

112361

Facultad de Medicina



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado e Investigación

Subdivisión de Especialidades Médicas

Instituto Mexicano del Seguro Social

Centro Médico Nacional Siglo XXI

Hospital de Cardiología

Prevalencia de infección por Virus de la Hepatitis C
(VHC) de acuerdo a genotipo en candidatos a donadores
de sangre

Tesis

Para obtener el grado de ESPECIALISTA EN PATOLOGIA CLINICA

Presenta:

Gamaliel Benítez Arvízu

Asesores:

Dr. Rudyard Cortez Gómez

Dra. Rosa María García Escamilla



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

México DF

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

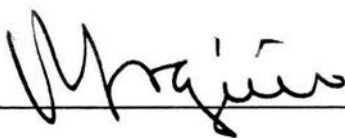
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

...*“siervos inútiles somos, pues lo que debíamos hacer, hicimos”.*

Lucas 17:10.

Agradezco a todos los que hicieron posible la realización de este trabajo,
porque hechos son amores y no bellas razones.

Vo.Bo. _____



Dr. Rubén Argüero Sánchez

Director del Hospital de Cardiología

Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

Vo.Bo. _____

Dr. Juan Carlos Necochea Alva

Director de Educación e Investigación Médica

Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS

Vo.Bo. _____



Dra. Rosa María García Escamilla

Profesor Titular del Curso Universitario de Posgrado en

Patología Clínica de la Universidad Nacional Autónoma de

México



HOSP. DE CARDIOLOGIA
C.M.N. SIGLO XXI
COORDINACION CLINICA DE EDUCACION
E INVESTIGACION EN SALUD

Índice:

Título	-----	1.
Agradecimiento	-----	2.
Hoja de firmas	-----	3.
Indice	-----	4.
Hoja de Presentación	-----	5.
Resumen	-----	6.
Introducción	-----	8.
Antecedentes Científicos	-----	10.
Planteamiento del Problema	-----	25.
Objetivos	-----	26.
Material y Método	-----	26.
Descripción de Variables	-----	26.
Criterios de Selección: Inclusión, Exclusión y Eliminación	-----	27.
Tamaño de la Muestra	-----	28.
Análisis Estadístico	-----	28.
Aspecto Ético	-----	28.
Recursos Financieros	-----	29.
Metodología	-----	29.
Resultados	-----	31.
Gráficas y Cuadros	-----	33.
Discusión	-----	38.
Conclusiones	-----	40.
Bibliografía	-----	41.
Anexos	-----	44.

Facultad de Medicina



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado e Investigación

Instituto Mexicano del Seguro Social

Centro Médico Nacional Siglo XXI

Hospital de Cardiología

Dirección de Enseñanza e Investigación

Banco Central de Sangre Centro Médico Nacional "La Raza"

**Prevalencia de infección por Virus de la Hepatitis C
(VHC) de acuerdo a genotipo en candidatos a donadores
de sangre**

Tesis de posgrado

Para obtener el diploma de especialista en
Patología Clínica.

Presenta: Gamaliel Benítez Arvizu

Asesores:

Dr. Rudyard Cortez Gómez*

Dra. Rosa María García Escamilla**

*Jefe del Laboratorio Clínico del Hospital de Traumatología y Ortopedia
"Magdalena de las Salinas" IMSS.

**Titular de la especialidad de patología clínica IMSS/UNAM.



México, DF

2004

Resumen.

Título: Prevalencia de infección por Virus de la Hepatitis C (VHC) de acuerdo a genotipo en candidatos a donadores de sangre.

Benítez Arvízu G.; Cortez Gómez R.; García Escamilla R.M.

Palabras claves: Hepatitis C, Genotipos, Disponentes Sanguíneos.

Introducción: La Hepatitis C es una pandemia a nivel mundial la cual se ha observado como causa de hepatitis y cirrosis ajena al alcoholismo, además de favorecer el desarrollo de cáncer hepático por lo que reviste suma importancia conocer la prevalencia de esta entidad en la población mexicana en este caso los usuarios del Banco Central de Sangre CMN "La Raza" IMSS y al mismo tiempo conocer los genotipos, esto es importante ya que se ha observado diferencias en la evolución de la enfermedad dependiendo del mismo.

Objetivos: Conocer la prevalencia de la infección por VHC en forma general de acuerdo a genotipos e identificar el genotipo viral en sujetos asintomáticos portadores de infección crónica por este virus candidatos a donadores de sangre con fines terapéuticos del Banco Central de Sangre (BCS) del Centro Médico Nacional "La Raza" del Instituto Mexicano Seguro Social (IMSS).

Material y Métodos: Se obtuvo una muestra de suero de todo disponente sanguíneo que acudió al Banco de Sangre del Centro Medico La Raza IMSS de lunes a viernes durante el turno matutino del 15 de enero al 27 de febrero del 2004; eliminando los mecanismos de exclusión inicial para que posterior a la extracción de la muestra se aplicaran estos en cumplimiento de la NOM-003-SSA2-1993 de disponentes de sangre con fines terapéuticos. Una vez obtenidas las muestras se separó el suero en alícuotas para su análisis por quimioluminiscencia, las muestras que resultaron positivas se sometieron a RIBA (*Recombinant Immuno-Assay*) como prueba confirmatoria para posteriormente, las positivas, ser sometidas a PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) cualitativa. Una vez magnificado el material genético se realizó la determinación de los genotipos por identificación en *5'UnTranslatedRegion* por medio de *Line Immuno Probe Assay* (LiPA).

Resultados: Se obtuvieron 5105 muestras. De las 5105 (100%) muestras procesadas 3444 (67.5%) pertenecieron a disponentes aceptados para donar. 2866 hombres (56.2%), 578 mujeres (11.3%); mientras que 1661 (32.5%)

fueron disponentes rechazados, 912 (17.85%) hombres, 749 (14.65%) mujeres. De las muestras de individuos rechazados para donación tenemos que 55% pertenece a hombres y el 45% a mujeres. De las pruebas realizadas se encontraron 28 muestras positivas por quimioluminiscencia, de las cuales al ser sometidas a RIBA resultaron positivas 10, y solo 9 fueron positivas a PCR.

Se obtuvo una prevalencia por RIBA 0.195% (10/5105); comparando el número de disponentes positivos a VHC entre los rechazados: 7/1661 (0.421%), y los aceptados 3/3444 (0.087%), se encontró un RR = 4.8 con $p = 0.017$.

Los resultados para PCR: rechazados 6/1661 (0.361%), aceptados 0.087% (3/3444), encontrándose un RR = 4.16 con $p = 0.03$.

El genotipo viral 2 fue el más frecuente 60% ($n = 6$; 2 subtipo 2b y 4 sin determinar subtipo). Una combinación de 1a/1b se presentó en el 30 % ($n = 3$) el 10% restante no fue posible determinar el genotipo ($n = 1$).

Conclusiones: La prevalencia de hepatitis C en nuestra población estudiada es considerablemente menor que la prevalencia internacional notificada en 3%.

El genotipo 2 fue el más frecuente a diferencia de otros estudios en donde el genotipo mas frecuente fue el 1 y sus subtipos, probablemente debido a que este genotipo es el que se le a relacionado con cuadros mas severos de hepatitis crónica, cirrosis y cáncer hepático; varios de estos estudios fueron realizados en estas poblaciones,

El grupo de rechazados tuvo un mayor número de positivos a VHC por lo que se infiere que la adecuada selección del donador de sangre es importante para disminuir el riesgo de transmisión de esta infección por transfusión sanguínea.

Los genotipos encontrados corresponden a los informados en la literatura para América Latina.

Introducción: La hepatitis C es una de las pandemias más importantes en el mundo, aproximadamente el 3% de la población mundial se encuentra infectada por el Virus de la Hepatitis C (VHC), cerca de 170 millones de portadores crónicos (1) lo que representa una pandemia 5 veces mayor que la causada por el VIH. La adquisición de esta enfermedad es por medio de la transfusión de productos sanguíneos contaminados con VHC, por el uso de agujas contaminadas (adictos a drogas intravenosas) y por punciones accidentales en el personal que maneja muestras sanguíneas de pacientes infectados con el VHC; la transmisión vertical sucede en el 3% al 7% de niños nacidos de madres VHC positivas, mientras que la transmisión por contacto sexual no se ha documentado de manera formal (2). En esta entidad la forma aguda es asintomática (3) por lo que dificulta el estudio de su prevalencia en la población. La enfermedad a pesar de cursar como asintomática evoluciona a la cronicidad en 85% de los individuos infectados, el 20% desarrollara cirrosis en un promedio de 30 años y una vez desarrollada el riesgo de Carcinoma Hepatocelular (CH) aumenta, teniendo una incidencia anual de 1.5%-3.3%, esta es mayor si se asocia con el consumo de alcohol; siendo la falla hepática secundaria a hepatitis C la principal causa de Transplante Hepático en el mundo industrializado (4,5).

Se ha observado que el comportamiento clínico de la enfermedad no es el mismo de un individuo a otro lo que llevó al análisis del agente causal aislando así 6 diferentes tipos de genotipos de los cuales el más importante para la clínica es el tipo 1 (6,7). Actualmente contamos con diferentes herramientas diagnósticas; las que podemos dividir en inmunoensayos ya sea para la búsqueda de anticuerpos ó de antígenos y pruebas moleculares en donde se

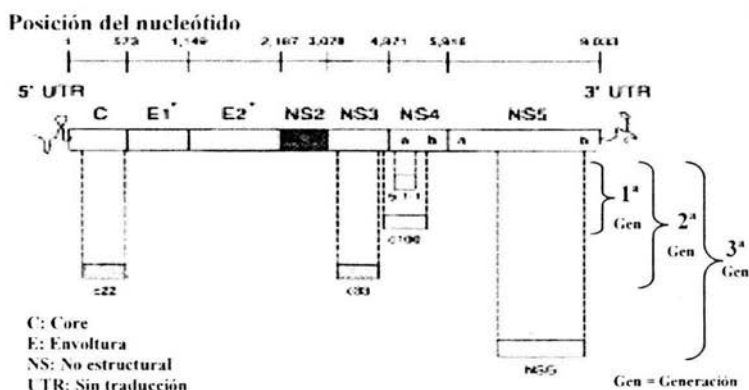
magnifica el material genético del virus (8,9,10). Probablemente no exista una enfermedad donde el monitoreo de la función hepática, la biopsia hepática y la carga viral jueguen un papel tan ponderante para el seguimiento de los pacientes y el pronóstico de la enfermedad (3,4,5,11,12). El Interferón alfa (INF- α) se convierte junto con la Rivabirina en las dos armas terapéuticas para disminuir la actividad de la enfermedad, en los últimos años el desarrollo del Interferón pegilado el cual consta de asociar una molécula de etilenglicol al Interferón lo que modifica su vida media, facilitando los esquemas de dosificación mejorando la respuesta terapéutica al permitir niveles óptimos del Interferón (2,3,13,14,15).

En México se han realizado pocos estudios con respecto a esta entidad, este estudio observa la prevalencia de VHC en la población que acude al Banco Central de Sangre Centro Medico "La Raza" IMSS, segundo Banco de Sangre más grande de Latinoamérica.

Antecedentes científicos:

Virus Hepatitis C: La identificación de este virus es de una importancia especial ya que fue el primer virus descubierto por técnicas de clonación molecular y sin el uso directo de métodos biológicos o biopsias; en 1989 fue clonado del plasma de un chimpancé infectado por concentrado de factor VIII contaminado con VHC (16); posteriormente se ubica en la familia *Flaviviridae* que incluye al virus de la fiebre amarilla y al virus del dengue. Esta familia se conoce que utilizan vectores (picaduras de insectos) para su propagación, a excepción del VHC, todos los miembros son virus ARN envueltos, de cadena sencilla en sentido positivo 5' a 3', su genoma codifica dos tipos de proteínas: Estructurales (E) y no estructurales (NS) (17).

Fig.1; Estructura del VHC y generaciones de las pruebas diagnósticas.



Clin Microbiol Rev 2000; 223-235.

El VHC pertenece a esta familia de virus bajo el subgénero de los *Hepaticivirus* cuyo genoma viral es una molécula de aproximadamente 9.5Kb que posee una región de lectura abierta (*open reading frame*) que codifica para una poliproteína simple; el genoma viral se encuentra flanqueado en su

porción 5' y 3', conocidas como 5'UTR (*5'untranslated region*) y 3'UTR (*3'untranslated region*), siendo la región 5'UTR lo que permite la identificación de los distintos genotipos (*Simmonds et al* clasifican al virus de la hepatitis C en seis principales genotipos y varios subtipos mediante análisis filogenético [18]), dentro de esta región cuenta un segmento que interactúa directamente con el ribosoma de la célula hospedera, permitiendo la síntesis proteica viral, conocido como IRES (*Internal Ribosomal Entry Site*); durante la síntesis del virus se han identificado las siguientes proteínas: Core, E1, E2 (Envelope) que son estructurales; NS2,NS3,NS4a,NS4b,NS5a,NS5b, estas no estructurales (NS:No Structural), mientras 3'UTR no se ha logrado la identificación de su función (11,17,19,20,21,22). Las proteínas E1 y E2 son glicoproteínas que forman la mayor parte de la envoltura viral y se postula que la proteína E2 es la región con mayor variación del genoma del VHC, estas glicoproteínas son liberadas de la poliproteína viral durante la síntesis proteica viral por peptidasas del hospedero; Core igualmente es liberada de la poliproteína por una peptidasa del hospedero, esta proteína tiene la característica de ser altamente básica, observaciones recientes en modelos *In Vitro* sugieren que participan en la inhibición de la apoptosis de la célula infectada.(3,6,7,17,19,20,21,22). Las proteínas no estructurales funcionan principalmente como autoproteasas; la proteína NS2 posee función de proteasa, NS3 es una serin proteasa (además de funcionar como helicasa) clave en el proceso de maduración de las demás proteínas NS, además cumplen funciones enzimáticas: NS4a proteasa, NS5b RNA polimerasa dependiente de RNA; la NS5a se observado que participa en la respuesta al tratamiento con INF-alfa por lo que se le ha designado como determinante de

tratamiento con INF-alfa por lo que se le ha designado como determinante de sensibilidad al interferón (*Interferon Sensibility Determining Region* ó *ISDR*). Actualmente permanece por definir la importancia de 3'UTR (3,20,21,22). La división en genotipos surge como necesidad debido a la variación del genoma viral en diferentes aislamientos a través del mundo por lo que en 1994 se realiza la 2ª conferencia internacional de VHC y virus relacionados donde se llega al acuerdo de crear un sistema de clasificación con base en la similitud en la secuencia de nucleótidos de los virus aislados (6). En este evento se definieron los conceptos de genotipo, subtipo y cuasiespecie (cuadro 1), el número de genotipo se asignó en el orden de su descubrimiento con número arábigo y los subtipos se asignaron con letras (cuadro 2 y 3).

Cuadro. 1 Definiciones de genotipo, subtipo y cuasiespecie.

Termino	Definición	% Similitud de Nucleótidos
Genotipo	Aislamiento de VHC con heterogeneidad genética.	65.7-68.9%
Subtipo	Aislamientos relacionados dentro de los genotipos	76.9-80.1%
Cuasiespecie	Complejo de variaciones genéticas dentro de un aislamiento individual (mismo paciente)	90.8-99%

Clin Microbiol Rev 2000: 223-235.

Cuadro. 2 Análisis de similitud en la secuenciación de 220 nucleótidos del segmento 5'UTR.

Subtipo	% de similitud											
	1a	1b	1c	2a	2b	2c	3a	3b	4a	5a	6a	
1a	100	81	85	65	66	63	67	66	68	69	64	
1b		100	77	64	67	64	67	71	64	70	65	
1c			100	68	70	67	65	70	64	61	61	
2a				100	82	77	67	67	66	66	62	
2b					100	81	64	65	65	67	65	
2c						100	64	65	65	67	65	
3a							100	79	65	67	64	
3b								100	66	68	61	
4a									100	66	62	
5a										100	62	
6a											100	

* Nucleotide positions 2475 to 2496 of the prototype virus.

Clin Microbiol Rev 2000: 223-235

Cuadro. 3 Clasificación del VHC por diferentes investigadores.

Okamoto et al. (96)	Enomoto et al. (98)	Simmonds et al. (115)	Chia et al. (17)	Consensus ^a (Simmonds et al., Letter)	Aislamientos
I	PT	1a	I	1a	HCV-1, HCV-11
II	K1	1b	II	1b	HCV-3, HCV-3T, HCV-BK
				1c	HCV-G9, YS-117
III	K2a	2a	III	2a	HCV-J6, HCV-J5, HCV-K2a
IV	K2b	2b	III	2b	HCV-J8, HCV-J7, HCV-K2b
			III	2c	S-83, T-893
V		3	IV	3a	HCV-K3a, T-1, T-7
VI			IV	3b	HCV-TR, T-9, T-10
		4		4a	Z4, Z8, Z5, Spr1, Spr2, N5, Cam000, Z1, N1, N2, DK1
			V	5a	SA-1, SA-7
				6a	HK-2

Clin Microbiol Rev 2000: 223-235.

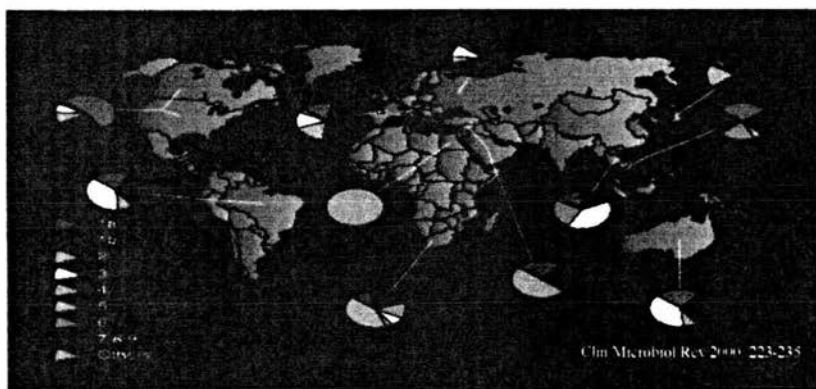
La respuesta al tratamiento varía de genotipo a genotipo de ahí la importancia de su identificación.

Epidemiología: El VHC es un virus con distribución cosmopolita, se consideran infectados en el mundo cerca de 170 millones de personas, aproximadamente el 3% de la población mundial, tan solo en los Estados Unidos de Norteamérica se estima una prevalencia de 1.8%, que existen aproximadamente 4 millones con infección crónica por VHC, adjudicándosele de 8,000 a 10,000 muertes anuales en este país por enfermedad hepática terminal (2,3,6,10,11,23,24).

La prevalencia del VHC varía de continente a continente y de genotipo a genotipo. Los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 2c y 3c son responsables del 90% de las infecciones en Europa, Estados Unidos de Norteamérica y Japón, Europa presenta un predominio del genotipo 3 en adictos a drogas intravenosas; el genotipo 4 se encuentra en medio oriente principalmente en Egipto con una prevalencia del 24% (predominando el 4a), asociado esto al programa de tratamiento de la esquistosomiasis donde se utilizan agujas recicladas para la aplicación de antimoniales; el genotipo 5 localizado en Sudáfrica y el 6 en

Asia principalmente en Hong Kong (1,6,7,18) existe en la literatura hallazgos de los genotipos 7,8,9, aislados solamente en pacientes vietnamitas por lo que actualmente se consideran variantes del genotipo 6 al igual que los genotipos 10 y 11 aislados en Indonesia (6).

Fig. 2: Distribución geográfica y predominio de los genotipos de VHC



Los principales factores de riesgo para la adquisición de VHC son: Transfusiones de sangre y de sus productos antes de 1990, el uso de drogas intravenosas donde el 80% de quienes consumen son VHC positivos de los 6 a 12 meses de haber iniciado, la transmisión de madre a hijo durante el nacimiento es menor al 5% pero esta transmisión se ve favorecida si la madre es VIH positiva, el riesgo profesional por lesión con punzocortantes en trabajadores de la salud se estima en 3%, otros factores que no se han logrado determinar su participación son: tener escolaridad menor de 12 años, estado civil divorciado ó separado. De cada 4 pacientes detectados 3 tienen viremia al momento del diagnóstico; la transmisión por seno materno no se ha

informado y la transmisión por vía sexual no se ha logrado demostrar de forma definitiva (1,3,21,25).

Debido al establecimiento de pruebas de escrutinio en los bancos de sangre de todo el mundo, se ha reducido notablemente el riesgo de transmisión de la infección por transfusión sanguínea en los países desarrollados siendo de 1/103,000 unidades (1,3,21).

En el Banco Central de Sangre del CMN "La Raza" IMSS de 81,122 donadores atendidos durante el año 2002, 510 resultaron positivos para VHC por inmunoensayo con quimioluminiscencia y 122 fueron corroborados por RIBA, lo que significa una prevalencia de 0.6286 % (datos del BCS), que es mucho menor a la notificada por los Estados Unidos de Norteamérica en la población general de 1.8% (3). Por otro lado, en el mismo Banco de Sangre del CMN la Raza la prevalencia de infección por VHC en pacientes hemofílicos es de 18.8% (26).

En un estudio realizado en Lagos de Moreno y La Barca en el estado de Jalisco en dos bancos de sangre durante 1995 y 1998 se encontró una prevalencia de VHC en donadores de sangre mediante ELISA de tercera generación de 0.082% y 0.27% respectivamente. En este estudio se evaluaron 2,439 donadores en Lagos de Moreno y 1465 en la Barca (27). Otros estudios analizan la prevalencia de hepatitis C en México, por ejemplo, en un estudio realizado en Durango en 1996 se encontró una prevalencia de 1.47% en donadores de sangre, mientras que otro estudio realizado en el Distrito Federal en el Hospital central Militar se encontró una prevalencia de 0.47% también en donadores voluntarios (28,29).

Sin embargo, cabe destacar que estos estudios evalúan la prevalencia de la infección en donadores de sangre, mismos que han sido sometidos a un proceso de selección previo que precisamente tiene la finalidad de aceptarlos solo cuando son considerados de bajo riesgo de acuerdo a sus antecedentes, como está determinado en la Norma Oficial Mexicana para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos (NOM-003-SSA2-1993) que es de observancia obligatoria en todo el país.

En un estudio multiregional en 419 sujetos con diagnóstico establecido de infección por VHC realizado entre 1998 y 2002 se concluye que el 70 por ciento de los pacientes estaban infectados por el genotipo 1, donde el genotipo 1b fue el más frecuente (40.81% del total), el genotipo 1a representó el 18.3%, mientras que el 11.45% presentaban infección mixta 1a/1b. En este estudio se realizó determinación de genotipos en sujetos ya diagnosticados como portadores de infección por VHC crónica con la finalidad de incluirlos en algún protocolo de tratamiento con interferón pegilado alfa 2b, por lo que no fueron captados como población abierta (Dehesa-Violante M, et al GRUPO MEXICANO DE ESTUDIO DE PEGASYS® Roche. Prevalencia de genotipos de virus de la hepatitis C en pacientes mexicanos -no publicado-).-comunicación personal.

Características clínicas y curso natural de la enfermedad

Tras la inoculación con el VHC, el virus tiene como blancos naturales a los hepatocitos y posiblemente los linfocitos B por asociarse con CD38 (3,19). Una vez en las células blanco la replicación viral es extremadamente intensa (aún en la fase crónica de la infección) y se calcula en más de 10 trillones de partículas producidas por día. La mayoría de los individuos recién infectados

no presentan síntomas y los que llegan a presentar sintomatología la presentan en un promedio de 2 a 8 semanas (rango de 2 a 26 semanas) caracterizada por ictericia, malestar general, astenia, adinamia y náusea (2,3,5). Al VHC se ha vinculado con lipoproteínas LDL y VLDL a las cuales se une, lo que facilita su arribo a los hepatocitos debido a la vía metabólica de las mismas (3,19). La replicación es efectuada por medio de una polimerasa carente de función de corrección de lectura, condicionando así la formación de mutantes del virus (cuasiespecies) pero no todos los mutantes formados sobreviven, y los que lo hacen algunos son infectantes y otros no; de los virus mutados infectantes repiten el fenómeno una y otra vez lo que condiciona la emergencia de diferentes clases de cuasiespecies en un mismo paciente (7,30,31). Como ocurre en la infección por VIH esto representa un gran reto para el establecimiento de un control inmunológico adecuado por parte del sistema del individuo infectado. Es extremadamente raro que ocurra una hepatitis fulminante en la etapa inicial. La infección evoluciona hacia la cronicidad en la mayoría de los casos, con periodos asintomáticos muy prolongados. Entre 74% y 86% de los pacientes presentarán una viremia persistente. Desde el inicio de la infección y el desarrollo de complicaciones pueden transcurrir hasta 30 años. La mayoría de las personas con una infección primaria evolucionarán hacia la cronicidad y la eliminación del virus en forma espontánea es extraordinariamente infrecuente. Entre 15% y 20% de los infectados se desarrollará cirrosis. Una vez que se desarrolla cirrosis, el riesgo de carcinoma hepatocelular es de 1-4% por año. Puede ocurrir carcinoma hepatocelular sin cirrosis pero es raro (2,3,5).

El mecanismo por el cual el hígado se ve dañado se ha vinculado con el sistema inmune basado en las siguientes observaciones:

- 1.-Los virus citopáticos rara vez producen infecciones crónicas.
- 2.-La histología del hígado infectado con VHC se caracteriza por un infiltrado linfocitario sin cambios citopáticos de los hepatocitos.
- 3.-Infectados con VHC presenta viremia con niveles normales de aspartato amino transferasa (AST) y alanino amino transferasa (ALT).

El daño al hígado parece ser consecuencia de una respuesta Th1 que condiciona la apoptosis de los hepatocitos afectados por medio de efecto de las células citotóxicas al reconocer diferentes epítopes de las proteínas virales (30,32).

Además de la alta tasa de replicación viral, de la formación de cuasiespecies por mutación dentro de un mismo hospedero, el virus es capaz de evadir el sistema inmune por medio de la formación de proteínas que bloquean el adecuado funcionamiento del interferón por inhibir la síntesis de una proteína quinasa conocida como PKR mediante la interacción de la región NS5A, esto varía de genotipo a genotipo observando mayor resistencia en el tipo 1b por lo que es de vital importancia el conocimiento del genotipo por el valor predictivo que representa en relación a la respuesta terapéutica, con mejores respuestas para los genotipos 2 y 3. (2,3,6,7,12,19,30,31,32).

Pruebas diagnósticas para VHC

Las pruebas diagnósticas disponibles pueden clasificarse en ensayos serológicos para detectar anticuerpos y pruebas moleculares para identificar partículas virales, así como también ensayos de biología molecular.

Pruebas diagnósticas para VHC

Las pruebas diagnósticas disponibles pueden clasificarse en ensayos serológicos para detectar anticuerpos y pruebas moleculares para identificar partículas virales, así como también ensayos de biología molecular.

La prueba inicial de tamizaje para buscar infección por VHC es la prueba de inmunoensayo enzimático (EIA), de las cuales se han desarrollado hasta ahora tres versiones o generaciones con cada vez mayor sensibilidad. Las pruebas de EIA actuales detectan anticuerpos contra las proteínas no estructurales 3 y 4 (la de tercera generación también detecta anticuerpos contra la proteína 5 no estructural), y pueden detectar anticuerpos desde 4 a 10 semanas después de la infección, tiempo conocido como período de ventana. Una variante de los inmunoensayos tipo *sándwich* es la que utiliza anticuerpos (anti Fab'2) conjugados con una sustancia quimioluminiscente como la acridina en vez de una enzima para facilitar la determinación cuantitativa de anticuerpos producidos en contra de los antígenos virales. Puede tener resultados falsos positivos, por lo que es indispensable confirmar los resultados con pruebas con mayor especificidad como las pruebas de *immunoblot* recombinante (RIBA). Utiliza antígenos semejantes a de las pruebas serológicas, pero identifica respuestas específicas de anticuerpos a varias proteínas particulares. Una prueba positiva es aquella que detecta anticuerpos contra dos o más antígenos. Cuando el resultado es contra un solo antígeno la prueba se considera indeterminada.

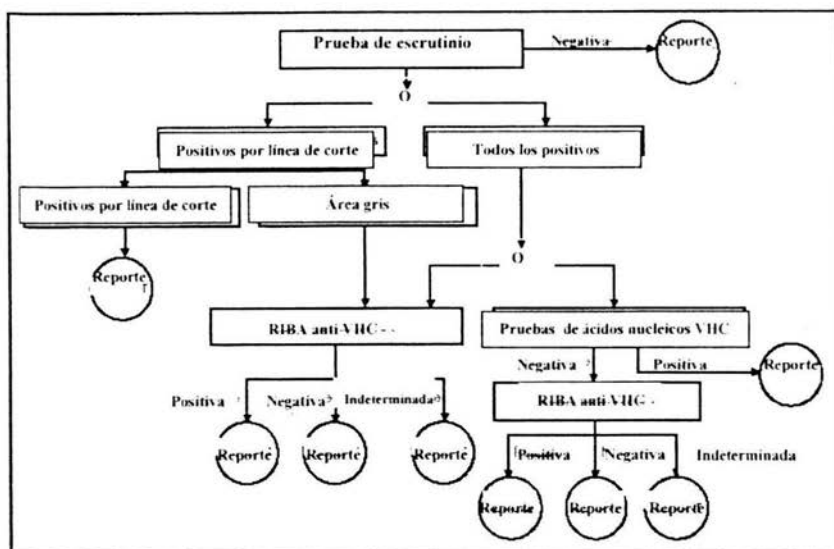
Las pruebas que detectan molecularmente el RNA viral del VHC tienen como fundamento la ampliación de regiones del genoma viral mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) y pueden ser clasificadas como cualitativas o

respuesta al tratamiento. Esta prueba cualitativa también está indicada en aquellos pacientes con resultados negativos por EIA y que se sospeche altamente una infección aguda, en pacientes con hepatitis de causa no identificable y en aquellos con factores conocidos que favorezcan resultados falsos negativos en las pruebas de anticuerpos.

La PCR cuantitativa, o carga viral es de gran importancia para evaluar la evolución en los pacientes con tratamiento anti VHC. La genotipificación viral ayuda a predecir los resultados del tratamiento e influye en los tipos de regímenes terapéuticos. Existen diferentes métodos, muchos de los cuales se basan en amplificación por métodos de PCR. Algunos ejemplos son el LiPA (*Line immunoprobe assay*), o el ensayo RFLP (*restricción fragments length polimorfism*).

El Centro para el Control de Enfermedades o CDC (*Center Disease Control*) publica recomendaciones para la interpretación de resultados en los laboratorios los cuales se resumen en los siguientes cuadros:

Cuadro 3.- Algoritmo para la interpretación de resultados en pruebas VHC.



MMWR 2003; 52 (RR-3); 1-15

Cuadro 4.- Interpretación de los resultados de pruebas para VHC

Prueba escrutinio	Prueba suplementaria	Interpretación	Comentarios
Negativa	No aplicable	Anticuerpos anti HVC negativos	No infección
Positiva proximita al área gris	No realizar	Anti-HVC positivos	Infección pasada o presente. Las pruebas suplementarias pueden resultar falsas positivas.
Positiva	RIBA Positivo	Anti-VHC positivos	Infección presente o pasada
Positiva	RIBA Negativo	Anti-VHC negativo	No infección
Positiva	RIBA Indeterminado	Anti-VHC indeterminado	No se puede definir presencia o ausencia de infección. Repetir en un mes o realizar Biología Molecular
Positiva	Biología Molecular Positivo	Anti-VHC positivos RNA VHC positivo	Infección activa de VHC
Positiva	Biología Molecular Negativo. RIBA Positivo	Anti-VHC positivos RNA VHC negativo	Infección antigua o presente, RNA negativo no excluye la infección
Positiva	Biología Molecular Negativo. RIBA Negativo	Anti-VHC negativo RNA VHC negativo	No infección
Positiva	Biología Molecular Negativo. RIBA Indeterminado	Anti-VHC indeterminado RNA VHC negativo	Examen probablemente falso positivo. No infección

MMWR 2003; 52 (RR-3); 1-15

En la actualidad, solamente tiene relevancia clínica la distinción entre los genotipos 1, 2 y 3. (3,8,9,10,16,33,34,35,36).

Aunque el estándar de oro para documentar daño hepático es la biopsia, en los últimos años se ha propuesto el manejo de marcadores bioquímicos, para definir fibrosis como es alfa 2 macroglobulina, haptoglobulina, gammaglobulina, apolipoproteína A1, gamma glutamiltranspeptidasas y bilirrubinas totales, conocidos comercialmente como *fibrotest* y *activetest* (37).

Genotipos virales y tratamiento

Los objetivos del tratamiento de la hepatitis C crónica son: a) disminuir la carga viral a tal grado que el sistema inmunológico pueda erradicar al virus, o b) al menos inhibir su replicación en forma sostenida, c) normalizar el nivel de las transaminasas y disminuir total o parcialmente la actividad inflamatoria tisular hepática, para evitar en lo posible el desarrollo de cirrosis y carcinoma hepatocelular.

Desde antes de la identificación del VHC, se utilizaba el interferón alfa para el tratamiento de la hepatitis no-A, no-B. Esta citocina es producida fisiológicamente por una gran variedad de células, incluso no inmunológicas y tiene la capacidad de interferir con la replicación viral en células vecinas, de ahí el nombre de interferón. En principio, todos los pacientes con infección por VHC son candidatos a tratamiento antiviral, sin embargo se deben evaluar individualmente los riesgos y los beneficios en cada paciente. Solo un grupo pequeño de pacientes tendrán una indicación clara de tratamiento, y son aquellos con niveles detectables de RNA VHC, niveles persistentemente elevados de transaminasas y biopsia de hígado que muestre fibrosis o al menos

necrosis moderada e inflamación. Estos pacientes tienen un riesgo aumentado de progresión. Los pacientes con transaminasas elevadas pero con cambios mínimos inflamatorios en el hígado por biopsia podrían también recibir tratamiento, pero el riesgo de progresión en este grupo es pequeño, y una alternativa razonable sería un seguimiento seriado de los niveles de las transaminasas y otra biopsia en 3 a 5 años (3,6,7,12,15,19). Los pacientes con niveles de transaminasas normales y sin cambios inflamatorios o necróticos por biopsia presentan un pronóstico excelente sin tratamiento. La monoterapia con interferón alfa se ha asociado con tasas de respuesta inicial de hasta 40 por ciento, pero los porcentajes de respuesta sostenida son menores a la mitad de dicha cifra. Esto es particularmente real para las personas infectadas con genotipos 1a y 1b. Actualmente se recomienda que los sujetos infectados con estos genotipos, así como aquellos con cargas virales altas previas al tratamiento se sometan a regimenes de interferón alfa mas largos (48 semanas), mientras que en aquellos con genotipos 2 y 3 y baja carga viral se pueden obtener buenos resultados con esquemas de 24 semanas.

Las guías terapéuticas actuales indican que aquellas personas sin contraindicaciones deben recibir un tratamiento combinado de 3 millones de U de interferón subcutáneo tres veces por semana y ribavirina 1200mg por día en personas con peso mayor de 75 kg y 1000 mg de ribavirina en aquellas con menos de 75 kg. Los pacientes bajo tratamiento combinado deben ser evaluados a la semana 24 con carga viral, considerándose falla terapéutica si esta es positiva. En pacientes con genotipos 2 y 3 y una prueba negativa por PCR se puede discontinuar el tratamiento en este momento, pero en aquellos

con genotipo 1 se debe continuar por otras 24 semanas. La adición de polietilenglicol al interferón alfa (interferón pegilado) aumenta su vida media y puede administrarse una vez por semana (3,6,14,15).

Planteamiento del problema

En nuestro país no existen datos sobre la prevalencia de infección por VHC, considerando genotipos, determinados por un estudio extenso de población abierta. Los datos disponibles en la actualidad sobre prevalencia provienen de extrapolaciones de los datos publicados en otros países, así como de pequeños estudios realizados en pacientes cuando ya son identificados. Un inconveniente de los estudios de prevalencia de hepatitis C realizados en México, es que han estudiado solo a individuos que han sido seleccionados como donadores de sangre luego de ser sometidos a evaluación médica como lo dispone la Norma Oficial Mexicana para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, por lo que podríamos considerarlos como de bajo riesgo en relación a los factores de riesgo reconocidos. Debido a que las guías actuales para seguimiento y tratamiento de las personas infectadas con VHC consideran parámetros como la carga viral y el genotipo, es indispensable realizar un estudio para determinar dicha prevalencia.

¿Cuál es la prevalencia de infección por VHC de acuerdo a genotipo en candidatos a donadores del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional “La Raza” del Instituto Mexicano del Seguro Social?

Objetivos

General:

Conocer la prevalencia de la infección por VHC en forma general y de acuerdo a genotipos en candidatos a donadores de sangre con fines terapéuticos del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional "La Raza" IMSS.

Específicos:

1-Conocer la prevalencia de infección por VHC en candidatos a donadores de sangre (aceptados y rechazados)

2-Conocer los genotipos de VHC en sujetos asintomáticos portadores de infección crónica.

Material y métodos

Tipo de estudio: Transversal, descriptivo.

Universo de trabajo:

Población: Todos los sujetos que acudan como candidatos a donadores de sangre con fines terapéuticos que acudan al BCS, del CMR en el periodo comprendido entre el 15 de Enero de 2004 hasta el 27 de Febrero del 2004 durante el turno matutino de lunes a viernes.

Lugar: Banco Central de Sangre, del Centro Médico Nacional "La Raza" del IMSS.

Descripción de variables

Infección por virus de hepatitis C

Definición conceptual:

Presencia confirmada de VHC en un sujeto.

Definición operacional:

Se considero infección por VHC cuando en un sujeto se determine dos resultados positivos mediante inmunoensayo revelado acoplado a quimioluminescencia como prueba de escrutinio (Abott Prism® HCV) y se confirmó posteriormente mediante un estudio de PCR cualitativa.

Tipo de variable y escala de medición: Nominal dicotómica (Presente/Ausente)

Genotipo viral de VHC

Definición conceptual:

Son los distintos tipos de virus de hepatitis C, de acuerdo a variaciones genómicas reconocidas y aceptadas internacionalmente.

Definición operacional:

En los pacientes con diagnóstico positivo para VHC se determinó por PCR con sondas específicas (*line immunoprobe assay*) el genotipo viral.

Tipo de variable y escala de medición: Nominal categórica. (Genotipos 1-6 y subtipos a y b).

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

1. Sujetos que acudieron al BCS del CMR como candidatos a donación familiar o altruista que cumplan los requisitos iniciales (Edad: mayores de 18 años y menores de 65).
2. Que acudieron a partir del 15 de enero del 2004 al 27 de febrero de 2004.

Criterios de no inclusión

- 1- Candidatos a donación de sangre que no aceptaron participar en el estudio.

Criterios de eliminación:

1. Pérdida del material biológico (muestra de sangre) ya sea por manejo inadecuado o por obtenerse muestra insuficiente.

Tamaño de la muestra

De acuerdo al tamaño de la población estudiada, considerada en alrededor de 80, 000 donadores anuales, con una frecuencia esperada de infección por VHC de 1.5% en población abierta conforme a los promedios internacionales y considerando un error aceptable de 1%, se calcula un tamaño de muestra de 3738 sujetos candidatos a donación (donadores y no donadores) para lograr un nivel de confianza de 99% (15).

Análisis estadístico

Estadística descriptiva por medio de la estimación de frecuencias de cada una de las variables y prueba exacta de Fisher para comparación entre los individuos aceptados y rechazados.

Aspectos éticos

El estudio no implicó riesgo alguno para los disponentes, debido a que no se modificó los procedimientos realizados habitualmente a estos sujetos, consistente en extracción de muestras de sangre por punción venosa. Como procedimiento habitual, los estudios de serología en los donadores son autorizados mediante consentimiento informado (anexo I). Las pruebas positivas a la prueba de escrutinio se sometieron a RIBA como prueba

complementaria, de estas las positivas se realizo PCR y determinación de genotipo. Siempre que se confirmó infección por VHC se notificó al candidato a donador o donador, a la jurisdicción Sanitaria correspondiente y se deriva a dicho sujeto a la institución de salud correspondiente (anexo II) .

La detección y diagnóstico oportuno, así como la clasificación de genotipo represento una ventaja para los sujetos en los que se realizo, ya que el diagnóstico de infección por VHC generalmente no se efectúa sino por detección ocasional o hasta el desarrollo de complicaciones.

Recursos financieros

Recursos materiales:

Se contó con recursos materiales y humanos del BCS para aquellos procedimientos de estudio que se realizan en forma habitual.

Se solicito apoyo de la industria privada, para la realización de las pruebas de escrutinio de aquellos sujetos que fueron rechazados como donadores, la PCR cualitativa y el genotipo viral de todos los individuos que resultaron positivos en las pruebas de tamizaje.

Ver anexo III. Desglose de gastos

Metodología

Se determinó las pruebas de escrutinio habituales para la selección de donadores, la única diferencia de que la prueba de escrutinio de quimilolumiscencia para VHC se realizó a todos los candidatos a donadores de sangre, previó al examen médico y al proceso de autoexclusión mediante la extracción de una muestra de sangre venosa, de la cual se separó el suero

mediante los procedimientos estándar. Con los sueros de los individuos que resultaron positivos mediante quimioluminiscencia (Abott Prisma® HCV) se realizó prueba complementaria para VHC por RIBA para posteriormente realizar PCR cualitativa y finalmente el genotipo viral se determinó mediante LiPA (*Line immunoprobe assay*). Esta última prueba se realizó por la empresa GENOMA (genética molecular aplicada). Una vez confirmada la infección por VHC los donadores se localizaron y se enviaron mediante nota médica a la institución a la que son derechohabientes o instituciones de la Secretaria de Salud de acuerdo a procedimientos habituales para recibir atención médica. Se realizó un análisis estadístico para describir la prevalencia de infección por VHC de manera general y de acuerdo a genotipos.

Resultados.

Se obtuvieron 5205 muestras de las cuales 100 muestras fueron eliminadas (78 hombres-12 mujeres) por cuestiones técnicas (muestra insuficiente, ruptura del tubo, entre otras). De las 5105 (100%) muestras procesadas 3444 (67.5%) pertenecieron a disponentes aceptados para donar, 2866; hombres (56.2%) 578 mujeres (11.3%), mientras que 1661 (32.5%) a disponentes rechazados, 912 (17.85%) hombres, 749 (14.65%) mujeres. Gráficos 1 y 2.

La mayor población que acudió se encuentra entre la tercera y cuarta década de la vida (20 a 39 años de edad) 51% hombres y 17% mujeres. De las muestras de individuos rechazados para donación tenemos que 55% pertenece a hombres y el 45% a mujeres. Gráficos 3 y 4.

Considerando índice de rechazo por sexo tenemos que el 56% de las mujeres son rechazadas, principalmente por hematocrito bajo (74%) es decir cerca de 3 de cada 4 rechazadas por este motivo; mientras que el 24% de los hombres son rechazados principalmente por otras causas (46%), el resto de las causas se exponen en el gráfico 5.

Se encontraron 28 muestras positivas por quimioluminiscencia, de las cuales al ser sometidas a RIBA resultaron positivas 10, y solo 9 fueron positivas a PCR. Positivos a quimioluminiscencia fueron 28 individuos: 21 Hombres y 7 mujeres. 18 disponentes aceptados, 10 rechazados. De las 28 antes mencionadas se sometieron a RIBA teniendo positivas 10; 3 aceptados y 7 rechazados, y de estos solo 9 fueron PCR positivos (cuadro 5).

La prevalencia fue de 0.195% (10/5105); comparando el número de disponentes positivos a VHC por RIBA entre los rechazados: 7/1661 (0.421%), y los aceptados 3/3444 (0.087%), se encontró un RR = 4.8 con $p = 0.017$.

Los resultados para PCR: rechazados 6/1661 (0.361%), aceptados 0.087% (3/3444), encontrándose un RR = 4.16 con $p = 0.03$.

De los pacientes corroborados por RIBA solo dos tenían antecedentes de riesgo uno de ellos estuvo en instituciones penales y el otro tenía antecedente de haber padecido hepatitis. El resto no presentó antecedentes que explicaran la primoinfección y por lo tanto el resultado de la prueba

Genotipos: El genotipo viral 2 fue el más frecuentemente encontrado, 60% (n = 6), 2 subtipo b y 4 que no se determinó el subtipo, mientras que el 30% (n = 3) fue una combinación de los Subgenotipos 1a/1b del genotipo 1. En 1 no fue posible la identificación del virus (n = 1) Grafico 6.

Cuadros y gráficos de resultados.

Grafico 1: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza" IMSS.

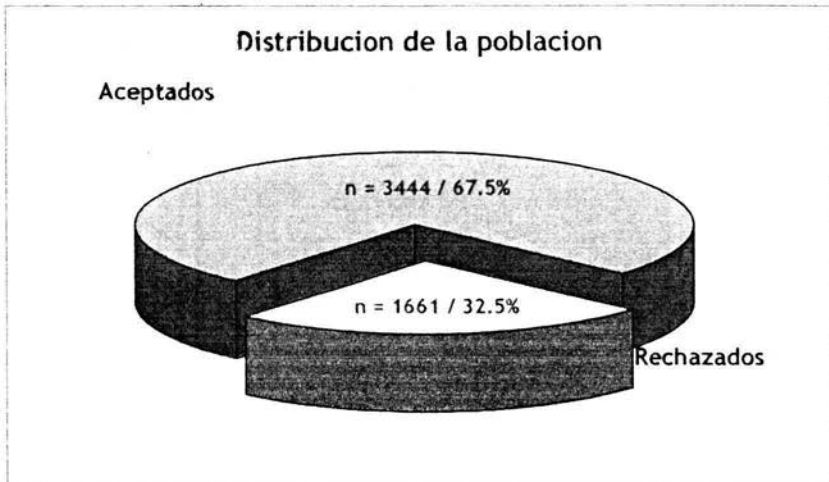
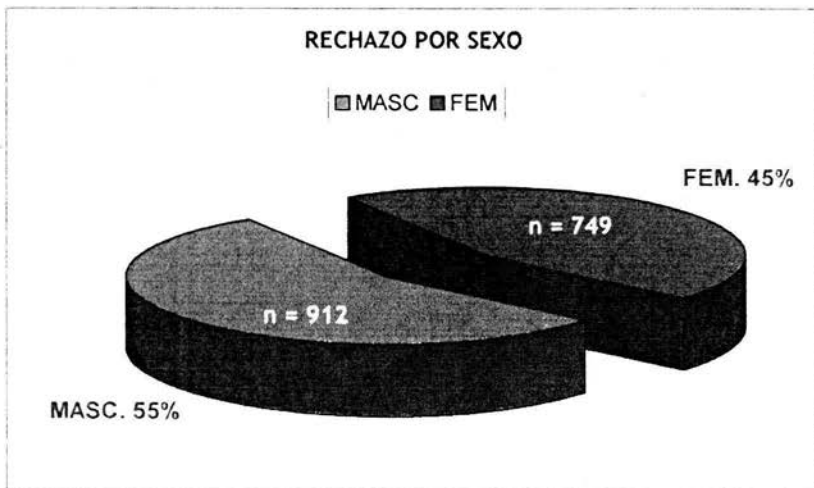
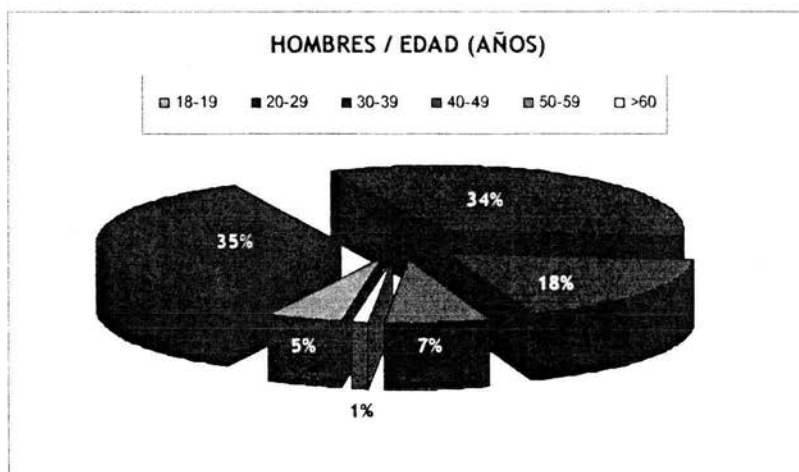


Grafico 2: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza" IMSS.



**Grafico3: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.
Distribución de población masculina por edad.**



**Grafico 4: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.
Distribución de población femenina por edad.**

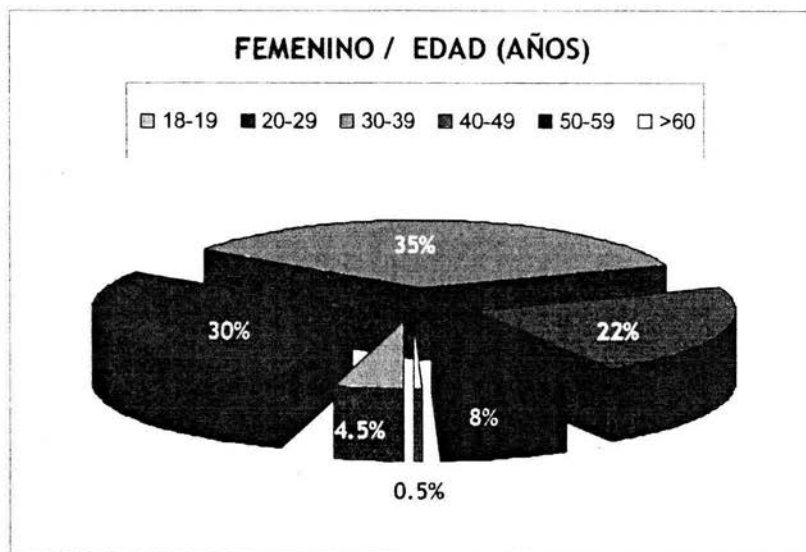


Grafico 5: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.

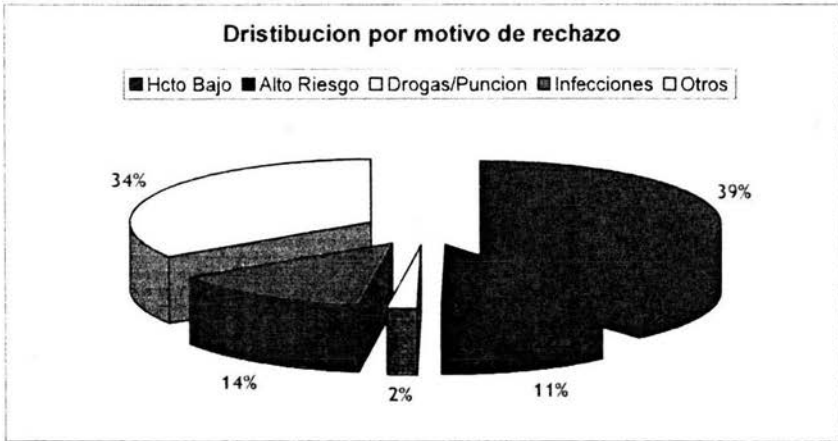


Grafico 6: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.



Grafico 7: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza".

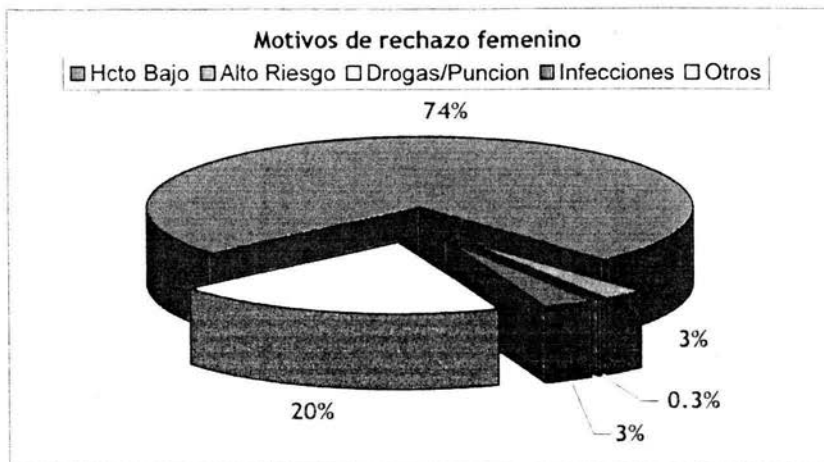
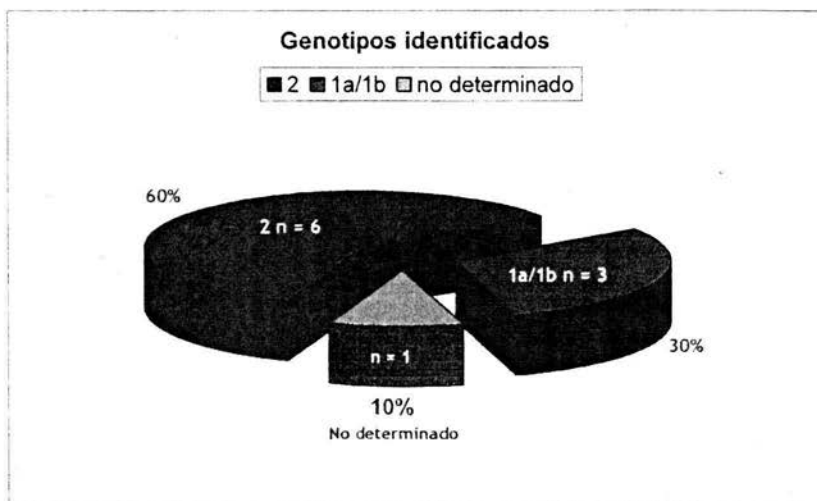


Grafico 8: Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.



Cuadro 5. Pruebas realizadas.

Prevalencia de VHC en el BCS "La Raza"IMSS.

Prueba de Escrutinio	Prueba suplementaria o confirmatoria		Biología. Molecular
Quimioluminiscencia	RIBA positivos	RIBA negativos	P.C.R. positivos
28	10	18	9

Discusión.

La infección por el Virus de la Hepatitis C (VHC) es actualmente uno de los problemas más serios a nivel mundial estimándose una prevalencia del 3%, llegando a ser tan grande como 24% como en el caso de Egipto: Este virus se ha visto envuelto en el desarrollo de cirrosis y cáncer hepático como parte de la historia natural de la enfermedad, lo que implica un deterioro de la calidad de vida de los individuos que la padecen y la carga en gastos en los sistemas de salud.

El presente estudio pretende obtener la prevalencia en población abierta, se elimino todo mecanismo de selección para lograr este objetivo y estudiamos una población de 5105, teniendo una prevalencia de 0.195% (10/5105) lo que nos indica una prevalencia menor que en la reportada a nivel mundial, esto se podría explicar por diversos motivos; la transmisión del VHC por transmisión sexual se considera muy poco probable y no se ha reportado en la literatura, el uso de drogas intravenosas en la población general no es una practica común, las estrategias para la transfusión de sangre segura han disminuido considerablemente la transmisión de VHC.

Se tuvo como hallazgo que en solo dos individuos tenían factores de riesgo bien identificados, lo que podría deberse a que posiblemente existan otras vías de transmisión del VHC que la población en general no considera como riesgo como es compartir el uso de cepillos dentales, rastrillos, algunos utensilios punzo-cortantes utilizados en las estéticas entre otros, que carecen de un adecuado sistema de desinfección y esterilización.

Resulta interesante que solo en nueve de los pacientes detectados por RIBA fue posible la magnificación por PCR, el individuo que resulto negativo, podría

deberse a uno de dos motivos; el número de copias virales necesarias para la magnificación no fue la suficiente; ó el individuo *depuro* al virus y solo es posible detectar la memoria inmunológica de la infección.

El genotipo que fue el más frecuente coincide con la literatura internacional reportada para América Latina que es el 2 incluyendo sus subgenotipos, contrariamente a lo que reportan algunos grupos nacionales que consideran al genotipo 1 como el más común; esto se puede deber a que en los estudios realizados por estos grupos se encuentran en individuos con una evolución de la enfermedad más avanzada. El genotipo que se conoce que es más agresivo es el 1 y sus subgenotipos, por lo que no resulta sorprendente que los individuos con mayor afectación se halle con más frecuencia este genotipo.

Conclusiones.

La prevalencia de hepatitis C en nuestra población estudiada es considerablemente menor que la prevalencia internacional notificada en 3%.

El genotipo 2 en fue el mas frecuente a diferencia a otros estudios en donde el genotipo mas frecuente fue el 1 y sus subtipos, probablemente debido a que este genotipo es el que se le a relacionado con cuadros mas severos de hepatitis crónica, cirrosis y cáncer hepático, varios de estos estudios fueron realizados en estas poblaciones,

El grupo de rechazados tuvo una mayor numero de positivos a VHC por lo que se infiere que la adecuada selección del donador de sangre es importante para disminuir el riesgo de transmisión de esta infección por transfusión sanguínea.

Los genotipos encontrados corresponden a los informados en la literatura para América Latina.

Bibliografía:

- 1.-Pardrat & C. Trepo, Bailliére's Clinical Gastroenterology. 2000;14(2): 201-210.
- 2.-Flamm SL., Lovinger S., Chronic Hepatitis C Virus Infection. JAMA 2003;289(18):2413-2417.
- 3.-Lauer GM., Walker BD., Hepatitis C Virus Infection. N Eng J Med.2001;345(1): 41-52.
- 4.-Berenguer M., López-Labrador FX., Wright TL. Hepatitis C and Liver Transplantation. J Hepatol. 2001;35: 666-678.
- 5.-Booth JCL., Chronic Hepatitis C: The Virus, It's Discovery and The Natural History of The Disease. J Viral Hepat.1998;5: 213-222.
- 6.-Zein NN., Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes. Clin Microbiol Rev 2000: 223-235.
- 7.-Gary LD., Hepatitis C Virus Genotypes and Quasiespecies.Am J Med 1999;107 (6B): 21S-26S.
- 8.-Widell A., Molnegren V.,Pieksman F., Calmann M., Peterson J., Lee SR., Detection of Hepatitis C Core Antigen in Serum or Plasma as a Marker of Hepatitis C Viremia in the Serological Window-Phase.Transfusion Med. 2002; 12; 107-113.
- 9.-Center for Disease Control and Prevention Guidelines for Laboratory Testing and Result Reporting of Antibody to Hepatitis C virus. MMWR 2003;52(RR-3);1-15
- 10.-Richter SS., Laboratory Assays for Diagnosis and Management of Hepatitis C Virus Infection. J Clin Microbiol. 2002; 40(12): 4407-4412.
- 11.-Willems m., Metselaar HJ., Tilanus HW., Schalm SW., De Man RA., Liver Transplantation and Hepatitis C. 2002; 15: 61-72.
- 12.-Trepo C., Genotype and Viral Load as Prognostic Indicators in the Tratament of Hepatitis C. J Viral Hepatitis. 2000; 7; 250-257.
- 13.-Zeuzem S., Feinman SV., Rasenack J., Heathcote EJ., Lai MY., et Cols. Peginterferon Alfa -2a in Patients with Chronic Hepatitis C. N Eng J Med 2000; 343(23):1666-1672.
- 14.-Heathcote EJ., Shiffman ML., Cooksley WGE., Dusheiko GM., Lee SS., et Cols. Peginterferon Alfa-2a in Patients with Chronic Hepatitis C and Cirrosis.N Eng J Med 2000; 343(23):1673-1680.

- 15.-Gramenzi A, Andreone P, Fiorino S, Cammá C, Magalotti D et al. Impact of Interferon Therapy on the Natural History of Hepatitis C Virus Related Cirrhosis. *Gut* 2001;48:843-48.
- 16.-Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al. Isolation of a cDNA Clone Derived From a Blood-Borne non-A non-B Viral Hepatitis Genoma. *Science* 1989;244:359-62.
- 17.-Jawetz, Menick, & Adelberg's. *Medical Microbiology*. 20a Ed. 1995 Appleton & Lange. Cap 35; 483-504.
- 18.- Simmonds P, Holmes EC, Cha TA et al. Clasification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993;74:2391-5.
- 19.-Nolte FS. Hepatitis C Virus Genotyping: Clinical Implications and Methods. *Mol Diagnosis*.2000;6(4):265-277.
- 20.-Drazan KE., *Molecular Biology of Hepatitis C Infection*.*Liver Transplantation*. 2000;6(4):396-406.
- 21.-Germer JJ & Zein NN. *Advances in the Molecular Diagnosis of Hepatitis C and Their Clinical Implications*. *Mayo Clin Proc*. 2001;76:911-920.
- 22.-Di Bisceglie AM. Hepatitis C. *Lancet*.1998;351:351-355.
- 23.-Carithers RL. *Liver Transplantation*.*Liver Transpl*.2000;6(1):122-135.
- 24.-Alter MJ. *Epidemiology of Hepatitis C*. *Hepatology* 1997;269(SUPPL):S62-S65.
- 25.- Hammer GH., Kellogg TA, McFarland WC., Wong E., Louie B., Williams I., et Cols. *Low Incidence and Prevalence of Hepatitis C Virus Infection Among Sexually Active Non-Intravenous Drug-Using Adults, San Francisco, 1997-2000*.*Sex Transm Dis* 2003;30(12):919-924.
- 26.- López Pelcastre L, Contreras Ramírez A, Malagón Martínez A, Berges García A. *Consumo de Factores VIII y IX de la coagulación en pacientes con hemofilia A y B en edad pediátrica del Hospital General del Centro Médico la Raza. Tesis de especialidad médica en Patología Clínica, bibliohemeroteca del Banco Central de Sangre CMN la Raza, IMSS.*
- 27.- Navarro Hernández RE, Ramírez Barragán J, Muñoz Valle JF. *Seroprevalencia de anticuerpos IgG contra el VHC en dos bancos de sangre de dos hospitales regionales de la Secretaría de Salud, Jalisco*.*Revista Mexicana de Patología Clínica*.1999;46 (3): 166-71.

- 28.- Guerrero Romero JF, Castañeda A, Rodríguez Morán M. Prevalence of risk factors associated with hepatitis C in Blood Donors in the municipality of Durango, Mexico. *Salud Pub Mex* 1996;38:94-100.
- 29.- Hernández Perez RE, Frias Salcedo JA, Del Angel Guevara O. The Seroprevalence of antibodies against the hepatitis c virus in blood donors at the Hospital Central Militar. *Salud Pub Mex* 1994;36:538-40.
- 30.-Pawlotsky JM. Hepatitis C Virus Infection: Virus/Host Interactions. *J Viral Hepat.*1998;5(SUPPL1):3-8.
- 31.-Forns X., R H., Bukh P., Bukh J.Quasispecies In Viral Persistence and Pathogenesis of Hepatitis C virus. *Trends Microbiol.*1999;7(10):402-409.
- 32.-Alvarado EC., Leroux-Roel G., *Inmunológica de la Hepatitis C. Rev Invest Clin.*1999;51(5):315-322.
- 34.-Miyamura T., Saito I., Katayama T., Detection of Antibody Against Expressed by Molecularly Cloned Hepatitis C Virus cDNA. Application to Diagnosis and Blood Screening for Posttransfusion Hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA.*1990;87:983-987
- 35.- Aach RD., Stevens CE., Hollinger FB. Hepatitis C Virus Infection In Post-transfusion Hepatitis And Analysis With First And Second Generation Assay. *N Eng J Med.* 1991;325:1325-1329.
- 36.-EPI INFO 6 A Word processing Data Base and Statistics Program for Public Health.
- 37.-Imbert-Bismut F., Ratziu V., Pieroni L., Charlotte F., Poinard T., Biochemical Markers Of Liver Fibrosis In Patients With Hepatitis C Virus Infection: A Prospective Study. *Lancet.*2001;357:1069-1075.

Anexo I

Carta de consentimiento informado para participación proyectos de investigación científica

México D.F., a _____ de _____ del 2003

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación **Prevalencia de infección por VHC de acuerdo a genotipo viral en candidatos a donadores del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS** registrado ante el comité local de investigación con el número: 2561-2003-082. El objetivo de este estudio es conocer el número de personas que presentan infección por el virus de la hepatitis C, así como determinar los diferentes tipos del mismo virus (genotipo) y algunos parámetros relacionados con la actividad de la infección (carga viral, enzimas hepáticas).

Se me ha explicado que se utilizarán aproximadamente 5 ml de sangre los cuales serán tomados por medio de una punción en la vena, durante la extracción de rutina realizada en el Banco Central de Sangre. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos: moretón, dolor y/o hinchamiento en el sitio de toma de la muestra de sangre, así como los beneficios derivados de su participación en el estudio que como son un diagnóstico más oportuno y específico de dicha infección en caso de padecerla y se me referirá a alguna institución de salud con las que ya tiene este banco de sangre contactos establecidos para completar mi estudio y tratamiento si soy derechohabiente a alguna institución de salud o aún cuando no lo fuera. El investigador principal se ha comprometido responder las preguntas o cualquier duda que yo le plantee acerca de los procedimientos que se llevaran a cabo. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento sin que esto influya sobre la atención que recibo por esta institución, así como que dicha participación no tendrá ningún costo (no pagaré por la participación en el estudio).

El investigador principal me ha dado la seguridad de que los datos obtenidos serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionar la información actualizada que se obtenga durante el estudio.

Nombre y firma del participante

Nombre y firma del investigador

Nombre y firma de testigo

Nombre y firma de testigo

Anexo II- Hospitales de referencia de sujetos con infección por VHC

Hospital	Dirección	TEL	Médico tratante	Médico tratante	Teléfono del médico
CMN la raza	Jacarandas SN col la Raza	56784412 Ext. 24	Dr. Carlos Cano	Dra. Rocío Torres	04455 103467
CMN la Raza Especialidades	Jacarandas SN col la Raza	56784412 Ext. 32	Dr. López Fuerte	Dra. Tere Rizo	04455678923
CMN la Raza H General	Jacarandas SN col la Raza	57245900 Ext. 2502	Dr. Marco A Ramirez		0445554360953
HGZ No 29	Av. 510 No 100 Sn Juan de Aragón	55 51 40 11	Dr. Rebeca Vega Pérez		
HGZ No 27	Eje Central Lázaro Cárdenas, Tlalteolco	5597 63 00 Ext. 305	Dr. Ma Jesús Herver		
CMN Merida	Mérida Yucatán	01999 9225656	Dr. Isidro Vázquez Ávila	Dr. Juan Álvarez	
ISSSTE 20 de noviembre	Coyoacán esquina Félix Cuevas	525003 ext.14253	Dra. Mayra Ramos Gómez	Dr. Manuel Castellanos N	0445554528530
ISSSTE López Mateos	Av. Universidad Esq. Río Churubusco col Florida	56 6170 92	Dr. Chávez Oest	Dr. Soto Escalante	044 5554 36 08 50
ISSSTE Zaragoza	Av. Ignacio Zaragoza 1711 col Ejercito Const.	57 44 15 05	Dra. Ma Elena Hernández Gómez	Dr. Rolando Armienta Sarabia	0445521435146
ISSSTE 1º de octubre	Av. IPN 1669 Lindavista	55866011 Ext. 246	Dr. Arturo Serrano López		
ISSSTE Fernando Quiroz	Av. Felipe Angeles Esq. Canario col Bellavista	52725273	Dr. Alejandro López Ramales	Dr. Guillermo Xique Conde	0445521945671
ISSSTE Dario Fernández	Av. Revolución 1182 Esq. Barranca del Muerto col Sn José Insurgentes	5593 56 44	Dr. Isaias Garduño Hernández		0445525477505
IMSS HGZ 32	Calzada del Hueso No.1000		Dr. Alberto Becerra	Dr. Rolando Armienta Sarabia	0445521435146
HGR No 1 Cuernavaca	Av. Plan de Ayala Cuernavaca Morelos	01 77 73155000	Dr. Guillermo Cabrera Álvarez		01 77 73 28 54 52
HGZ No 25	Calzada Ignacio Zaragoza 1714 col Juan Escutia		Dra. Cristina Velásquez Simenta	Dr. Rafael Medina Rosete	0445554076167
HGZ No 53	Carretera Mexico-Los Reyes Km. 1	58554436 Ext. 224	Dra. Patricia Méndez Cardoz		0445525501916
HGZ 220 Toluca	Paseo Toluca 220 Toluca Edo de México		Dra. Albertina Vázquez García		017222040381
PEMEX	Periférico Sur SN		Dr. Armando	Dra. Maricela	

Picacho			v Valencia	Diaz Oyola	
PEMEX Azcapotzalco	Campo mantilla y San Antonio Azcapotzalco		Dr. Elmer Ocaña Andrade	Dra. Carmen Yañez Montes	
ISSEMYN (Toluca)	Paseo Toluca 320 Toluca edo de México		Dra. Sarai González Hueso		
ISSEMYN (Satélite)	Novelistas No 127 Cj Satelite edo México	55769209 Ext. 124	Dr. Roberto Almanza Moreno		044553815010
PEMEX Villahermosa	M. Gil y Saenz No 68 Villahermosa Tabasco		Dr. José Antonio Torres Mtz.		
HGR No 46 Villahermosa	Carretera a Tierra Colorada Km. 12 Villahermosa Tab.		Dra. Alma Castañeda del Río	Dra. Pastora Pérez López	
ISSET Villahermosa	1º de mayo y paseo de la ceiba no. 10 Villahermosa Tab		Dr. Francisco Rojas Zurita		
CWN siglo XXI IMSS Especialidades	Av. Cuauhtémoc 330 col doctores	56276900 Ext. 1508	Dr. Alberto Juárez Navarro	Dr. Jorge Méndez Navarro	
HGZ No 1 Gabriel Mancera	Gabriel Mancera Esq. Xola col del Valle	56395822 Ext. 1745	Dr. Roberto Pérez Blancas		
Hospital Central Militar	Periférico Norte Esq. Ejército Nacional. Col Lomas de Sotelo	55573100 Ext. 25000	Dra. Elena Martínez López		
Hospital General de México SSA	Colonia Doctores México DF	59996133	Dr. Ignacio de la Luz		
Inst. Nat. Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán	Av. Tlalpan Sur- Zona de Hospitales	56557971	Dr. Marco Antonio Olivera	Dr. Jorge Luis Poo	

Anexo III. Costos

I- Pruebas de hepatitis C de tamizaje (quimioluminiscencia)

Se necesitaran 1000 pruebas extras considerando a los no donadores, quienes no están contemplados en el presupuesto de pruebas de tamizaje del BCS

Kit Abbot Prism® HCV 100 pruebas	Pesos	\$7145.09
		IVA \$1071.76
		\$8,216.85
10000 pruebas= 10 kits Total		\$ 82,168.50

HEPATITIS C CUALITATIVA

Catálogo	Descripción	Presentación	Precio Unitario USD
21111086123	COBAS AMPLICOR HCV PRAP. V 2.0	96 Pruebas	\$ 338.00
21111094123	COBAS AMPLICOR HCV AMPLIF. V 2.0	96 Pruebas	\$ 1,250.00
21111175123	COBAS AMPLICOR HCV KONTR. V2.0	8 SETS	\$ 35.00
21111132123	COBAS AMPLICOR HCV DETEKT V 2.0	100 Pruebas	\$ 1,070.00
20757608123	COBAS INTERNAL CONTROL DET.	100 Determinaciones	\$ 87.00
20764213123	COBAS AMPLICOR KONJUGAT KIT	200 Determinaciones	\$ 46.00
20757470123	COBAS AMPLICOR DETEKTION KIT	100 Determinaciones	\$ 113.00
20759899123	COBAS AMPLICOR WASH BUFFER	500 Determinaciones	\$ 64.00

HEPATITIS C CUANTITATIVA

Catálogo	Descripción	Presentación	Precio Unitario USD
21118404123	COBAS AMPLICOR HCV MONIT. V 2.0	48 Pruebas	\$ 4,958.92

Condiciones de la cotización:

*FAVOR DE AUMENTAR EL IVA CORRESPONDIENTE

*PRECIOS SUJETOS A LA PARIDAD DEL DÓLAR

GENOTIPO VHC

GENOMA (genética molecular aplicada) Montecito No. 38 Piso 16 oficina 25 Colonia Nápoles. WTC México Determinación de genotipo VHC Costo unitario	
	2,500 pesos por prueba 15% IVA= \$2875
Numero estimado de pruebas	60
	Total = \$172,500

Suma del total de gastos

Pruebas de tamizaje (1000 pruebas)		\$82,168.50
Pruebas confirmatoria (PCR cualitativa 100 pruebas)	US dólares \$3003 aprox.	Pesos \$33,033.00
PCR cuantitativa	US Dolares \$4858 aprox.	pesos \$53,448.00
Genotipo viral		\$172,500
Gastos diversos (material extra de vidrio, pipetas, papelería etc.)	Estimado	\$20,000
		Suma total: Pesos \$ 328,116.5

Laboratorios Roche apoyo con las pruebas confirmatorias, PCR cuantitativa y genotipo viral