un enfoque rentable para las estrategias de eliminación de la hepatitis C. Sin embargo, antes de implementar una estrategia de pooling para la eliminación de la hepatitis C, es obligatorio determinar el tamaño del pool que permita que siga siendo coste-efectivo, especialmente en entornos donde la prevalencia de infección activa puede ser diferente a la de este trabajo; en este sentido, existen aplicaciones que permiten calcularlo (104)(105).

La principal limitación de este trabajo es que la técnica de agrupación de muestras y el informe de resultados se realizó de forma manual, y no se evaluaron estrategias de automatización que son necesarias para el cribado masivo. Además, el que todas las muestras positivas estaban en rangos de alta positividad, faltando pacientes con cargas virales bajas; el que se analizaron muestras que se recibieron para diagnóstico, donde la prevalencia de hepatitis crónica activa puede diferir de otras cohortes; y, que las estimaciones de ahorro de costes se establecen para los costes actualmente disponibles en España, y pueden diferir de las de otros países, constituyen también limitaciones importantes. A pesar de estas limitaciones, la estrategia de agrupación de muestras para el diagnóstico de la infección activa por VHC presenta ventajas que pueden aprovecharse para su uso en el cribado poblacional del VHC.

Además, al mejorar la relación coste-eficacia, esta estrategia puede servir como herramienta adecuada para su uso en el cribado a gran escala del VHC, por lo que también podría ser una alternativa de diagnóstico especialmente en los países de renta baja/media y constituir una opción para alcanzar la eliminación de hepatitis C en estos

escenarios, donde en ocasiones las pruebas diagnósticas y el acceso a las plataformas constituyen una barrera más difícil de superar que incluso el acceso al tratamiento antiviral. La estrategia de pooling, además permite ampliar la capacidad diagnóstica de los laboratorios y con ello garantizar un acceso a las pruebas de VHC a una mayor población.

Capítulo IV

***Eliminación VHC en Pacientes con Trastorno
Mental Graves***

1. Objetivo y Justificación

La prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es mayor en las personas con trastornos psiquiátricos que en la población general (106). Además, los pacientes con enfermedades mentales graves consumen con frecuencia, sustancias de abuso, lo que aumenta el riesgo de infecciones virales transmitidas por la sangre. Este hecho es lo suficientemente significativo como para plantearse la importancia del adecuado cribado de este virus, teniendo en cuenta, además, las diversas barreras que los pacientes con patología psiquiátrica tienen para el correcto diagnóstico y tratamiento de la hepatitis C.

El objetivo desarrollado en este capítulo fue analizar la prevalencia de la infección por el VHC en pacientes hospitalizados con trastornos mental grave (TMG). Este estudio evaluó las tasas de seroprevalencia, de infección activa por VHC y la cascada de tratamiento, entre personas ingresadas con Trastorno Mental Grave (TMG) en el área de agudos de hospitalización de Salud Mental del Hospital Universitario Clínico San Cecilio.

Se estableció un circuito de práctica clínica habitual, facilitando la derivación de pacientes TMG con infección activa por VHC al especialista en Enfermedades Infecciosas/Digestivo para valoración de tratamiento, que permitió analizar la prevalencia de hepatitis C y el número de casos nuevos diagnosticados, tratados y curados en los pacientes con TMG.

2. Material y Métodos

Para establecer el diagnóstico de hepatitis C en todos los ingresos de la unidad de agudos del Hospital Universitario Clínico San Cecilio, se realizaron sesiones formativas conjuntas con los especialistas en Psiquiatría, Enfermedades Infecciosas, Digestivo y Microbiología. Dichas sesiones fueron dirigidas a incrementar el conocimiento de los especialistas en psiquiatría sobre el diagnóstico y tratamiento de la hepatitis C, haciendo especial hincapié en la importancia del diagnóstico en un solo paso, la ausencia de efectos adversos de los nuevos tratamientos, y en las potenciales interacciones de los antivirales de acción directa con los fármacos que se utilizan en salud mental.

En la analítica de ingreso de estos pacientes, la bioquímica general (que consta de los siguientes parámetros analíticos: glucosa, albumina, proteínas totales, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, lactato deshidrogenasa, gamma glutamiltransferasa, alanina transaminasa, creatina quinasa, fosfatasa alcalina, sodio, potasio, cloro, calcio, hierro) se añadió el inmunodiagnóstico infeccioso de: *Treponema pallidum*, VIH, VHB y VHC.

En Microbiología se implementaron reglas de rechazo para aquellos pacientes que ya habían sido cribados y presentaban un resultado positivo para Ac VHC. Se realizó diagnóstico en un solo paso, es decir, determinación de Ac VHC y realización de detección de viremia en los casos positivos, en la misma muestra; finalmente se utilizaron los mecanismos habituales de interconsulta con los especialistas para evaluación e inicio de tratamiento en los pacientes en los que se evidenciaba replicación activa.

La metodología se resume en la figura 27.

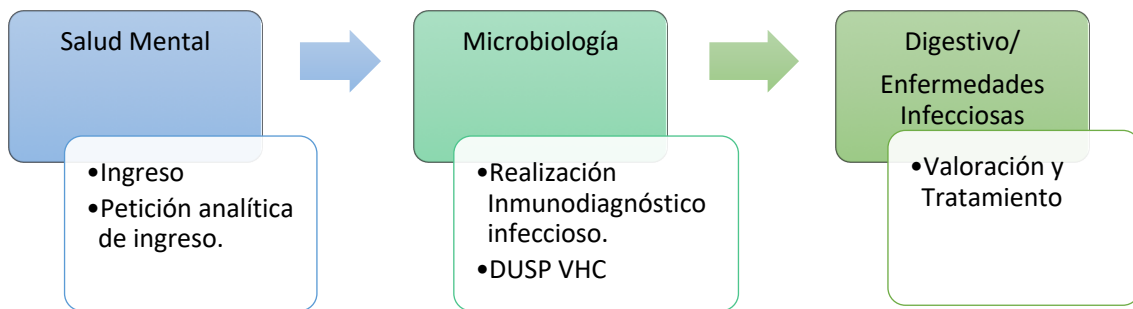


Fig. 27. Circuito asistencial unidad de agudos de Salud Mental.

3. Resultados

Se analizaron los datos obtenidos durante un periodo de 3 años, desde enero de 2020 hasta enero de 2023. En este tiempo tuvieron lugar un total de 1270 ingresos en la unidad de agudos del área de Salud Mental del Hospital Universitario Clínico San Cecilio; desglosado por años fue: 356 en 2020, 445 en 2021 y 469 en 2022.

La distribución por sexos en estos años fue muy similar, 663 hombres y 607 mujeres (52,2% y 47,8% respectivamente). La mediana de edad fue 43 años (IQR; 31-55). Estos datos se muestran en la tabla 4

<i>Edad, años</i>	43 [31-55]
<i>Sexo, n (%)</i>	Masculino, 663 (52,2)
	Femenino, 607 (47,8)
<i>Coinfección VIH</i>	4 (15,4)

Tabla 4. Características demográficas de los pacientes ingresados en Salud Mental.

La seroprevalencia encontrada fue del 2,52% (32 pacientes con Ac VHC positivos), y de estos, 7 presentaban infección activa (21,8% de los positivos, y 0,55% del total de pacientes estudiados). Del total de ingresos, no se les realizó serología de VHC a 94 ingresos (7,4%) porque el médico peticionario no lo solicitó. De estos, a 72 pacientes (76,6%) en algún momento de su vida se le realizó un cribado para la hepatitis C.

Hubo un total de 7 ingresos en los que se rechazó la solicitud de Ac VHC por parte del Servicio de Microbiología, por ser positivos previos y se les realizó directamente detección de viremia: 6 mostraron respuesta viral sostenido (RSV) y uno presentaba replicación activa. Estos resultados se representan en la figura 28.

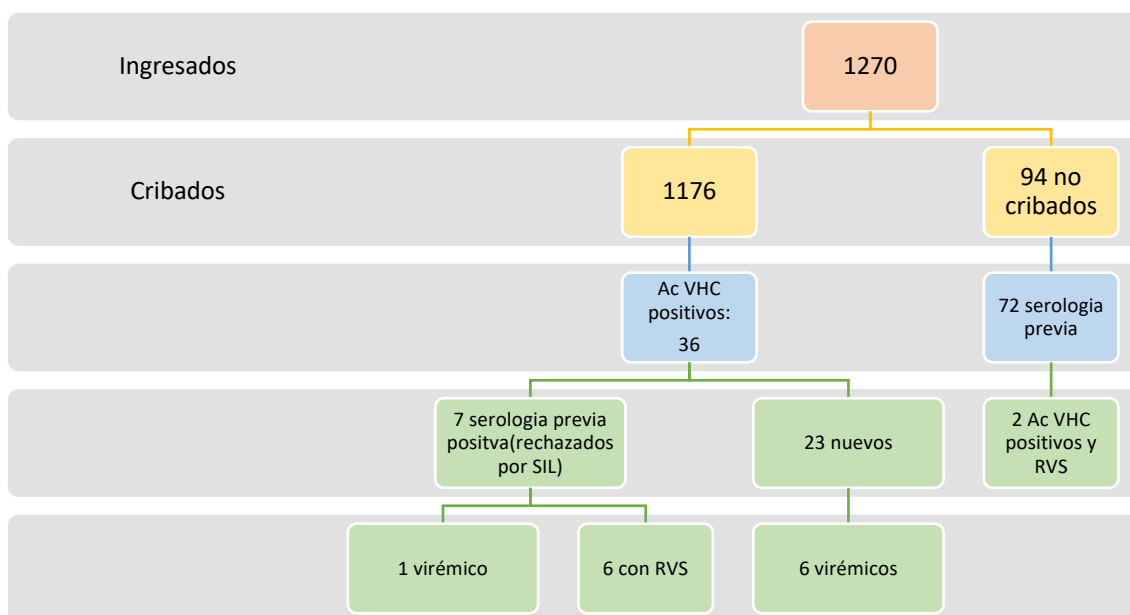


Fig. 28. Cascada de diagnóstico en Salud Mental.

De los 7 pacientes virémicos, 3 fueron tratados por la Unidad de Hepatología, y recibieron Glecaprevir/Pibrentasvir durante 8 semanas. Tres pacientes no acudieron a cita, y 1 paciente decidió tratarse, pero no quería acudir a al Hospital para ser valorado por Hepatología y recoger el tratamiento, por lo que se está valorando su tratamiento domiciliario a través de Salud Mental (figura 29)

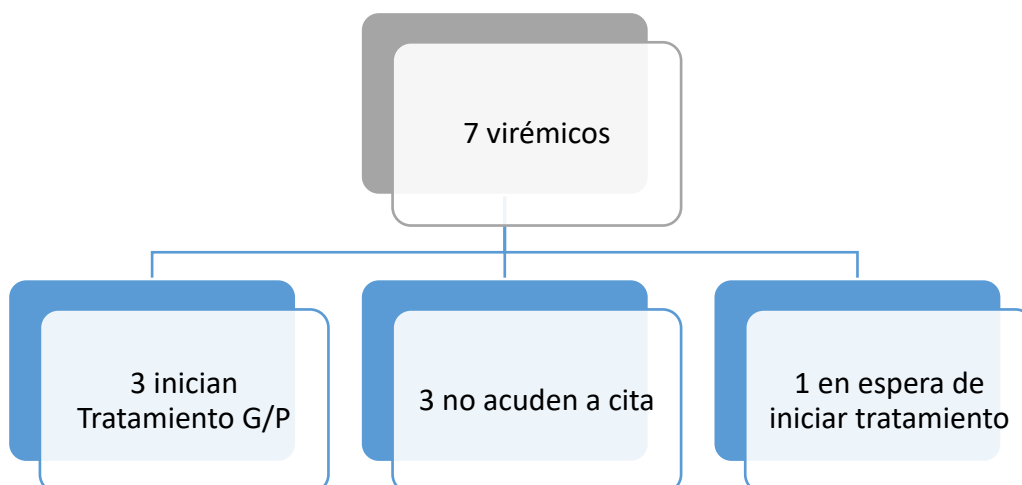


Fig. 29. Cascada de tratamiento en TMG.

4. Discusión

Para conseguir la eliminación de hepatitis C y alcanzar el objetivo propuesto por la Organización Mundial de la Salud, una de las estrategias a seguir es la microeliminación, que consiste en la eliminación de hepatitis C en poblaciones vulnerables. Se consideran vulnerables los pacientes atendidos en Centros de Adicciones (usuarios de drogas vía parenteral), los atendidos en centros de ITS, los que acuden a una unidad de Salud Mental, las personas migrantes procedentes de zonas de alta prevalencia, las personas de centros penitenciarios, las personas sin hogar y las que ejercen la prostitución. Este nuevo enfoque de microeliminación, pretende evitar el agotamiento del diagnóstico (burn out), detectando y tratando estas poblaciones, que por sus características psicosociales pueden ser más propensos a infección por VHC, por lo que hay que prestar especial atención a conseguir la microeliminación en estas poblaciones con una mayor prevalencia (107).

Un escenario de especial atención para la microeliminación de la hepatitis C son los grupos considerados como “focos primarios” para adquirir y transmitir la infección por VHC. Los pacientes con Trastorno Mental Grave constituyen uno de estos focos; la definición de TMG abarca diferentes diagnósticos (esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno de personalidad, depresión mayor, entre otros) y que como consecuencia de esta enfermedad padecen discapacidades persistentes en el tiempo, por lo que resulta vital una adecuada intervención psiquiátrica y psicológica (108).

Estos pacientes son más tendentes a establecer relaciones sexuales de riesgo (tener múltiples parejas sexuales, parejas de alto riesgo y uso de sustancias psicoactivas durante estas relaciones sexuales) y hay una importante comorbilidad con consumo de sustancias. De hecho, existe sólida evidencia de un mayor riesgo de infección por VHC con una odds ratio incrementada en comparación con la población general. Se estima que la prevalencia de infección por VHC es del 6,7%-8,5% en la población con trastornos psiquiátricos, frente al 0,85% en la población general. La guía nacional de cribado, en su última actualización reconoce a la población atendida en salud mental como un grupo en el que priorizar el diagnóstico de la hepatitis C (31).

Así el estudio observacional sobre la prevalencia de infección por el virus de la hepatitis C (VHC) en la población hospitalizada con trastornos psiquiátricos crónicos graves y patología dual (PD) de *Roncero et al.* muestra una prevalencia global de infección por VHC en este tipo de pacientes del 3.8% y 14.3% respectivamente, muy superior a la que nos encontramos en la población general española (106). Otros estudios, como el publicado por *Elizabeth Hughes et cols.*, también apuntan datos en esta misma línea: estudian las prevalencias de infección por VIH, VHB y VHC en pacientes con enfermedades mentales graves y tratadas en un entorno psiquiátrico se estima que la prevalencia de infección es del 8% al 30% entre los pacientes con TMG (109). Es cierto que este dato podría estar sobreestimado, ya que solo se ha calculado la prevalencia de infección en personas con TMG que han sido atendidas en un centro psiquiátrico; por lo que se desconoce este dato en población con TMG que no estén en tratamiento. Esto hace necesario más estudios que nos permitan conocer los datos de los pacientes no atendidos para aproximarse y poder comparar con los datos de la población general.

Los pacientes que acuden a unidades de salud mental representan una oportunidad única para la microeliminación del VHC, son pacientes propensos a situaciones de riesgo para la adquisición de infecciones. De hecho, las personas con ciertas enfermedades psiquiátricas, por ejemplo, esquizofrenia, son más propensas a establecer relaciones de riesgo y existe una importante comorbilidad con el consumo de sustancias. Existen pruebas sólidas de un mayor riesgo de infección por el VHC, con una odds ratio de 1,72 en comparación con la población general, lo que implica casi el doble de riesgo para los pacientes con una enfermedad mental grave (110). A modo de ejemplo, en España, la infección por VHC en la población general es del 0,85%, por lo que, extrapolando los resultados, podemos esperar que aproximadamente el 2% de los pacientes con trastornos mentales podrían estar infectados por VHC (111).

Lo que si se deduce de todos estos estudios es que la población de pacientes con TMG es más propensa a tener hábitos de vida no saludables, relacionado con diversos factores como son el uso de drogas por vía parenteral, y el presentar conductas sexuales de riesgo.

A estos factores de riesgo hay que sumar además la estigmatización y las connotaciones negativas que se le atribuyen a esta población, como pacientes difíciles de tratar, incapaces de cumplimentar los tratamientos propuestos y de modificar sus hábitos de salud.

Las personas con un TMG constituyen un foco sobre los que prestar especial interés. Esta población tiene especiales dificultades para el cumplimiento terapéutico, por lo que nos encontramos con diversas barreras que nos dificultan alcanzar nuestro objetivo (112).

Hasta la aparición de los antivirales de acción directa, el tratamiento disponible para la curación de VHC era Interferón- α pegilado y Ribavirina. Con la llegada de los nuevos antivirales de acción directa (AAD) en 2014, esta problemática se resolvió, ya que los nuevos tratamientos farmacológicos disponen de una eficacia superior al 95%, con buena tolerabilidad y escasos efectos adversos, entre los que no se encuentra alteraciones neuropsiquiátricas, ya que los propios pacientes con hepatitis C presentan síntomas neuropsiquiátricos entre los que destaca la depresión, fatiga y malestar general. Siendo la depresión el trastorno más común asociado a la infección (108).

Al tratar a estos pacientes no solo estamos eliminando la infección por VHC, si no que, además, esto repercute positivamente en la salud mental, ya que muchos de ellos, cuando son diagnosticados de hepatitis, se agravan sus problemas mentales y hay que sumar trastornos tales como depresión y ansiedad. Además, existen estudios que evidencian el neurotropismo del VHC y anomalías en el Sistema nervioso central a consecuencia de la infección por este virus. En el trabajo de *Fletcher et al.* pone de manifiesto que el endotelio microvascular cerebral (principal componente de la barrera

hematoencefalica) expresa los principales receptores de entrada para el VHC, lo que permite la entrada y replicación del virus, permitiendo la infección a nivel del SNC.

En este estudio se midieron los niveles de ARN del VHC y la expresión del receptor de entrada viral en células endoteliales microvasculares cerebrales y muestras de tejido cerebral de 10 individuos infectados (y 3 individuos no infectados, como controles) empleando una PCR cuantitativa y análisis inmunoquímicos y de imagen confocal. Mediante PCR cuantitativa, se detectó ARN del VHC en el tejido cerebral de individuos infectados a niveles significativamente más bajos que en las muestras de hígado y las células endoteliales cerebrales expresaban todos los receptores de entrada del VHC conocidos. De hecho, los endotelios microvasculares eran el único tipo celular del cerebro que expresaba todos los factores necesarios para la entrada del VHC.

La cuantificación del ARN del VHC se llevó a cabo empleando muestras emparejadas de materia blanca y gris, cerebelo, médula, hígado y plasma y reveló que, en las muestras clínicas con VHC cerebral detectable, la carga viral era entre 1.000 y 10.000 veces inferior en el cerebro en comparación con el hígado del mismo sujeto. Este hecho se asoció con un mayor intervalo postmortem lo que sugiere la degradación del ARN en algunas muestras con el paso del tiempo (113).

Al tratar y conseguir respuesta viral sostenida (RVS) estamos consiguiendo una mejora a nivel individual, ya que se consigue una disminución de la morbimortalidad, aumento de la supervivencia, mejorar la calidad de vida y de las manifestaciones extrahepáticas de esa persona, así como la eliminación del estigma de la enfermedad. Lógicamente, también se consigue una mejora a nivel de la sociedad, puesto que a nivel colectivo estamos reduciendo la transmisión del VHC, evitando la diseminación de la infección, se reducen los costes asociados a la hepatitis crónica y se abre la vía de la eliminación del VHC.

En nuestro estudio hemos contribuido a la microeliminación de la hepatitis C en la población con TMG que ha sido atendida en la unidad de salud mental de nuestro hospital, y ha permitido conocer la prevalencia real de hepatitis C en este colectivo. La adherencia de los profesionales de salud mental al programa ha ido aumentando a lo largo del tiempo. Debido a que la prevalencia en este colectivo esta incrementada

respecto a la población general, estamos en fase de ampliación de la estrategia a los pacientes que se atienden en las comunidades terapéuticas de nuestra provincia.

En nuestro trabajo, tras los resultados obtenidos, se pone de manifiesto la necesidad de integrar el cribado del VHC con la vinculación al tratamiento en la práctica psiquiátrica, formado por un equipo multidisciplinar, donde exista una comunicación eficiente. La colaboración entre los diferentes especialistas implicados en la salud del paciente con TMG es indispensable para derribar barreras y lograr la microeliminación de la hepatitis C en la población psiquiátrica, participando de forma activa en cada punto de la cascada de tratamiento. Este trabajo constituye un buen ejemplo de enfoque de microeliminación. A pesar de ello, la tasa de tratamiento en este trabajo fue sólo del 42,8%, lo que pone de manifiesto que sigue siendo un problema la adherencia de los pacientes con TMG, lo que nos hace concluir que es necesario implementar medidas para conseguir que todos los pacientes diagnosticados, sean tratados.

La hipótesis de una menor adherencia se debe a los casos de trastornos psiquiátricos graves; en este trabajo los tres pacientes que no acudieron a cita, presentaban un diagnóstico clínico de trastorno bipolar, esquizofrenia paranoide y esquizofrenia paranoide unido a una situación de abandono sin hogar. Estudios como *el de Back et al.* ponen de manifiesto que la falta de adherencia al tratamiento antiviral fue más común entre los pacientes con trastorno bipolar, y otros trastornos psiquiátricos graves donde el abordaje del paciente fue más complejo (114).

Las principales limitaciones de nuestro estudio fueron: la inclusión únicamente de pacientes hospitalizados, por lo que lo ideal sería también realizar cribado en aquellas comunidades terapéuticas de salud mental a las que acuden pacientes no hospitalizados. La tasa de pacientes ingresados no cribados (7,4%), lo que pone de manifiesto que sigue siendo necesario aplicar medidas de concienciación en los profesionales sanitarios, concienciar a los psiquiatras y demás profesionales sanitarios sobre la importancia de un correcto y pronto diagnóstico de la infección por VHC, así como de la instauración de un tratamiento eficaz de forma coordinada con los hepatólogos/infectólogos, para que todo paciente diagnosticado sea tratado.

Capítulo V

La variabilidad genética de VHC como una amenaza para la eliminación

1. Objetivo y justificación

El VHC presenta un alto grado de diversidad genética. Las cepas del VHC se clasifican en ocho genotipos con diferencias del 30-35% de los sitios nucleotídicos, y también en 90 subtipos confirmados, y algunos provisionales. Recientemente se ha propuesto una clasificación en genotipos epidémicos y endémicos. Los subtipos endémicos del VHC se distribuyen principalmente en África y Asia, y muestran una mayor variabilidad en comparación con los epidémicos. Su mayor diversidad genética aumenta la posibilidad de resistencia a los regímenes antivirales de acción directa (AAD). Se han denominado “subtipos inusuales”.

La aparición de sustituciones asociadas a la resistencia (RAS), ya sea de forma natural o durante el tratamiento, puede limitar la eficacia del tratamiento. Dado que las RAS dependen del genotipo, en entornos con recursos limitados en los que los regímenes de tratamiento pueden ser más antiguos, las RAS pueden contribuir a poner en peligro los objetivos de eliminación, dando lugar a una transmisión continuada y a la progresión de la enfermedad. Por estos motivos, la secuenciación de aislados clínicos en el África subsahariana y Asia es una prioridad para monitorizar la respuesta al tratamiento y facilitar la estrategia de eliminación de 2030 de la Organización Mundial de la Salud (115).

El objetivo de este trabajo fue investigar las características moleculares del VHC detectado en pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C en Jordania, incluida la descripción de subtipos mediante secuenciación de nueva generación de la región NS5B, y el perfil RAS, tanto en la región NS5A como en la NS3 del VHC.

2. Material y métodos

En este trabajo han participado 48 pacientes jordanos sin tratamiento previo con hepatitis C crónica activa reclutados en 7 provincias situadas en las regiones norte, centro y sur de Jordania: Irbid, Jerash, Zarqa, Balqa, Ammán, Madaba y Aqaba. Los pacientes fueron reclutados entre agosto de 2020 y marzo de 2022. El sexo, la edad, la ALT (U/L), la carga viral (UI/mL), el genotipo, la información sobre el tratamiento con AAD, el estado de cirrosis y los factores de riesgo se obtuvieron de las historias clínicas.

La carga viral del VHC se determinó en los laboratorios de diagnóstico Biolab de Ammán (Jordania) utilizando la tecnología GeneXpert (Xpert HCV Viral load REF: GXHCV-VL-CE-10). El genotipado del VHC se realizó en un laboratorio de referencia de Jordania utilizando un ensayo de sonda en línea in vitro Gen-C 2.0 (Nuclear laser medicine srl, Italia).

Los genes NS3, NS5A y NS5B se secuenciaron en el Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada. Se realizó la extracción del ARN y la posterior síntesis de ADN complementario (cDNA) cebado al azar (LunaScript). El cDNA se utilizó para la amplificación, cubriendo las posiciones 220 a 360 en NS5B, 17 a 95 en NS5A y 10 a 181 en NS3. Los amplicones se utilizaron para la preparación de bibliotecas de secuenciación utilizando Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina) y se secuenciaron por paired-end en la plataforma NextSeq 1000. Los archivos Fastq se analizaron con el software de genotipado del VHC y con la base de datos DeepChek-HCV v2.0 solution (ABL, SA, Luxemburgo). NS5B se utilizó para el genotipado mediante una secuencia consenso (generada con CLC genomics, Qiagen) y geno2pheno HCV (<https://hcv.geno2pheno.org>), y para la investigación de S282T RAS. Se consideraron significativos los RAS específicos de genotipo con cambios en las posiciones 24, 28, 30, 31, 32, 38, 58, 62, 92, 93 en NS5A, y en las posiciones 36, 41, 43, 56, 80, 122, 155, 156, 166, 168 en NS3 (63)

3. Resultados

Las características demográficas de los 48 pacientes incluidos en el estudio se muestran en la tabla 5. El 67% (n=32) de los pacientes eran varones, con una mediana de edad de 43 años (IQR 30-56), todos ellos originarios de Jordania, siendo la cirugía mayor el principal factor de riesgo para la adquisición del VHC (53%). La mediana de ALT (U/L) y de carga viral (UI/mL) fue de 57,5 (IQR 33,5-83) y log 5,9 (IQR log 5,34-log 6,45), respectivamente; la mayoría de los pacientes estaban infectados por los genotipos 4 (n=26; 54,2%) y 1 (n=21; 43,8%). En el momento basal, 3 pacientes presentaban cirrosis (información disponible sólo para 13 pacientes); 30 pacientes iniciaron tratamiento con AAD, siendo Sofosbuvir+Ledipasvir la combinación más prescrita (n=21; 43,8%), seguida de Sofosbuvir+Velpatasvir (n=7; 14,6%) y Sofosbuvir (n=2; 4,2%).

		<i>n (%)</i>
<i>Sexo</i>	Masculino	32 (66.7%)
	Femenino	16 (33.3%)
<i>Edad, años</i>	< 30	9 (18.8%)
	30-50	24 (50.0%)
	>50	15 (31.3%)
<i>Ciudad de Origen</i>	Amman	27 (56.3%)
	Aqaba	1 (2.1%)
	Balqa	2 (4.2%)
	Irbid	3 (6.3%)
	Jerash	1 (2.1%)
	Madaba	2 (4.2%)
	Zarqa	12 (25.0%)
<i>Factores de Riesgo</i>	Cirugía	24/46 (52.2%)
	Transfusión sanguínea	18/46 (39.1%)
	Wet Cupping Therapy (Hujama)	16/45 (35.6%)
	Procedimiento dental	11/45 (24.4%)
	Diálisis	7/46 (15.2%)
	Relación sexual de riesgo	3/30 (10.0%)
	Trabajador Sanitario	3/46 (6.5%)
	Transmisión vertical	1/44 (2.3%)
<i>Cirrosis</i>	Si	3 (6.3%)
	No	10 (20.8%)
	Desconocido	35 (72.9%)
<i>Carga Viral (UI/mL)</i>	<5	8 (16.7%)
	5-5,7	10 (20.8%)
	>5,7	29 (60.4%)
	Desconocido	1 (2.1%)
<i>ALT (U/L)</i>	<50	14 (29.2%)
	50-70	10 (20.8%)
	>70	14 (29.2%)
	Desconocido	10 (20.8%)

Tabla 5. Características demográficas de los pacientes estudiados.

La región NS5B se utilizó para el reagentipado de todo el conjunto de datos. La tabla 6 muestra la concordancia entre el genotipado NS5B y el ensayo de sonda Gen C 2.0-line. El genotipo de origen no estaba disponible para cinco muestras; se obtuvo una concordancia total entre el genotipado NS5B y Gen C 2.0 para 18/43 muestras (41,8%); en 22/43 muestras se detectó un subtipo diferente dentro del mismo genotipo (discordancia menor); se observaron tres discordancias mayores (6,9%): un paciente infectado por el genotipo 1b por NS5B y clasificado como genotipo 4 por Gen C2.0, otro paciente infectado por el genotipo 4o por NS5B y clasificado como genotipo 1b por Gen C2.0, y una infección mixta 1b+4a por NS5B clasificada como genotipo 4a por Gen C2.0. Cabe destacar que se detectaron 4 genotipos inusuales (4n, 4o-n=2, 4v) al utilizar la secuencia consenso NS5B NGS para el genotipado. No se detectó ningún S282T en NS5B.

		Gen 2.0-line							
		1	1a	1b	4	4a	4c/d	NA	
NS5B	1a		13						1
	1b	2		1	1				3
	4a				7	4	9		
	4d				1		1		
	4o			1					1
	4v						1		
	4n				1				
	1b+4a						1		

Tabla 6. Concordancia entre NS5B y ensayo Gen 2.0 line. En amarillo las discordancias menores, y en rojo las discordancias mayores.

La prevalencia global de RAS en NS5A fue del 38,3% (18/47) (cutoff del 3%), y del 31,9% (15/47) (cutoff del 15%). Los pacientes infectados por el genotipo 4a mostraron la mayor prevalencia de RAS NS5A (n=11, 55,0%; cuatro V28M, cuatro L30R, una Q30R, una combinación de L28S+M31I, y uno con K24Q+L30H/R). Dos pacientes infectados por el genotipo 1a presentaron RAS en NS5A (uno con M28V+L31M; uno con M28T+Q30K/R+L31M). Dos pacientes infectados por el genotipo 1b presentaron L31M+Y93H. El genotipo 4n, presentaba L28S+M31I, y uno de los genotipos 4o

M28S+T30R+M31I. Los resultados detallados sobre la prevalencia y la frecuencia relativa se muestran en la tabla 7.

Pacientes estudiados genotipo en NS5B	RAS >15%	RAS 3-15%	RAS													Y93H n (%)
			K24Q n (%)	L28S n (%)	M28S n (%)	M28V n (%)	M28T n (%)	V28M n (%)	L30H n (%)	L30R n (%)	Q30K n (%)	Q30R n (%)	T30R n (%)	L31M n (%)	M31I n (%)	
1a (n=14) ¹	1	2				1 (3)	1 (20)			1 (25)	1 (21)		1 (9) 1 (5)			
1b (n=7) ²	1	2											1 (6) 1(27)		1 (27) 1(4)	
4a (n=20) ³	11	11	1 (99)	1 (7)				4 (99)	1 (35)	1 (64) 4 (99)		1 (99)		1 (4)	1 (51)	
4n (n=1) ⁴		1		1 (9)										1 (6)		
4o (n=2) ⁵	1	1			1 (16)								1 (16)	1 (12)		
(1b+4a) ⁶ (n=1)	1	1										1 (99)				
Total (n=47*)	15	18	1	2	1	1	1	4	1	5	1	3	1	4	3	2

* 2 pacientes (genotipos 4v y 4n) no presentaban RAS en NS5A.

Tabla 7. Prevalencia y frecuencia relativa de las RAS. Se muestra la prevalencia de RAS a nivel de "secuenciación poblacional" (>15%) y como variantes minoritarias (3-15%).

Para cada RAS específico, se muestra entre paréntesis la frecuencia relativa en la población de cuasiespecies. Las RAS detectados con una frecuencia relativa inferior al 15% se resaltan en amarillo.

La prevalencia global de RAS NS3 fue del 21,9% (7/32), todas en forma de variante minoritaria (> 15%), y todas detectadas en pacientes infectados por genotipo 1a (7/14; 50%). Dos pacientes presentaban V36M (con frecuencias relativas del 98% y 62%), dos V36L (98% y 96%), uno Y56F (81%) y dos Q80K (99% y 81%).

Los dos pacientes infectados con genotipo 1a con RAS en NS5A, compartían también RAS en NS3: un paciente con M28V+L31M en NS5A más Q80K en NS3; un paciente con M28T+Q30K/R+L31M en NS5A más V36M en NS3.

4. Discusión

En nuestro estudio, se demuestra por primera vez que los "subtipos inusuales" 4n, 4o y 4v circulan en Jordania. Estos genotipos no son detectados por los ensayos comerciales de genotipado, lo que apoya la alarma de la Organización Mundial de la Salud para dar prioridad a los programas de vigilancia de secuenciación en el África subsahariana y Asia, con el fin de supervisar la respuesta al tratamiento en estos subtipos y facilitar la estrategia de eliminación de la OMS para 2030. Además, mostramos, por primera vez, la distribución de RAS en NS5A y NS3 en aislados de VHC de pacientes jordanos.

Hemos analizado la región NS5B del VHC para caracterizar completamente la distribución de subtipos en Jordania y para investigar la presencia de RAS, especialmente S282T asociado con la resistencia in vitro a Sofosbuvir (116). Es conocido que los ensayos comerciales de genotipado producen clasificaciones erróneas cuando atribuyen genotipos/subtipos del VHC, en comparación con la secuenciación de la región NS5B (117). Nuestros resultados están en concordancia con informes anteriores: el 6,9% (3/43 muestras) se clasificaron como discordancias mayores comparando el genotipado del ensayo de sonda Gen C 2.0-line con la secuenciación. Es cierto, que conforme se ha ido disponiendo de combinaciones pangenotípicas para el tratamiento del VHC, el interés por el genotipado del VHC ha disminuido; sin embargo, en el caso del África subsahariana, Asia y la región MENA, es posible que estos nuevos regímenes no estén totalmente disponibles (118), y puede seguir siendo necesaria una determinación correcta del genotipo del VHC. Además, el hallazgo de cuatro pacientes portadores de los "subtipos inusuales" 4n, 4o y 4v subraya la necesidad de programas de vigilancia para controlar la propagación de estos subtipos. Dado que los subtipos inusuales pueden presentar menores tasas de respuesta al tratamiento, es de suma importancia conocer cómo responden estos y otros "subtipos inusuales" a las combinaciones de AAD, tanto no pangenotípicas como pangenotípicas. En este estudio se aportan datos sobre la detección, por primera vez, de "subtipos inusuales" del VHC en pacientes jordanos, la mitad de los cuales presentaban patrones complejos de RAS. Como un informe reciente de *Athamneh et al* señala (119), es necesario llevar a cabo estudios en otros países de la

región MENA (Middle East & North Africa), para monitorizar la importación/exportación de estos "subtipos inusuales" de VHC.

El trabajo de *Howe et al.*, el mayor informe publicado hasta la fecha, que incluía pacientes de 22 países, informa de una frecuencia media de prevalencia natural de RAS del 15% para Sofosbuvir en NS5B, del 37% en NS3 y del 29% en NS5A (120). En Jordania, se observa una prevalencia RAS similar en NS5A (31%), y es llamativo que dos de los cuatro subtipos inusuales detectados mostraban patrones RAS complejos en NS5A (4n, L28S+M31I; 4o M28S+T30R+M31I). En nuestro estudio, a diferencia de los datos presentados por *Howe et al.*, no se detectaron RAS para Sofosbuvir en NS5B, y observamos una menor prevalencia de RAS en NS3 (21,9%).

Respecto a la detección de variantes minoritarias se eligió el 3% como punto de corte, con el fin de evitar el sesgo de los errores de secuenciación (121) y siguiendo las recomendaciones para el estudio de resistencias de VIH, donde el uso de NGS está más generalizado (122). La prevalencia de pacientes con variantes minoritarias que se obtuvo fue baja; de hecho, sólo encontramos tres pacientes con RAS en forma de variantes minoritarias en NS5A, y para un paciente (infectado por un "subtipo inusual" 4n) sólo se detectó una variante minoritaria asociada a resistencia. Existe poca información sobre la importancia clínica de la detección de variantes minoritarias asociadas a resistencias, *Jacobson et al.*, mostraron un impacto mínimo de RAS minoritarias en NS5A en la eficacia de una combinación grazoprevir-elbasvir para el tratamiento de pacientes infectados por el genotipo 1a (123). Dado que la NGS se está utilizando cada vez más para la secuenciación, debe prestarse especial atención si se van a utilizar las RAS para la investigación o, lo que es más importante, para la atención clínica de los pacientes.

La principal limitación de este estudio fue el número de pacientes que se pudieron analizar; aunque la recogida de muestras se inició inmediatamente después del bloqueo de COVID y del final de la primera oleada, las continuas oleadas de COVID dificultaron tanto el reclutamiento en Jordania como el análisis en España. Además, la

muy baja prevalencia de la hepatitis C en Jordania fue un reto clave adicional para reclutar pacientes con VHC naïve al tratamiento antiviral.

En resumen, con este trabajo se informa, por primera vez en pacientes jordanos con infección crónica por VHC, de la detección de subtipos 4 inusuales, 4n, 4o y 4v. Se describen las RAS basales en los aislados jordanos del VHC, mostrando que las RAS basales en NS5A son frecuentes, con patrones de RAS complejos en algunos de los subtipos inusuales. Estos datos apoyan la necesidad de programas de vigilancia de secuenciación en el África subsahariana, Asia y la región MENA con el fin de supervisar la respuesta al tratamiento en estos subtipos y facilitar la estrategia de eliminación 2030 de la OMS.

CONCLUSIONES

1. La estrategia de Diagnóstico en un solo paso, junto con los mensajes de alerta sanitaria y la citación de los pacientes directamente desde Atención Hospitalaria ha resultado en una elevada tasa de inicio de tratamiento, en un menor tiempo y una mayor vinculación del paciente al sistema sanitario, que se traduce en un menor número de pacientes perdidos.
2. La búsqueda de pacientes perdidos, de una manera periódica y sistematizada, es una herramienta fundamental para alcanzar y mantener los objetivos de eliminación de la OMS. En nuestro estudio hemos elaborado una estrategia de “data mining” de la base de datos de microbiología para poder localizar los pacientes perdidos de seguimiento y comunicarlos a los especialistas para su reevaluación-
3. Una estrategia de diagnóstico basada en la determinación en agrupaciones de 100 muestras del ARN-VHC, para detectar infección activa, es segura, mantiene la eficiencia diagnóstica y aporta un ahorro importante en los costes para el laboratorio. Esta estrategia, en el escenario de eliminación y de diagnóstico integral de las hepatitis virales podría ser utilizada por los servicios de microbiología clínica para cribado poblacional o etario.
4. Se necesitan estrategias diagnósticas centradas en los denominados grupos vulnerables. Se requiere una atención coordinada y multidisciplinar entre los distintos servicios implicados en el manejo del paciente con TMG, para que la estrategia de acción sea verdaderamente un éxito y se logre mejorar el cumplimiento terapéutico y conseguir la curación vírica en pacientes con problemas de salud mental.

5. Nuestro trabajo ha permitido conocer la prevalencia real de hepatitis C en los pacientes con TMG y ha contribuido a la microeliminación de la hepatitis C en la población con TMG que ha sido atendida en la unidad de salud mental del Hospital Universitario Clínico San Cecilio; aún así, se necesita una mayor adherencia y vinculación al sistema sanitario de estos pacientes por parte de los profesionales clínicos.

6. En la era de globalización que nos encontramos es esencial conocer la epidemiología global del VHC para lograr su eliminación. Aquí se presenta el primer estudio sobre la caracterización virológica del VHC de pacientes jordanos con infección crónica, utilizando secuenciación masiva, donde se han detectado subtipos inusuales 4o, 4n y 4v. Las RAS basales son frecuentes, especialmente en NS5A, pero afortunadamente en genotipos en los que los RAS no deberían poner en peligro la respuesta virológica sostenida a los AAD.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hepatitis C. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
2. Waheed Y, Siddiq M, Jamil Z, Najmi MH. Hepatitis elimination by 2030: Progress and challenges. *World J Gastroenterol*. 2018 Nov 11;24(44):4959.
3. Facts about hepatitis C. <https://www.ecdc.europa.eu/en/hepatitis-c/facts>
4. Hepatitis C - FAQs, Statistics, Resources, Find Treatment, & More | CDC <https://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/index.htm>
5. Spearman CW, Dusheiko GM, Hellard M, Sonderup M. Hepatitis C. *Lancet*. 2019 Oct 19;394(10207):1451–66.
6. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone Derived from a Blood-Borne Non-A, Non-B Viral Hepatitis Genome. *Science* (80-). 1989;244(4902):359–62.
7. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology*. 2004 Jan 1;39(1):5–19.
8. Steinmann E, Penin F, Kallis S, Patel AH, Bartenschlager R, Pietschmann T. Hepatitis C Virus p7 Protein Is Crucial for Assembly and Release of Infectious Virions. *PLOS Pathog*. 2007 Jul;3(7):e103.
9. Koutsoudakis G, Fornis X, Pérez-del-Pulgar S. Biología molecular aplicada del virus de la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol*. 2013 Apr;36(4):280–93.
10. Martinez MA, Franco S. Therapy Implications of Hepatitis C Virus Genetic Diversity. *Viruses*. 2021 Jan 1;13(1).
11. Tong YQ, Liu B, Liu H, Zheng HY, Gu J, Liu H, et al. Accurate genotyping of hepatitis C virus through nucleotide sequencing and identification of new HCV subtypes in China population. *Clin Microbiol Infect*. 2015 Sep 1;21(9):874.e9-874.e21.
12. Alazard-Dany N, Denolly S, Boson B, Cosset FL. Overview of HCV Life Cycle with a Special Focus on Current and Possible Future Antiviral Targets. *Viruses*. 2019 Jan 1;11(1).

13. De La Revilla Negro J, Martínez Porras JL, Torres Cruz K, Calleja Panero JL. Hepatitis crónica por virus de la hepatitis C. Historia natural y tratamiento. *Medicine (Baltimore)*. 2012 May 1;11(9):529–40.
14. Santantonio T, Wiegand J, Tilman Gerlach J. Acute hepatitis C: Current status and remaining challenges. *J Hepatol*. 2008 Oct 1;49(4):625–33.
15. Seeff LB. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968–2009). *Liver Int*. 2009;29(SUPPL. 1):89–99.
16. Blach S, Terrault NA, Tacke F, Gamkrelidze I, Craxi A, Tanaka J, et al. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022 May 1;7(5):396–415.
17. Ministerio de sanidad igualdad y asuntos sociales. Plan estratégico para el abordaje de la hepatitis c en el sistema nacional de salud. *Minist Sanidad, Serv Soc e Igual*. 2015;1–102.
18. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205035>
19. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014 Nov 1;61(1 Suppl):S45–57.
20. Blach S, Zeuzem S, Manns M, Altraif I, Duberg AS, Muljono DH, et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017 Mar 1;2(3):161–76.
21. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, Bernasconi E, Buti M, Cooper C, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver Int* . 2011;31 Suppl 2(SUPPL. 2):30–60.
22. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015 Jan 1;61(1):77–87.
23. Limia Sánchez MA, Labrador Cañadas MV, Ory Manchón F de, Sánchez-Cambronero Cejudo L, Rodríguez Cobo I, Cantero Gudino E, et al. Metodología del 2º estudio de seroprevalencia en España. *Rev española salud pública, ISSN-e 1135-5727, N° 93, 2019 ;(93):12*.

24. Bruguera M, Fornis X. Hepatitis C en España. *Med Clin (Barc)*. 2006 Jun 1;127(3):113–7.
25. Viejo LGE, Herola AG, Lloret IS, Ruano FS, Paulino IC, Ivorra CQ, et al. Screening of hepatitis C virus infection in adult general population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Sep 1;30(9):1077–81.
26. Mena A, Moldes L, Meijide H, Cañizares A, Castro-Iglesias Á, Delgado M, et al. Seroprevalence of HCV and HIV Infections by Year of Birth in Spain: Impact of US CDC and USPSTF Recommendations for HCV and HIV Testing. *PLoS One* . 2014 Dec 1;9(12):e113062.
27. Ahee A van., Combs K, Delpuch V, Desai S, Finne Jakobsen S, Hoekstra M, et al. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA : an integrated approach. 2018.
28. Fanciulli C, Berenguer J, Busca C, Vivancos MJ, Téllez MJ, Domínguez L, et al. Epidemiological trends of HIV/HCV coinfection in Spain, 2015–2019. *HIV Med*. 2022;23(7):705–16.
29. Mancha C La, Rioja L. Encuesta Hospitalaria de pacientes con infección por el VIH Resultados 2021 Análisis de la evolución 2006-2021. 2021.
30. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Vigilancia Epidemiológica de La Hepatitis C En. *Red Nac Vigil Epidemiológica (RENAVE)*. 2019;10.
31. Pineda JA, Neukam K. Hepatitis aguda C en varones homosexuales infectados por VIH: ¿una segunda oleada de coinfección por VIH y VHC? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(1):1–2.
32. Hepatitis C aguda en hombres que tienen sexo con hombres con VIH. Una epidemia en auge. *SIDA STUDI*.
33. Berenguer J, Gil-Martin Á, Jarrin I, Montes ML, Domínguez L, Aldámiz-Echevarría T, et al. Reinfection by hepatitis C virus following effective all-oral direct-acting antiviral drug therapy in HIV/hepatitis C virus coinfecting individuals. *AIDS*. 2019 Mar 15;33(4):685–9.
34. Lazarus J V., Bromberg DJ, del Amo J, Norgaard O, García-Samaniego J, Casellas A, et al. Hepatitis C prevalence among the migrant population in Spain: A systematic review and meta-analysis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 Apr 1;37(4):222–30.

35. Assessing the burden of key infectious diseases affecting migrant populations in the EU/EEA. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/assessing-burden-key-infectious-diseases-affecting-migrant-populations-eueea>
36. Epidemiological assessment of hepatitis B and C among migrants in the EU/EEA <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/epidemiological-assessment-hepatitis-b-and-c-among-migrants-eueea>
37. Institucionpenitenciaria.es.
<http://www.institucionpenitenciaria.es/web/export/sites/default/datos/descargables/saludpublica/Prevale>
38. Garcia M S-TJ. Hepatitis C. *Medicus*. 2001;1(2):49–53.
39. Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. Acute hepatitis C. *Lancet*. 2008 Jul 26;372(9635):321–32.
40. Zoulim F, Chevallier M, Maynard M, Trepo C. Clinical consequences of hepatitis C virus infection. *Rev Med Virol*. 2003 Jan 1;13(1):57–68.
41. Roca B. Manifestaciones extrahepáticas de la infección por el virus de la hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004 Jan 1;22(8):467–70.
42. Evaluación crítica de los métodos de estimación de la fibrosis en la hepatitis C crónica. *Gastroenterol Hepatol Contin*. 2006;5(3):128–31.
43. Roger S, Ducancelle A, Le Guillou-Guillemette H, Gaudy C, Lunel F. HCV virology and diagnosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2021 May 1;45(3):101626.
44. Pawlotsky JM. Diagnostic tests for hepatitis C. *J Hepatol Suppl*. 1999 Jan 1;31(1):71–9.
45. Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology*. 2002 Nov 1;36(5 Suppl 1):s65–73.
46. Carrión JA. Utilidad del Fibroscan® para evaluar la fibrosis hepática. *Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jun 1;32(6):415–23.
47. Gretch DR. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology*. 1997 Dec 1;26(S3):43S-47S.
48. Chevaliez S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Feb 1;17(2):116–21.

49. Fabrizi F, Lunghi G, Aucella F, Mangano S, Barbisoni F, Bisegna S, et al. Novel assay using total hepatitis C virus (HCV) core antigen quantification for diagnosis of HCV infection in dialysis patients. *J Clin Microbiol.* 2005 Jan [;43(1):414–20.
50. Jacka B, Lamoury F, Simmonds P, Dore GJ, Grebely J, Applegate T. Sequencing of the Hepatitis C Virus: A Systematic Review. *PLoS One.* 2013 Jun 27;8(6):e67073.
51. Aguilera G, Fernández R, Córdoba J, Fuentes A. Diagnóstico microbiológico de las hepatitis víricas. *Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas.* 2014. 1–48 p.
52. Goletti S, Zuyten S, Goeminne L, Verhofstede C, Rodriguez-Villalobos H, Bodeus M, et al. Comparison of Sanger sequencing for hepatitis C virus genotyping with a commercial line probe assay in a tertiary hospital. *BMC Infect Dis.* 2019 Aug 22; 19(1):1–11.
53. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C | HCV Guidance. <https://www.hcvguidelines.org/>
54. Buti M, Cornberg M, Janssen H, Mutimer D, Pol S, Dusheiko G, et al. Guía de práctica clínica de la EASL : Tratamiento de la infección crónica por el virus de la hepatitis B European Association for the Study of the Liver. *Guías de Práctica Clínica. J Hepatol.* 2012;57(Cdi):167–85.
55. Ghany MG, Morgan TR. Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases–Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology.* 2020 Feb 1;71(2):686–721.
56. AEEH y SEIMC. Guías AEEH / SEIMC de manejo de la Hepatitis C (marzo 2017). 2017;80. <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2017/06/consenso.pdf>
57. Calleja JL, Macias J, Fornas X, Garcia F, Berenguer M, Garcia Deltoro M, et al. Guía de tratamiento de la infección por virus de la hepatitis C. *Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). Gastroenterol Hepatol.* 2018 Nov 1;41(9):597–608.
58. Diago M. Tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C. Estado actual y perspectivas. *Gastroenterol Hepatol.* 2008 Nov 1;31(9):596–605.
59. Gish RG. Treating HCV with ribavirin analogues and ribavirin-like molecules. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Jan 1;57(1):8–13.

60. Slim J, Afridi MS. Managing Adverse Effects of Interferon-Alfa and Ribavirin in Combination Therapy for HCV. *Infect Dis Clin North Am.* 2012 Dec 1;26(4):917–29.
61. Liverpool HEP Interactions. <https://www.hep-druginteractions.org/>
62. Howe AYM, Rodrigo C, Cunningham EB, Douglas MW, Dietz J, Grebely J, et al. Characteristics of hepatitis C virus resistance in an international cohort after a decade of direct-acting antivirals. *JHEP Reports.* 2022 May 1;4(5).
63. Sorbo MC, Cento V, Di Maio VC, Howe AYM, Garcia F, Perno CF, et al. Hepatitis C virus drug resistance associated substitutions and their clinical relevance: Update 2018. *Drug Resist Updat.* 2018 Mar 1;37:17–39.
64. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030: advocacy brief <https://apps.who.int/iris/handle/10665/206453>
65. Sanidad DE. V Encuesta de Serovigilancia de la Comunidad de Madrid. :1–64.
66. Agencia de Salud Pública de Cataluña. Departamento de Salud. Generalitat de Cataluña. Plan de prevención y control de la hepatitis C en Cataluña. 2018; https://salutpublica.gencat.cat/web/.content/minisite/aspcat/vigilancia_salut_publica/vih-sida-its/04_Hepatitis_viriques/Plan-Hepatitis-Definitivo_C_DEF_ES.pdf
67. Guidelines on hepatitis B and C testing. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981>
68. Waheed Y. Hepatitis C eradication: A long way to go. *World J Gastroenterol.* 2015 Nov 21;21(43):12510–2.
69. Diagnóstico de la hepatitis C en un solo paso. Seimc.org. https://seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gehep/dcientificos/documentos/gehep-dc-2018-Diagnostico_en_un_paso_HepatitisC.pdf
70. De Paschale M, Manco MT, Arpino O, Ricucci V, Paganini A, Belvisi L, et al. Threshold value of LIAISON XL anti-HCV screening assay predicting positive immunoblotting results. *J Med Virol.* 2017 Oct 1;89(10):1817–22.
71. Realti A. WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics PUBLIC REPORT Product : Abbott RealTi me HCV WHO reference number : PQDx 0450-027-00 Summary of WHO prequalification assessment for. 2019;(December).

72. World Health Organization. WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics (PUBLIC REPORT) Product: cobas HIV-1 Quantitative nucleic acid test for use on the cobas 4800 System. 2021. 1–65 p.
73. Aguilera A, Alados JC, Alonso R, Eiros JM, García F. Posición actual de la carga viral frente a la determinación de antígeno core del virus de la hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2020 Jan 1;38:12–8.
74. Sepúlveda-Crespo D, Treviño-Nakoura A, Bellon JM, Jiménez-Sousa MA, Ryan P, Martínez I, et al. Diagnostic Performance of the HCV Core Antigen Test To Identify Hepatitis C in HIV-Infected Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Microbiol*. 2023 Jan 1;61(1).
75. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol*. 2020 Nov 1;73(5):1170–218.
76. Harris M, Ward E, Gore C. Finding the undiagnosed: a qualitative exploration of hepatitis C diagnosis delay in the United Kingdom. *J Viral Hepat*. 2016 Jun 1;23(6):479–86.
77. Zhou K, Fitzpatrick T, Walsh N, Kim JY, Chou R, Lackey M, et al. Interventions to optimise the care continuum for chronic viral hepatitis: a systematic review and meta-analyses. *Lancet Infect Dis*. 2016 Dec 1;16(12):1409–22.
78. Kronfli N, Linthwaite B, Kouyoumdjian F, Klein MB, Lebouché B, Sebastiani G, et al. Interventions to increase testing, linkage to care and treatment of hepatitis C virus (HCV) infection among people in prisons: A systematic review. *Int J Drug Policy*. 2018 Jul 1;57:95–103.
79. Grebely J, Applegate TL, Cunningham P, Feld JJ. Hepatitis C point-of-care diagnostics: in search of a single visit diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17(12):1109–15.
80. Torrecillas M, Gómez-Muñoz N, Ocete MD, Cuevas PR, Madrid MD, González EO, et al. One-step diagnosis strategy together with multidisciplinary telematics referral perform an effective approach for identifying and treating patients with active Hepatitis C infection. *Ann Hepatol*. 2022 Jan 1;27(1):100542.

81. Casas P, Navarro D, Aguilera A, García F. Diagnóstico tradicional versus diagnóstico en un solo paso del virus de la hepatitis C. Estudio piloto en 2 centros asistenciales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 May 1;37(5):348–9.
82. Crespo J, Lázaro P, Blasco AJ, Aguilera A, García-Samaniego J, Eiros JM, et al. Diagnóstico en un solo paso de la hepatitis C en 2019: una realidad en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2021 Mar 1;39(3):119–26.
83. Crespo J, Lázaro de Mercado P, Blasco Bravo AJ, Aguilera Guirao A, García-Samaniego Rey J, Eiros Bouza JM, et al. El diagnóstico de la infección por el virus de la hepatitis C en España: una oportunidad para mejorar. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 Apr 1;37(4):231–8.
84. de la Paz Casas M, García F, Freyre-Carrillo C, Montiel N, de la Iglesia A, Viciano I, et al. Towards the elimination of hepatitis C: Implementation of reflex testing in Andalusia. *Rev Esp Enfermedades Dig*. 2020;112(7):515–9.
85. García F, Domínguez-Hernández R, Casado M, Macías J, Téllez F, Pascasio JM, et al. La simplificación del proceso de diagnóstico de la hepatitis C crónica es una estrategia coste-efectiva. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 Dec 1;37(10):634–41.
86. Crespo J, Albillos A, Buti M, Calleja JL, García Samaniego J, Hernández Guerra M, et al. Elimination of hepatitis C. Positioning document of the Spanish Association for the Study of the Liver (AEEH). *Rev Esp Enferm Dig*. 2019 Nov 1;111(11):862–73.
87. Summary E. EASL Policy Statement on Hepatitis C Elimination. 2019;(2017):1–5.
88. Consenso de recomendaciones para el diagnóstico precoz, la prevención y la atención clínica de la Hepatitis C en Atención Primaria - semFYC
<https://www.semfyc.es/biblioteca/consenso-diagnostico-prevencion-hepatitis-c-atencion-primaria/>
89. Andaluz I, Arcos M del M, Montero MD, Castillo P, Martín-Carbonero L, García-Samaniego J, et al. Patients with hepatitis C lost to follow-up: Ethical-legal aspects and search results. *Rev Esp Enfermedades Dig*. 2020;112(7):532–7.

90. Del Pino Bellido P, Guerra Veloz MF, Cordero Ruiz P, Bellido Muñoz F, Vega Rodríguez F, Caunedo Álvarez Á, et al. Chronic hepatitis C patients lost in the system: predictive factors of non-referral or loss of follow-up in Hepatology units. *Rev Esp Enferm Dig.* 2021 Dec 1;113(12):833–9.
91. Feld JJ. HCV elimination: It will take a village and then some. *J Hepatol.* 2020 Apr 1; 72(4):601–3.
92. Road to Elimination: Barriers and Best Practices in Hepatitis C Management | HCV Action.
93. Seoane Blanco L, Soto Sánchez J, Sierra Dorado G, Parapar Álvarez L, Crespo Sánchez M, Sánchez Domínguez L, et al. Active search for hepatitis C patients in primary care. *Rev Esp Enferm Dig.* 2021 Dec 1;113(12):820–4.
94. Aguilera A, Pereira S, Fuentes A, de Salazar A, Trastoy R, Navarro D, et al. Pooling samples for hepatitis C RNA detection. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021 Aug 1;6(8):608–9.
95. Dorfman R. The Detection of Defective Members of Large Populations. *Ann Math Stat.* 1943 Dec;14(4):436–40.
96. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, Weber-Schehl M, Brixner V, Busch MP, et al. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. *Transfusion.* 2008 Aug 1;48(8):1558–66.
97. Roth WK, Busch MP, Schuller A, Ismay S, Cheng A, Seed CR, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang.* 2012 Jan 1;102(1):82–90.
98. Okasha H, Baddour M, Elsayy M, Sadek N, Eltoweissy M, Gouda A, et al. Optimization of Pooling Technique for Hepatitis C Virus Nucleic Acid Testing (NAT) in Blood Banks. *Hepat Mon* 2020 203. 2020 Mar 1;20(3):99571.
99. Van Zyl GU, Preiser W, Potschka S, Lundershausen AT, Haubrich R, Smith D. Pooling Strategies to Reduce the Cost of HIV-1 RNA Load Monitoring in a Resource-Limited Setting. *Clin Infect Dis.* 2011 Jan 15 ;52(2):264–70.
100. Xiong W, Ding J, He Y, Li Q. Improved matrix pooling. *Stat Methods Med Res.* 2019 Jan 1;28(1):211–22.

101. Nguyen NT, Aprahamian H, Bish EK, Bish DR. A methodology for deriving the sensitivity of pooled testing, based on viral load progression and pooling dilution. *J Transl Med.* 2019 Aug 6;17(1):1–10.
102. Bertisch B, Brezzi M, Negro F, Müllhaupt B, Ottiger C, Künzler-Heule P, et al. Very Low Hepatitis C Viral Loads in Treatment-naive Persons: Do They Compromise Hepatitis C Virus Antigen Testing? *Clin Infect Dis.* 2020 Feb 3; 70(4):653–9.
103. Osburn WO, Fisher BE, Dowd KA, Urban G, Liu L, Ray SC, et al. Spontaneous Control of Primary Hepatitis C Virus Infection and Immunity Against Persistent Reinfection. *Gastroenterology.* 2010 Jan 1;138(1):315–24.
104. ChrisBilder.com. <http://www.chrisbilder.com/shiny/>
105. Cherif A, Grobe N, Wang X, Kotanko P. Simulation of Pool Testing to Identify Patients With Coronavirus Disease 2019 Under Conditions of Limited Test Availability. *JAMA Netw Open.* 2020 Jun 1;3(6):e2013075–e2013075.
106. Roncero C, Buch-Vicente B, Martín-Sánchez ÁM, Álvarez-Navares AI, Andrés-Olivera P, Gamonal-Limcaoco S, et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with chronic mental disorders: The relevance of dual disorders. *Gastroenterol Hepatol.* 2023 Mar 1;46(3):171–7.
107. Jain MK, Thamer M, Therapondos G, Shiffman ML, Kshirsagar O, Clark C, et al. Has Access to Hepatitis C Virus Therapy Changed for Patients With Mental Health or Substance Use Disorders in the Direct-Acting-Antiviral Period? *Hepatology.* 2019 Jan 1;69(1):51–63.
108. Schaefer M, Capuron L, Friebe A, Diez-Quevedo C, Robaeys G, Neri S, et al. Hepatitis C infection, antiviral treatment and mental health: A European expert consensus statement. *J Hepatol.* 2012 Dec 1;57(6):1379–90.
109. Hughes E, Bassi S, Gilbody S, Bland M, Martin F. Prevalence of HIV, hepatitis B, and hepatitis C in people with severe mental illness: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry.* 2016 Jan 1;3(1):40–8.
110. Gronholm PC, Chowdhary N, Barbui C, Das-Munshi J, Kolappa K, Thornicroft G, et al. Prevention and management of physical health conditions in adults with severe mental disorders: WHO recommendations. *Int J Ment Health Syst.* 2021 Dec 1;15(1):1–10.

111. Fuentes A, Salazar A, Aguilera A, Téllez F, Cervilla J, González-Domenech PJ, et al. HEPATITIS C VIRUS SCREENING AND LINKAGE TO CARE IN MENTAL HEALTH UNITS: AN OPPORTUNITY FOR HCV ELIMINATION. *Actas Esp Psiquiatr.* 2022 Mar 1; 50(2):120–1.
112. Gutiérrez-Rojas L, de la Gándara Martín JJ, García Buey L, Uriz Otano JI, Mena Á, Roncero C. Patients with severe mental illness and hepatitis C virus infection benefit from new pangenotypic direct-acting antivirals: Results of a literature review. *Gastroenterol Hepatol.* 2022 May 1;
113. Fletcher NF, Wilson GK, Murray J, Hu K, Lewis A, Reynolds GM, et al. Hepatitis C virus infects the endothelial cells of the blood-brain barrier. *Gastroenterology.* 2012 Mar 1;142(3):634-643.e6.
114. Back D, Belperio P, Bondin M, Negro F, Talal AH, Park C, et al. Efficacy and safety of glecaprevir/pibrentasvir in patients with chronic HCV infection and psychiatric disorders: An integrated analysis. *J Viral Hepat.* 2019 Aug 1;26(8):951–60.
115. Draft global health sector strategies: viral hepatitis, 2016–2021: report by the Secretariat. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/252690>
116. Svarovskaia ES, Dvory Sobol H, Parkin N, Hebner C, Gontcharova V, Martin R, et al. Infrequent development of resistance in genotype 1-6 hepatitis C virus-infected subjects treated with sofosbuvir in phase 2 and 3 clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 15;59(12):1666–74.
117. Uribe-Noguez LA, Mata-Marín JA, Ocaña-Mondragón A, Pompa-Mera EN, Ribas-Aparicio RM, Arroyo-Anduiza CI, et al. Comparison of direct sequencing of the NS5B region with the Versant HCV genotype 2.0 assay for genotyping of viral isolates in Mexico. *J Infect Chemother.* 2020 Feb 1;26(2):205–10.
118. Shah R, Agyei-Nkansah A, Alikah F, Asamoah-Akuoko L, Bagou YCO, Dhiblawe A, et al. Hepatitis C virus in sub-Saharan Africa: a long road to elimination. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021 Sep 1;6(9):693–4.

119. Athamneh RY, Abudalo R, Sallam M, Alqudah A, Alquran H, Amawi KF, et al. Sub-genotypes of hepatitis C virus in the Middle East and North Africa: Patterns of distribution and temporal changes. *Infect Genet Evol.* 2023 Apr 1;109:105412.
120. Howe AYM, Rodrigo C, Cunningham EB, Douglas MW, Dietz J, Grebely J, et al. Characteristics of hepatitis C virus resistance in an international cohort after a decade of direct-acting antivirals. *JHEP Reports.* 2022 May 1;4(5):100462.
121. Lu IN, Muller CP, He FQ. Applying next-generation sequencing to unravel the mutational landscape in viral quasispecies. *Virus Res.* 2020 Jul 2;283:197963.
122. Mbunkah HA, Bertagnolio S, Hamers RL, Hunt G, Inzaule S, Rinke De Wit TF, et al. Low-Abundance Drug-Resistant HIV-1 Variants in Antiretroviral Drug-Naive Individuals: A Systematic Review of Detection Methods, Prevalence, and Clinical Impact. *J Infect Dis.* 2020 Apr 27;221(10):1584–97.
123. Prevalence and impact of baseline NSA resistance associated variants (RAVs) on the efficacy of elbasvir/grazoprevir (EBR/GZR) against GT1a infection [abstract LB-22] | HCV Guidance.

ANEXOS:

Aspectos éticos

ANEXO 1: Aprobación del Comité Ético de Investigación de Granada del estudio llevado a cabo en Capítulo I.

DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/Dª. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO como secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Implementación del diagnóstico en un solo paso (réflex) de la infección por Virus de la Hepatitis C. Impacto en la derivación de pacientes. .(Diagnostico Reflex Hepatitis C)
Protocolo, Versión: V1
HIP, Versión:
CI, Versión:

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Granada a 30/01/2019

D/Dª. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO, como Secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada



Código Seguro De Verificación:	1a4e3259047cd0599a8Eb5128E28eb732eb7E4E0	Fecha:	30/01/2019
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por:	Cristina Lucia Davila Fajardo		
Url De Verificación:	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/shtml/eyoda/verificafirmaDocumento.iface/code/1a4e3259047cd0599a8Eb5128E28eb732eb7E4E0	Página:	1/3



CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 28/01/2019 y recogida en acta 1/19 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Implementación del diagnóstico en un solo paso (rétlex) de la infección por Virus de la Hepatitis C. Impacto en la derivación de pacientes. (Diagnostico Reflex Hepatitis C)
 Protocolo, Versión: V1
 HIP, Versión:
 CI, Versión:

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

Presidenta/s

D/Dª.

Vicepresidenta/s

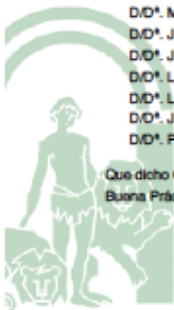
D/Dª. Francisco Manuel Luque Martínez

Secretario/a

D/Dª. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO

Vocales

D/Dª. Jesús Martínez Tapias
 D/Dª. Juan Ramón Delgado Pérez
 D/Dª. Berta Gorlat Sánchez
 D/Dª. José Darío Sánchez López
 D/Dª. Juana María de Haro Castellano
 D/Dª. José Cabeza Barrera
 D/Dª. Juan Mozas Moreno
 D/Dª. José Uberos Fernández
 D/Dª. MARIA ESPERANZA DEL POZO GAVILAN
 D/Dª. José Antonio López Escómez
 D/Dª. MAXIMILIANO OCETE ESPINOLA
 D/Dª. Joaquina Martínez Galán
 D/Dª. AURORA BUENO GAVANILLAS
 D/Dª. Paloma Muñoz de Rueda
 D/Dª. Esther Espinola García
 D/Dª. ANTONIO MORALES ROMERO
 D/Dª. FRANCISCO LUIS MANZANO MANZANO
 D/Dª. MIGUEL LÓPEZ GUADALUPE
 D/Dª. MARÍA DEL PILAR GONZÁLEZ CARRIÓN
 D/Dª. JUAN ROMERO COTELO
 D/Dª. JUAN DIAZ GARCIA
 D/Dª. LUIS MIGUEL DOMENECH GIL
 D/Dª. Luis Javier Martínez González
 D/Dª. JESÚS CARDONA CONTRERAS
 D/Dª. Pilar Gujosa Campos



Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Código Seguro De Verificación:	1e4e3259047cd0599a8fb5128f28eb732eb7e4e0	Fecha:	30/01/2019
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Cristina Lucia Davila Fajardo		
Url De Verificación	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldedeetica/shtml/ayuda/verificafirmaDocumento.iFace/code/1e4e3259047cd0599a8fb5128f28eb732eb7e4e0	Página	2/3



Lo que firmo en Granada a 30/01/2019



Código Seguro De Verificación:	1e4e3259047cd0599a8fb5128f28eb732eb7e4e0	Fecha:	30/01/2019
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por:	Cristina Lucía Davila Fajardo		
Url De Verificación:	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldesetic/shtml/eyoda/verificaxFirmaDocumento.iframe/code/1e4e3259047cd0599a8fb5128f28eb732eb7e4e0	Página:	3/3



ANEXO 2: Aprobación del Comité Ético de Investigación de Santiago-Lugo del estudio llevado a cabo en Capítulo III.



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Ana Estany Gestal, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo,

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 18 de mayo de 2022 el estudio:

Título: Estudio de evaluación de la metodología de agrupación de muestras (Pooling) para aumentar la capacidad diagnóstica de la infección por el virus de la Hepatitis C (VHC) de cara a su eliminación.

Versión: v1

Promotor/a: Antonio Aguilera Guirao

Investigador/a: Antonio Aguilera Guirao

Código de Registro: 2022/189

Y que este Comité, tomando en consideración la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible, los requisitos legales aplicables y los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité, emite un dictamen **FAVORABLE** para la realización del citado estudio.

NOTA: De acuerdo a la Instrucción 2/2020, de la Secretaría Xeral Técnica de la Consellería de Sanidade, se da el indicio de que este estudio pueda ser considerado de elevado impacto en la privacidad por la Comisión Técnica correspondiente. En ese caso, se precisará firmar un acuerdo de tratamiento de datos con el responsable del tratamiento del proyecto, cuestión que se comunica a los solicitantes de esta evaluación para que sea tenida en cuenta.

NOTA: Se le recuerda que en el caso de que en este estudio se recluten pacientes, el equipo investigador debe tener disponible el Documento de Consentimiento Informado (Hojas de Información y Hojas de Firma) tanto en *galego* como en castellano en el momento de comenzar el reclutamiento.

Documento assinado digitalmente por:
Ana Estany Gestal (17/05/2022 10:14)
<https://sede.xunta.gal/foi?doct=SAOC-LUGO-BDAH-OF40-TMB-NHX-NAUG-F165-5453-6664-34>



Comité Territorial de Santiago y Lugo
XERENCIA DO SERVIZO GALEGO DE SAÚDE
Complexo Administrativo de San Lázaro
15781 Santiago de Compostela
T. 881 546425
ceic@sergas.gal
<https://acls.sergas.es/cartafol/Redes-de-Comites-de-Etica-da-Investigacion>

Y HACE CONSTAR QUE:

- 1.- El Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo cumple tanto en su composición como en sus PNTs los requisitos legales vigentes.
- 2.- La composición actual del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo es:

Presidenta

Pilar Rodríguez Ledo. Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Vicepresidenta

María Mercedes Rodicio García. Médico especialista en Pediatría.

Secretaria

Ana Estany Gestal. Licenciada en Farmacia.

Vicesecretaria

Catalina Caamaño Isorna. Farmacéutica de Atención Primaria.

Vocales

M² Cristina Arijón Barazal. Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Raúl Franco Gutiérrez. Médico especialista en Cardiología.

Jesús Fernández Álvarez. Miembro lego.

Ricardo García Martínez. Licenciado en Derecho.

Ana M² Hermida Cao. Farmacéutica especialista en Farmacia Hospitalaria

Yago Leira Feijoo. Licenciado en Odontología.

Eva Marcos Doldán. Analista-programadora.

Jesús Prego Domínguez. Enfermero.

Carlos Rodríguez Moreno. Médico especialista en Farmacología Clínica.

Juan Manuel Vázquez Lago. Médico especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública.

Para que conste donde proceda, y a petición de quien proceda, en Santiago de Compostela,

La Secretaria del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago Lugo,



ANEXO 3: Aprobación del Comité Ético de Investigación de Granada del estudio llevado a cabo en Capítulo IV.

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

DD^a. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO como secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Hacia la eliminación de la hepatitis C en los pacientes con Trastorno Mental Grave ,
(TMG y Hepatitis C)
Protocolo, Versión: 01
HIP, Versión: 01
CI, Versión: 01

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Granada a 14/01/2020

DD^a. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO, como Secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada



Código Seguro De Verificación:	8241971de291d056be54feee33bc45406843b2aa	Fecha:	14/01/2020
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por:	Cristina Lucia Davila Fajardo		
Url De Verificación:	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaleeticoa/xhtml/ayuda/verifica?FirmaDocumento=iFace/code/8241971de291d056be54feee33bc45406843b2aa	Página:	1/3



CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 28/10/2019 y recogida en acta 12/19 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Hacia la eliminación de la hepatitis C en los pacientes con Trastorno Mental Grave (TMG y Hepatitis C)
 Protocolo, Versión: 01
 HIP, Versión: 01
 CI, Versión: 01

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

Presidente/a

D/D^a. José Darío Sánchez López

Vicepresidente/a

D/D^a. Francisco Manuel Luque Martínez

Secretario/a

D/D^a. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO

Vocales

D/D^a. ANTONIO JUAN PÉREZ FERNÁNDEZ
 D/D^a. ESTHER MOLINA RIVAS
 D/D^a. Encarnación Martínez García
 D/D^a. Jesús Martínez Tapias
 D/D^a. Juan Ramón Delgado Pérez
 D/D^a. Berta Gorlat Sánchez
 D/D^a. José Cabeza Barrera
 D/D^a. Juan Mozas Moreno
 D/D^a. José Uberos Fernández
 D/D^a. MARIA ESPERANZA DEL POZO GAVILAN
 D/D^a. José Antonio López Escámez
 D/D^a. MAXIMILIANO OCETE ESPINOLA
 D/D^a. Joaquina Martínez Galán
 D/D^a. AURORA BUENO CAVANILLAS
 D/D^a. Paloma Muñoz de Rueda
 D/D^a. Manuel Gálvez Ibáñez
 D/D^a. Esther Espinola García
 D/D^a. ANTONIO MORALES ROMERO
 D/D^a. FRANCISCO LUIS MANZANO MANZANO
 D/D^a. MIGUEL LÓPEZ GUADALUPE
 D/D^a. JUAN ROMERO COTELO
 D/D^a. JOSÉ LUIS MARTÍN RODRÍGUEZ
 D/D^a. JUAN DIAZ GARCIA
 D/D^a. LUIS MIGUEL DOMENECH GIL
 D/D^a. Luis Javier Martínez González
 D/D^a. JESÚS CARDONA CONTRERAS
 D/D^a. Pilar Guijosa Campos
 D/D^a. José Luis Martín Ruiz
 D/D^a. MANUEL MARTIN DIAZ
 D/D^a. Sonia Domínguez Almendros
 D/D^a. MARIANA FÁTIMA FERNÁNDEZ CABRERA



Código Seguro De Verificación:	8241971d056be54f0e33bc45406843b2aa	Fecha:	14/01/2020		
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.				
Firmado Por:	Cristina Lucia Davila Fajardo				
Url De Verificación:	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldesetica/xhtml/ajorda/verificafirmaDocumento.iface/code/8241971d056be54f0e33bc45406843b2aa	Página:	2/3		

D/D^a. MARÍA DOLORES GARCÍA VALVERDE


Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Lo que firmo en Granada a 14/01/2020



Código Seguro De Verificación:	8241971de391d056be54f5ee33bc45406843b2ea	Fecha:	14/01/2020	
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
Firmado Por:	Cristina Lucia Davila Fajardo			
Url De Verificación:	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldesitica/xhtml/ajuda/verificacofirmaDocumento.iface/code/8241971de391d056be54f5ee33bc45406843b2ea	Página:	3/3	

ANEXO 4: Aprobación del Comité Ético de Investigación de IRB del Ministerio de Salud de Jordania/Hospital de Basheer (IRB nº Moh/REC/2019/213) del estudio llevado a cabo en Capítulo V.


وزارة الصحة

الرقم Moh/REC/2019/213
التاريخ
الموافق

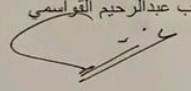
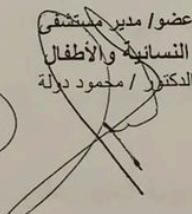
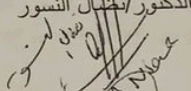
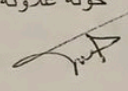
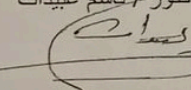
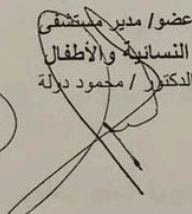
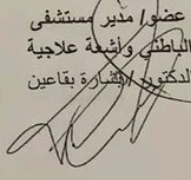
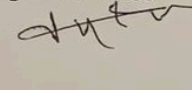
قرار لجنة أخلاقيات البحث العلمي

اجتمعت لجنة أخلاقيات البحث العلمي بتاريخ ٢٤/١١/٢٠١٩ لمناقشة ودراسة البحث العلمي المقدم من قبل قسم البحث العلمي في مختبر بيولاب الطبي برئاسة الدكتور عيسى ايوب ابو دية وبالتعاون مع جامعة غرانادا الاسبانية .

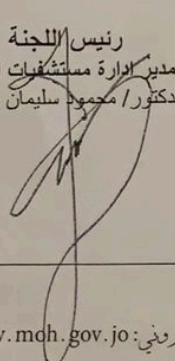
بعنوان

"دراسة جزيئية لسلاسل فيروس الكبد الوبائي (ج) لدى الاردنيين واستجاباتها للعلاج"

وعليه تم التوقيع بالموافقة من قبل اعضاء اللجنة باجراء الاستبيان وسحب العينات اذا لم يتعارض مع رغبة المريض وتزويد اللجنة بالموافقة الخطية للمرضى قيد الدراسة وبما ينسجم مع اخلاقيات البحث العلمي وذلك بعد مراعاة المعايير العالمية والاخلاقية المعمول بها حسب الاصول .

<p>عضو / مدير الشؤون الادارية والمالية غالب عبدالرحيم القواسمي</p> 	<p>عضو/مدير مستشفى الاسعاف والطوارئ الدكتور/ عقب الرواحنه</p> 	<p>عضو مدير التمريض الدكتور/ نضال النصور</p> 	<p>مقرر اللجنة/ رئيس وحدة تنمية الموارد البشرية خولة علاونة</p> 
<p>عضو / مدير مستشفى الجراحة وج. التخصصية الدكتور / قاسم عبيدات</p> 	<p>عضو/ مدير مستشفى النسائية والأطفال الدكتور / محمود بدلة</p> 	<p>عضو/ مدير مستشفى الباطني وأشعة علاجية الدكتور/ هشارة بقاعين</p> 	<p>عضو المدير الطبي الدكتور/ جمال حمدان</p> 

رئيس اللجنة
مدير ادارة مستشفيات البشير
الدكتور/ محمود سليمان زريقات



المملكة الأردنية الهاشمية

هاتف: ٠٢٣٠٠٥٢٠٠٢٣٠ فاكس: ٠٢٣٠٠٥٢٠٠٢٣٠ ص.ب. ٨٦ عمان ١١١١٨ الأردن . الموقع الإلكتروني: www.moh.gov.jo

