

Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina

“Experiencia en el uso de agentes antivirales directos como tratamiento de infección crónica por virus de hepatitis C en el Hospital Ángeles Lomas”

Tesis

Para obtener el título de:

Especialista en Medicina (Medicina Interna)

Ilse Lucero Flores Aranda

Tutor de Tesis:

Dr. Ignacio Aiza Haddad

Huixquilucan, Ciudad de México, julio 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

ÍNDICE

1. Resumen	2
2. Marco teórico.....	3
3. Justificación	12
4. Objetivo.....	12
5. Hipótesis.....	12
6. Clasificación de la investigación.....	12
7. Material y métodos	12
8. Resultados	18
9. Análisis estadístico.....	20
10. Discusión	22
11. Conclusiones	22
12. Bibliografía	23

1. RESUMEN

Esta tesis profesional titulada “Experiencia en el uso de agentes antivirales directos como tratamiento de infección crónica por virus de hepatitis C en el Hospital Ángeles Lomas”, es presentada para obtener el título de especialista en medicina interna y aborda la eficacia y seguridad de los agentes antivirales directos en una población mexicana de un hospital privado.

El VHC tiene una alta prevalencia a nivel mundial y se estima que en el año 2030 habrá más de 1,200,000 personas infectadas. El factor de riesgo clásico para adquirir la infección antes de 1990 fue transfusión de hemoderivados, sin embargo debido a la generalización del cribado a donadores de sangre y hemoderivados se ha logrado disminuir la incidencia de transmisión del VHC a nivel mundial y actualmente la población de mayor riesgo son los usuarios de drogas intravenosas.

En México la infección por VHC tiene una alta prevalencia y la cirrosis hepática es considerada la quinta causa de muerte. Sin embargo, existe poca información en la literatura acerca de pacientes mexicanos que han recibido agentes antivirales directos.

Se ha demostrado en diversos ensayos clínicos que más del 95% de los pacientes tratados con agentes antivirales directos en infección por VHC alcanzan una respuesta viral sostenida (RVS) a 12 semanas de tratamiento. También se ha reportado que los AAD tienen un amplio rango de seguridad y a partir de que se convirtieron en la primer opción de tratamiento para VHC han disminuído las tasas de admisión hospitalaria y la mortalidad de los pacientes con infección crónica por VHC de forma significativa.

2. MARCO TEÓRICO:

INTRODUCCIÓN

La infección por virus de hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular a nivel mundial, la OMS estima que 71 millones de personas en el mundo tienen infección por VHC¹. Con el desarrollo de agentes antivirales directos se ha obtenido un gran avance en el tratamiento de ésta infección, incrementando notablemente la posibilidad de una respuesta viral sostenida (RVS) en 95% de los pacientes. Aunado a la RVS se ha observado disminución en el grado de fibrosis, menor riesgo de complicaciones secundarias a falla hepática y disminución en la necesidad de trasplante hepático.

Debido a que la mayoría de los pacientes con infección crónica por VHC cursan asintomáticos y las manifestaciones clínicas son poco específicas se recomienda realizar escrutinio al menos una vez en la vida a pacientes que nacieron entre 1945 - 1965, a pesar de desconocer si tiene algún riesgo para VHC y en pacientes usuarios de drogas intravenosas o intranasales, historia de hemodiálisis de larga evolución, realización de tatuaje en establecimiento poco seguro, historia de transfusión antes de 1992, pacientes que han estado en prisión, con diagnóstico de VIH y aquellos con enfermedad hepática de causa desconocida^{2,3}.

Sabemos que en México la infección por VHC tiene una alta prevalencia y la cirrosis hepática es considerada la quinta causa de muerte. De acuerdo al Consejo Nacional de Población (CONAPO), la infección por VHC afecta a 1.5% de la población mexicana, aproximadamente 1,785, 000 personas. Sin embargo, a pesar de ser una enfermedad muy prevalente existe muy poca información en la literatura acerca de pacientes mexicanos que han recibido agentes antivirales directos y su respuesta al tratamiento.

MICROBIOLOGIA

El VHC es un virus hepatotropo de estructura esférica, pertenece al género flavivirus, dentro de la familia flavoviridae. Fue clonado por primera vez en 1989. Este virus presenta una gran variabilidad genética, existen 6 genotipos, divididos a su vez en más de 100 subtipos⁴. Los genotipos se denominan mediante un número (del 1 al 6) y los subtipos mediante una letra minúscula, por orden de descubrimiento (1a, 1b, 2a, etc)⁵.

El VHC no se integra al genoma del huésped al que infecta y todo su ciclo se realiza en el citoplasma. El virión del VHC entra en la célula por endocitosis, cada virión está compuesto por una cadena única de ácido ribonucleico (ARN), esta cadena consta de 9,500 pares de bases, el genoma es traducido en el retículo endoplásmico, formándose

una poliproteína de 3,011 aminoácidos, es procesada en 10 proteínas estructurales y reguladoras⁶.

Desde el extremo carboxi-terminal codifica para la proteína no estructural del núcleo y dos glicoproteínas de la envoltura (E1 y E2), la proteína E2 también contiene el sitio de unión a CD-81, un receptor expresado por los hepatocitos y linfocitos B, el cuál actúa como coreceptor para el VHC.

Otros componentes virales son las proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS5A, NS5B y p7), funcionan como helicasa, proteasa y RNA polimerasa (Figura 1).

La proteasa del VHC codifica para la región del genoma NS3/4A y se encarga junto con otras proteasas celulares de completar la hidrólisis de esta poliproteína.

Las proteínas no estructurales son esenciales en el ciclo vital viral, por tal motivo son la diana terapéutica de los agentes antivirales directos.

Flanqueando el ARN genómico existen dos regiones no codificadoras de secuencias muy conservadas. La región situada en el extremo 5' comprende 341 nucleótidos, siendo la región más conservada del genoma del virus y cuyas variaciones caracterizan los distintos genotipos. La región no codificante situada en el extremo 3' se divide a su vez en tres regiones diferentes.

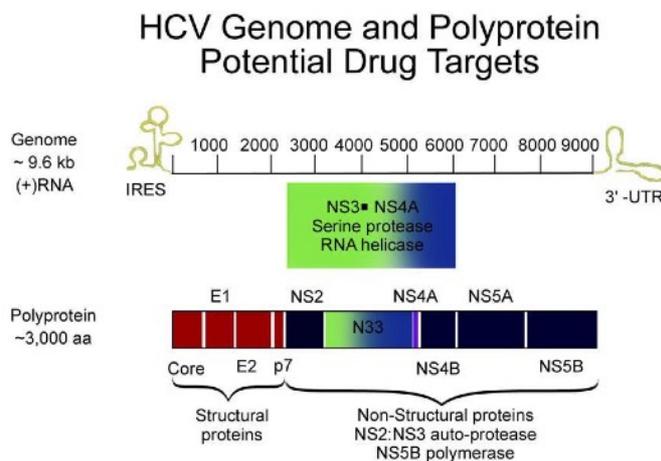


Figura 1.0 Esquema representativo del genoma del Virus de Hepatitis C.

EPIDEMIOLOGÍA

La infección por VHC representa el 20% de las hepatitis agudas, en EU se estima que cada año se infecta 30,000 pacientes y se reportan 8,000-10,000 muertes anuales⁷.

Existen aproximadamente 71 millones de individuos infectados por VHC en el mundo y aproximadamente 399,000 personas mueren cada año por enfermedad hepática relacionada con la hepatitis C⁸. Además, debido al mecanismo de transmisión compartido, se estima que alrededor del 10% tiene infección con VIH y por otro lado el 25% de los pacientes con VIH tienen infección por VHC.

Entre el 20-40% de los pacientes de acuerdo a su historia natural, desarrollarán cirrosis, siendo esta la principal causa de indicación de trasplante hepático en la actualidad⁹.

En Europa, México y EEUU el genotipo más prevalente es el G1 (70%), seguido de los genotipos G3 (10%), G4 (10%).



Figura 2.0. Distribución de los genotipos del VHC por zonas en la República Mexicana.

PATOGÉNESIS

La respuesta inmune del huésped, coordinada por las células T CD4 + y CD8+ mediadas por los alelos HLA clase II y clase I respectivamente, en las células presentadoras de antígeno, determina en gran medida si el VHC tendrá una erradicación espontánea o si persistirá (como ocurre en la mayoría de los pacientes)¹⁰. La infección aguda por VHC culmina en cronicidad en 70% de los casos, lo cual representa una alta tasa de cronicidad para una infección viral.

Aunque la historia natural de la infección por VHC puede ser muy variable, se estima que el 15 al 30% de los pacientes con infección crónica desarrollarán cirrosis durante los primeros 30 años¹¹. Se han estudiado diversos factores asociados a progresión de la fibrosis hepática, entre los cuales destacan: tiempo de duración de la infección antes de recibir tratamiento, edad mayor de 40 años al momento de adquirir la infección, sexo masculino, coinfección con otros virus como VHB y VIH, consumo de alcohol mayor a 50g al día¹².

En aquellos pacientes con cirrosis secundaria a VHC es importante vigilar las complicaciones, incluyendo carcinoma hepatocelular (se estima que se desarrolla en 1-3% de los pacientes por año)¹³.

El riesgo acumulado a 6 años de requerir trasplante hepático o riesgo de muerte por complicaciones hepáticas varía de 2-28% en pacientes con fibrosis Metavir ≥ 2 ¹⁴.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DEL VHC Y GRUPOS DE RIESGO

El mecanismo de transmisión de VHC puede ser variable según la región geográfica. Aproximadamente entre el 30-70% de los casos de VHC se explican por transmisión parenteral.

Antes del 1990 la transfusión sanguínea y de otros hemoderivados constituyó la vía de transmisión más frecuente en los países desarrollados¹⁵. La generalización del cribado a donadores de sangre y hemoderivados logró disminuir la incidencia de transmisión del VHC.

Los usuarios de drogas intravenosas actualmente constituyen el grupo de mayor riesgo de infección por VHC, explicado por el uso compartido de jeringas contaminadas.

La transmisión por vía sexual es más común que se presente en hombres que tienen sexo con hombres y se han identificado algunas conductas de riesgo como la presencia de otras enfermedades de transmisión sexual que producen úlceras y sobre todo coinfección con VIH. En aproximadamente 20% de los pacientes no logra identificarse el mecanismo de transmisión del VHC¹⁶.

CUADRO CLÍNICO

La mayoría de los pacientes con infección aguda por VHC no presentan síntomas¹⁷, en aquellos pacientes sintomáticos destaca la presencia de ictericia, náusea, coluria y dolor en cuadrante superior derecho. Algunos otros síntomas relacionados incluyen fiebre de bajo grado, anorexia, prurito, mialgias, artralgias y confusión. Los síntomas en

infección aguda se suelen desarrollar entre las primeras 2 a 26 semanas de exposición al VHC¹⁸.

La falla hepática fulminante en infección aguda por VHC es poco común, suele presentarse en pacientes con infección crónica por VHB¹⁹.

La infección crónica por VHC ocurre en aproximadamente 50-85% de los pacientes, sin embargo, generalmente es de progresión lenta y puede llegar a tener un espectro clínico muy amplio, los síntomas iniciales suelen ser poco específicos y en su mayoría extrahepáticos, comúnmente con involucro articular, muscular y dermatológico. Entre los síntomas generales más comunes destacan la presencia de fatiga (62%), náusea (35%), dolor abdominal (32%), artralgias (23%), parestesias (17%), mialgias (15%), prurito (15%), síntomas neuropsiquiátricos (depresión, ansiedad) y neuropatía sensorial (9%)²⁰.

Las manifestaciones extrahepáticas más comunes incluyen enfermedades hematológicas: crioglobulinemia tipo II (90% de los pacientes con crioglobulinemia esencial mixta tienen infección por VHC y se estima que el 50% de los pacientes con infección por VHC presentan crioglobulinas, por tal motivo es importante buscarla intencionadamente en todos los pacientes con infección crónica), gamopatías monoclonales y linfoma (se ha asociado a linfoma difuso de células B, linfoma de la zona marginal, linfoma hepático primario y MALT), afección renal (glomerulonefritis membranoproliferativa, desordenes autoinmunes (Tiroiditis) y manifestaciones dermatológicas (porfiria cutánea tarda, líquen plano y eritema acral necrolítico)²¹.

La frecuencia de éstas manifestaciones no se conoce con exactitud, aunque se estima que están presentes en 38% de los pacientes con infección por VHC²².

Los síntomas y signos que nos hablan de enfermedad hepática avanzada o descompensada son aquellos relacionados a hipertensión portal, incluyendo ictericia, ascitis, sangrado variceal y encefalopatía. En un periodo de aproximadamente 20 años hasta un 30% de los pacientes desarrollan cirrosis, el desarrollo previo a presentar alguna complicación suele ser silencioso²³.

Estudios de laboratorio

Existe una gran variabilidad en los niveles de aminotransferasas séricas entre los pacientes con infección crónica de VHC a lo largo de su enfermedad. Solo 25% de los pacientes suelen tener niveles elevados de ALT²⁴.

No existe correlación entre los niveles de aminotransferasas y severidad de la enfermedad. Existen algunos datos de laboratorio sugestivos de hepatopatía (elevación de bilirrubinas, hipoalbuminemia, trombocitopenia), sin embargo, ninguno de ellos es 100% sensible o específico²⁵.

Durante la infección crónica por VHC la carga viral suele permanecer constante. Las variables que afectan el nivel de carga viral aún no se han identificado correctamente, la co-infección con otros virus suele impactar en los niveles de RNA, generalmente se elevan en infección por VIH y en infección aguda por virus de hepatitis B²⁶.

DIAGNÓSTICO

Detección de anticuerpos por ELISA

Son las pruebas que tradicionalmente se han utilizado como cribado. Los anticuerpos contra el VHC suelen detectarse en suero (por ELISA de tercera generación) 2 a 3 semanas después de la infección aguda. No son de utilidad en el diagnóstico de pacientes que se presentan con cuadro clínico de hepatitis aguda; sin embargo, es importante solicitarlos ya que la presencia anticuerpos anti-VHC y ARN VHC negativo nos habla de exposición previa y aclaramiento de la enfermedad, debe confirmarse a las 12 semanas²⁷.

Es importante tomar en cuenta que con ELISA los pacientes inmunosuprimidos o sometidos a hemodiálisis pueden tener un resultado falso negativo²⁸.

La determinación de anticuerpos anti-VHC mediante ELISA de tercera generación no es útil en el seguimiento de aquellos pacientes que han recibido terapia antiviral ya que pueden persistir en el 50% de los pacientes con el virus erradicado²⁹.

Amplificación de ácidos nucleicos

Las pruebas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permiten detectar, cuantificar y caracterizar el RNA viral; son indicadores de infección activa. El estudio cualitativo únicamente detecta la presencia del RNA VHC, el estudio cuantitativo reporta la carga viral en IU/mL (especificidad 99%) y es valioso para monitorizar del tratamiento³⁰.

En infección aguda por VHC se detecta RNA viral y los anti-VHC son negativos.

Determinación serológica del genotipo del VHC

Suelen ser de mayor utilidad en estudios epidemiológicos, se utilizan en la clínica para predecir la respuesta y duración del tratamiento; son útiles para clasificar al virus entre los 6 principales genotipos³¹.

Grado de Fibrosis

Para realizar el diagnóstico de VHC no es necesario evaluar el grado de fibrosis, sin embargo es puede ayudarnos a diferenciar entre infección aguda o crónica si existe duda al momento del diagnóstico y es crucial determinar el grado de fibrosis hepática para la toma de decisiones terapéuticas, predecir progresión y evaluar resultados clínicos³².

Durante los últimos 50 años la biopsia hepática ha sido considerada como el “estándar de oro” para la medición de fibrosis hepática; sin embargo, como cualquier procedimiento invasivo tiene sus limitantes, entre ellos el costo, morbilidad y variabilidad interobservador, teniendo una tasa de discordancia de hasta 25%³³.

Las guías prácticas para el tratamiento de VHC incorporan pruebas no invasivas para valorar fibrosis. En un estudio prospectivo, multicéntrico realizado en Europa que comparó 9 ensayos y marcadores directos e indirectos, además de fibroscan contra biopsia hepáticas, en pacientes con infección crónica por VHC, se demostró que el Fibrometer, Fibrotest, Hepascore y Fibroscan tuvieron una eficacia similar en el desempeño diagnóstico. La combinación de uno de los tres métodos biológicos con el Fibroscan reduce considerablemente la cantidad de biopsias realizadas al aumentar su rendimiento diagnóstico en un 78-82% para fibrosis significativa y hasta un 93% en pacientes con cirrosis³⁴.

TRATAMIENTO

El tratamiento de infección crónica por VHC tiene como objetivo lograr una respuesta viral sostenida, lo cual se define como la ausencia de RNA viral en suero 12 semanas después de completar el tratamiento antiviral. El segundo objetivo del tratamiento es prevenir la progresión a cirrosis, hepatocarcinoma y descompensación de la enfermedad hepática que pueda conllevar a la necesidad de trasplante hepático³⁵.

Al estudiar el genoma del VHC se pudo facilitar el desarrollo de AAD, generando inhibidores con acción dirigida hacia una proteína no estructural del VHC, los mismos que han condicionado un cambio radical tanto en el pronóstico como en la historia natural de la infección por VHC³⁶.

Antes de la llegada de los AAD, la base del tratamiento residía en el uso de interferón (INF,1991) subcutáneo, tanto en su forma convencional como pegilado (2001), cuya eficacia se veía significativamente incrementada con la adición de ribavirina (RBV, 1998) por vía oral. Ninguno de estos agentes tiene actividad antiviral directa, su mecanismo de acción subyacente es inmunológico³⁷.

Agentes antivirales directos

El tratamiento con AAD es una medida costo-efectiva que disminuye la admisión hospitalaria y la mortalidad de forma significativa. Se ha reportado una tasa de respuesta viral sostenida de 90-95%, en comparación con la terapia dual con interferon pegilado más ribavirina, con la cual se obtiene una RVS en 50-70% de los pacientes que completaron el tratamiento³⁸. Asociado a la tasa elevada de RVS los AAD también tienen un mejor perfil de seguridad³⁹.

El tratamiento con AAD consiste en la combinación de fármacos que actúan frente a diferentes dianas del VHC. Según la fase del ciclo sobre la cual actúan, impidiendo así la replicación del virus. Se agrupan en las siguientes familias:

- a) Inhibidores de proteasa (IP) NS3/4
- b) Inhibidores de la proteína NS5A
- c) Inhibidores de la polimerasa NS5B. Estos pueden ser análogos de nucleósidos y no análogos de nucleósidos.

INHIBIDORES DE PROTEASA (IP) NS3/4

Actúan inhibiendo la proteasa del VHC NS3/4. Pertenecen a esta familia los fármacos con terminación “previr”.

En 2011 se aprobó Telaprevir (TPV) a dosis de 1125mg cada 12 horas y Bocaprevir (BOC) a dosis de 800mg cada 7-9 horas como tratamiento de infección por VHC genotipo 1, ambos agentes se consideran los IP de “primera generación”. Su vida media era corta y se descontinuaron en el 2015, ya que fueron sustituidos por IP de “segunda” y “tercera” generación.

Son más activos frente a G1b que frente a G1a. Actualmente tienen una farmacocinética que permite su administración una vez al día. Son fármacos con actividad frente a genotipos del VHC 1, 2 y 4.

Los IP NS3/4 aprobados actualmente son: Simeprevir (SMV), Ritonavir/Paritaprevir (R/PTV): componente de Viekira Pak, Grazoprevir (GZV) y Asunaprevir (No disponible en México). Ninguno de ellos aprobado para utilizarse en cirrosis descompensada, ya que hay riesgo de favorecer la progresión de hepatopatía y toxicidad hepática⁴⁰.

En pacientes con genotipo 1a se deben utilizar en combinación con Rivabirina y en el caso de Grazoprevir se debe prolongar su uso por 16 semanas en pacientes con factores de mal pronóstico.

Los últimos medicamentos que se incorporaron a ésta familia son Glecaprevir (Abbvie) y Voxilaprevir (Gilead), tienen mayor potencia antiviral y se consideran pangenotípicos ya que su espectro se amplía a G3.

INHIBIDORES DE NS5A

Actúan bloqueando la unión entre la proteína NS5A y los sitios de replicación intracelular del VHC. Pertenecen a esta familia los fármacos con terminación “asvir”.

Se consideran pangenotípicos, ya que tienen actividad frente a G1 al G6. Muestran mayor actividad en G1b que G1a. Tienen una farmacocinética que permite emplearlos una vez al día⁴¹.

Los inhibidos de NS5A aprobados actualmente son: daclatasvir (DCV), ledipasvir (LDV, coformulado con sofosbuvir), ombitasvir (OBV, coformulado con ritonavir/paritaprevir), velpatasvir (VEL, coformulado con sofosbuvir ó voxilaprevir), elbasvir (EBV, coformulado con gazoprevir) y pibrentasvir (coformulado con glecaprevir).

INHIBIDORES DE POLIMERASA NS5B

Pertencen a esta familia los fármacos con terminación “buvir”. Entre ellos pueden ser análogos de nucleósidos (sofosbuvir) y no análogos de nucleósidos (dasabuvir).

Los análogos de nucleósidos se incorporan al RNA viral y bloquean la cadena de replicación, uniéndose al sitio catalítico de la enzima NS5B. Esta zona es común en todos los genotipos (pangenotípicos). El sofosbuvir tiene alta barrera de resistencia y pocos efectos secundarios así como baja interacción con otros fármacos.

Los análogos no nucleósidos de la NS5B son inhibidores no competitivos, bloquean el inicio de la cadena, no se consideran pangenotípicos.

AAD	Formulación	Genotipo	Año en que se aprobó
Simeprevir	Solo o en combinación con ribavirina + interferon	1,4	2013
Sofosbuvir	Solo o en combinación con simeprevir, daclatasvir o ribavirina +/- interferon	1,2,3,4	2013
Ledipasvir/sofosbuvir	Combinación en dosis fija	1,4,5,6	2014
Ombitasvir/ Paritaprevir/ritonavir/ dasabuvir	Combinación en dosis fija	1	2014
Daclatasvir	Solo o en combinación con sofosbuvir	1,3	2015

AAD	Formulación	Genotipo	Año en que se aprobó
Elbasvir/grazoprevir	Combinación en dosis fija	1,4	2016
Sofosbuvir/velpatasvir	Combinación en dosis fija	1,2,3,4,5,6	2016
Sofosbuvir/velpatasvir/ voxilaprevir	Combinación en dosis fija	1,2,3,4,5,6	2017
Glecaprevir/ pibrentasvir	Combinación en dosis fija	1,2,3,4,5,6	2017

Tabla 1.0. Regímenes de AAD aprobados para tratamiento de infección por VHC

3. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad hepática relacionada al VHC es un problema sanitario relevante en México. Existen muy pocos estudios epidemiológicos en pacientes mexicanos con infección por virus de hepatitis C que han recibido tratamiento con AAD.

4. OBJETIVOS

Objetivo primario:

- Determinar la respuesta viral sostenida a los 12 meses en pacientes del Hospital Ángeles Lomas que recibieron tratamiento con agentes antivirales directos en infección crónica por virus de hepatitis C.

Objetivos secundarios:

- Describir las características socio-demográficas, clínicas y bioquímicas de los pacientes con infección por VHC en tratamiento con agentes antivirales directos.
- Determinar la prevalencia de no respondedores a tratamiento en pacientes que recibieron algún agente antiviral directo.
- Determinar el genotipo más frecuente en pacientes mexicanos con infección por VHC.

5. HIPÓTESIS

H1: La respuesta viral sostenida 12 meses después del tratamiento con AAD será superior al 90%

H0: La respuesta viral sostenida 12 meses después del tratamiento con AAD será inferior al 90%

6. CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Estudio de cohorte observacional, retrospectivo, dentro de la práctica clínica habitual de una consulta en el Hospital Ángeles Lomas.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

-Estudio de cohorte retrospectivo. Revisión de expediente clínico de 37 pacientes con diagnóstico de infección por hepatitis C por medio de que acudieron a consulta externa y recibieron tratamiento con agentes antivirales directos en el periodo comprendido de 2016- 2019.

En una base de datos diseñada para el estudio se registraron variables demográficas, serológicas, analíticas y clínicas.

Criterios de inclusión:

- 1.- Pacientes mayores a 18 años con diagnóstico de infección por hepatitis C establecido a partir de una serología positiva (anticuerpos frente a VHC detectados por ELISA) y datos de replicación activa del virus (ARN detectable por PCR cuantitativa).
- 2.- Pacientes que recibieron al menos una dosis de un régimen antiviral basado en AAD en el Hospital Ángeles Lomas. Con el fin de obtener respuesta viral sostenida (RVS) a las 12 semanas de haber finalizado el tratamiento.

Criterios de exclusión:

- 1.- Pacientes con datos incompletos.
- 2.- Pacientes que no finalizaron las 12 semanas de tratamiento o aquellos que fallecieron durante el tratamiento.

-Variables del estudio:

Variable	Definición operacional	Escala de medición	Fuente	Tipo de Variable
VARIABLES DE BASE				
Género sexual	Género sexual	1. Hombre 2. Mujer	Expediente	Catagórica nominal dicotomica
Tiempo de tratamiento con AAD*	Tiempo de tratamiento en días desde el inicio de AAD hasta el inicio del estudio	Días	Expediente	Numérica continua
Edad	Edad en años cumplidos	Años	Expediente	Catagórica nominal
Cirrosis	La presencia de cirrosis definida por Metavir F4	1. Si 2. No	FibroScan/ Elastografía	Catagórica nominal dicotomica
Clase Child-Pugh	Grado de severidad dependiendo de puntaje obtenido.	1. A (leve-) 2. B (moderada) 3. C (severa)	Escala Child-Pugh	Catagórica nominal
Puntaje Child-Pugh	Calcular puntaje tomando en cuenta bilirrubina, albúmina, INR, Ascitis y Encefalopatía hepática	Clase A: 5-6 puntos Clase B: 7-9 puntos Clase C: 10 - 15 puntos	Expediente	Numérica continua
Score MELD-Na	Determinar puntaje de MELD-Na tomando en cuenta Creatinina, bilirrubina, INR y Na sérico.	Mortalidad a 3 meses: <9 : 1.9% 10-19: 6% 20-29: 19.6% 30-39: 52.6% 40 o más: 71.3%	Expediente	Numérica continua
Genotipo	Genotipo de VHC	1. 1a 2. 1b 3. 2a 4. 2b 5. 2a/2c 6. 3	Expediente	Numérica discontinua
Carga viral inicial	Carga viral cuantitativa por medio de PCR, previo a tratamiento con AAD	UI/mL	Expediente	Catagórica nominal
Grado de fibrosis	Grado de fibrosis por medio de ARFI, FibroScan, RM, Fibrotest o biopsia	0=F0 1=F1 2=F2 3=F3 4=F4	Expediente	Numérica discontinua
Método diagnóstico	Método por el cual se obtuvo el grado de fibrosis	1= ARFI 2= FibroScan 3=RM 4=Fibrotest 5= Biopsia	Expediente	Catagórica nominal

Factores de riesgo	Factores de riesgo reconocidos de transmisión del VHC.	0= Ninguno 1= Uso de drogas IV 2= Transfusión 3= Contacto punzo-cortantes contaminados 4= Trabajador de la salud 5= Trasplante de órgano 6= Contacto sexual 7= Transmisión perinatal 8= Hemodiálisis	Expediente	Numérica discontinua
Sodio	Niveles de Na sérico	mEq/L	Expediente	Numérica continua
Creatinina	Niveles de creatinina sérica	mg/dL	Expediente	Numérica continua
Albúmina	Niveles de albúmina sérica	g/dL	Expediente	Numérica continua
Bilirrubina total	Bilirrubina total en suero	mg/dL	Expediente	Numérica continua
Fosfatasa alcalina	Fosfatasa alcalina sérica	mg/dL	Expediente	Numérica continua
AST	Niveles de aspartato aminotransferasa sérica	mg/dL	Expediente	Numérica continua
ALT	Niveles de alanina aminotransferasa sérica	mg/dL	Expediente	Numérica continua
INR	International Normalized Ratio. Estandarizar cambios a través del tiempo de protrombina.	%	Expediente	Numérica continua
Hemoglobina	Niveles de hemoglobina	g/dL	Expediente	Numérica continua
Plaquetas	Conteo planetario en sangre	mg/dL	Expediente	Numérica continua
Encefalopatía	Síndrome neuropsiquiátrico explicado por falla hepática	1= SI 2= NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Grado de encefalopatía	Severidad de encefalopatía hepática basado en la escala West-Haven	0=Ninguna 1= Insomnio, atención alterada, euforia 2= Letargia, amnesia reciente, desorientación, ansiedad. 3=Somnolencia, babinski, estupor 4= Coma	Expediente	Numérica discontinua
Ascitis	Presencia de líquido en abdomen	1=SI 2=NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Grado de Ascitis	Cantidad de líquido abdominal	1= Leve (Solo detectable por US) 2= Moderada (distensión simétrica) 3=Grave (distensión a tensión)	Expediente	Numérica discontinua
Trombosis portal	Presencia de trombosis en vena porta	1=SI 2=NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica

Carcinoma Hepatocelular Per-Tratamiento	Presencia de carcinoma hepatocelular previo al tratamiento con AAD	1=SI 2=NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Carcinoma Hepatocelular Post-Tratamiento	Presencia de carcinoma hepatocelular después de tratamiento con AAD	1=SI 2=NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Tiempo entre inicio tratamiento y diagnóstico de carcinoma hepatocelular	Tiempo transcurrido en años desde el tratamiento con AAD y el diagnóstico de carcinoma hepatocelular	Años	Expediente	Categoría nominal
Otras neoplasias malignas	Presencia de otras neoplasias malignas distintas a hepatocarcinoma	1=No 2=Colangiocarcinoma 3=Cáncer de mama	Expediente	Categoría nominal
Confección con VIH	Presencia de VHC y confección con VIH	1= SI 2= NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Hepatopatía coexistente	Presencia de alguna otra causa de hepatopatía	0=Ninguna 1=Hepatitis autoinmune 2=DILI 3=CBP 4=CEP 5=Enfermedad Wilson 6=Hemocromatosis 7= Hepatitis por VHB 8= Otra	Expediente	Categoría nominal
Várices esofágicas	Presencia de várices esofágicas	1=SI 2=NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Grado de várices esofágicas	Severidad de las várices esofágicas	1= <5mm rectas, desaparecen con instalación 2= Tortuosas, <1/3 luz esofágica, no desaparecen. 3= >5mm, >1/3 de la luz esofágica	Expediente	Númerica discontinua
Várices gástricas	Presencia de várices a nivel gástrico	1= SI 2= NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Grado de várices gástricas	Severidad de várices gástricas según la escala de Sarin	0= No hay várices 1= GOV1 (Esófago-gástricas curvatura menor) 2= GOV2 (Esófago-gástricas curvatura mayor) 3=IGV1 (Gástricas aisladas en fondo) 4=IGV2 (Gástricas aisladas en cuerpo, antro o píloro).	Expediente	Categoría nominal
Tratamiento previo	Reportar si el paciente había recibido tratamiento previo para VHC	1= Naive 2=Tratamiento previo con AAD 3=Tratamiento con PegIFN/ RBV	Expediente	Categoría nominal

Clasificación paciente	Clasificación del paciente según la respuesta al tratamiento con AAD	1= Respondedor 2= Recaída (reaparición de la viremia antes de la semana 24 después de haber finalizado tratamiento con viremia negativo). 3=Respondedor parcial (Disminución de al menos 1 log 10 en la viremia) 4= No respondedor 5=Falla a Inhibidor de proteasa (PegIFN/Boceprevir o telaprevir) 6=Falla a PegIFN/RBV 7=Receptor de trasplante 8= Suspensión precoz (discontinuación del tratamiento por toxicidad en pacientes con viremia negativa o por otros motivos diferentes e independientes a negativización de la viremia).	Expediente	Categórica nominal
Tratamiento	AAD que recibió el paciente	1= Sofosbuvir + Ledipasvir (genérico) 2=Sofosbuvir + Ledipasvir (Harvoni) 3=Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV 4=Sofosbuvir + Velpatasvir 5=Sofosbuvir + Ribavirina 6=Sofosbuvir + Daclatasvir 7=Viekira-Pak 8=Sofosbuvir-Ledipasvir (Myhep)	Expediente	Categórica nominal
Duración del tratamiento	Tiempo de duración del tratamiento en semanas	Semanas de tratamiento	Expediente	Numérica continua
Fecha término del tratamiento	Día en el cual finalizó el tratamiento	Días	Expediente	Numérica continua
CV a las 4 semanas de tratamiento	Carga viral durante el primer mes de tratamiento	UI/mL	Expediente	Numérica continua
CV al final del tratamiento	Carga viral después de finalizar el tratamiento	UI/mL	Expediente	Numérica continua
CV a las 12 semanas de tratamiento	Carga viral al completar 12 semanas de tratamiento	UI/mL	Expediente	Numérica continua
Efectos adversos	La presencia de efectos adversos relacionados al tratamiento con AAD	0=Ninguno 1=Fatiga 2=Dolor articular 3=Insomnio 4=Prurito	Expediente	Categórica nominal
Adherencia	Adherencia al tratamiento	1=SI 2=NO	Expediente	Categórica nominal dicotómica

Comorbilidades	La presencia de otras enfermedades no hepáticas asociadas	1=Ninguna 2=DM2 insulino dependiente 3=DM2 no insulino dependiente 4=Cardiopatía isquémica 5=HAS 6=Adenoma hipofisiario 7=Dislipidemia 8=Consumo crónico de AINES 9=ERGE 10=Talasemia 11=Hipotiroidismo 12=Adenoma tubular 13=Crioglobulinemia	Expediente	Categoría nominal
Mortalidad	Mortalidad durante el seguimiento	1=SI 2= NO	Expediente	Categoría nominal dicotómica
Tiempo de seguimiento	Tiempo en años de seguimiento por consulta extenuar	Años de seguimiento	Expediente	Númerica continua

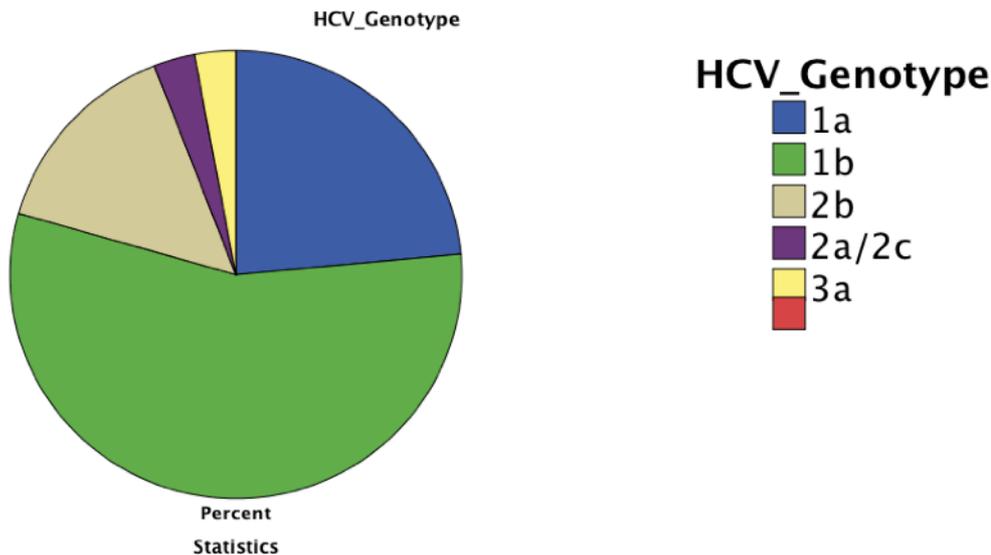
Tabla 2.0: Operacionalización de variables.

8. RESULTADOS

Durante el periodo de Abril del 2015 a Diciembre del 2018, se analizaron 45 expedientes, de los cuales se excluyeron 11 pacientes (9 de ellos no tenían los datos completos y 2 de ellos fallecieron durante el tratamiento), dándonos una muestra final de 34 pacientes (N=34).

Se recolectaron los datos de 34 pacientes quienes cumplieron los criterios de selección para el estudio. Ningún paciente fue eliminado del estudio una vez que se realizó la base de datos, todos los pacientes completaron el tratamiento a las 12 semanas. Dentro de los pacientes seleccionados, 14 (41.17%) fueron hombres y 20 (58.82%) mujeres. La edad promedio fue de 62.08 años (DE 10.77). Así mismo, 13 pacientes presentaban cirrosis al inicio del estudio (38.2%). Dentro de dichos pacientes, 12 pacientes se encontraban en clase Child-Pugh A (95.5%) y 1 paciente (4.5%) se encontraba en clase B. En cuanto al puntaje de dicha clasificación, la media en los pacientes con cirrosis fue de 5.23 puntos, con una moda y mediana de 5 puntos. Dentro del MELD-Na score, se documentó una media de 8 puntos (5.60 - 10.39).

El genotipo mas frecuentemente encontrado fue el 1b con 19 casos (55.9%) seguido de 1a con 8 casos (23.5%) y 2b con 5 casos (14.7%). Los genotipos 2a/2c y 3a se presentaron en un caso respectivamente (2.9%) (**Fig 3.0**).



Se documentó una media de carga viral inicial de 1,959,149.85 copias (1,570.00 - 13,700,000.00). El logaritmo de carga viral inicial se documentó con una media de 5.55 (DE 0.88). El grado de fibrosis mas común fue F2 y F4 con 11 casos respectivamente (32.4% respectivamete), seguido de F1 con 6 casos (17.6%) y F3 con 5 casos (14.7%). Únicamente se documentó un caso F0 (2.9%). Ningún paciente dentro del estudio fue VIH positivo. Dentro de los pacientes incluidos en el estudio, la mayoría eran vírgenes a tratamiento (29 casos 85.3%), 3 se encontraban con historia de tratamiento con PegIFN

RBV (8.8%) y 2 con historia de tratamiento con Simprevir/IFN/RBV (5.9%) (Tabla 3.0).

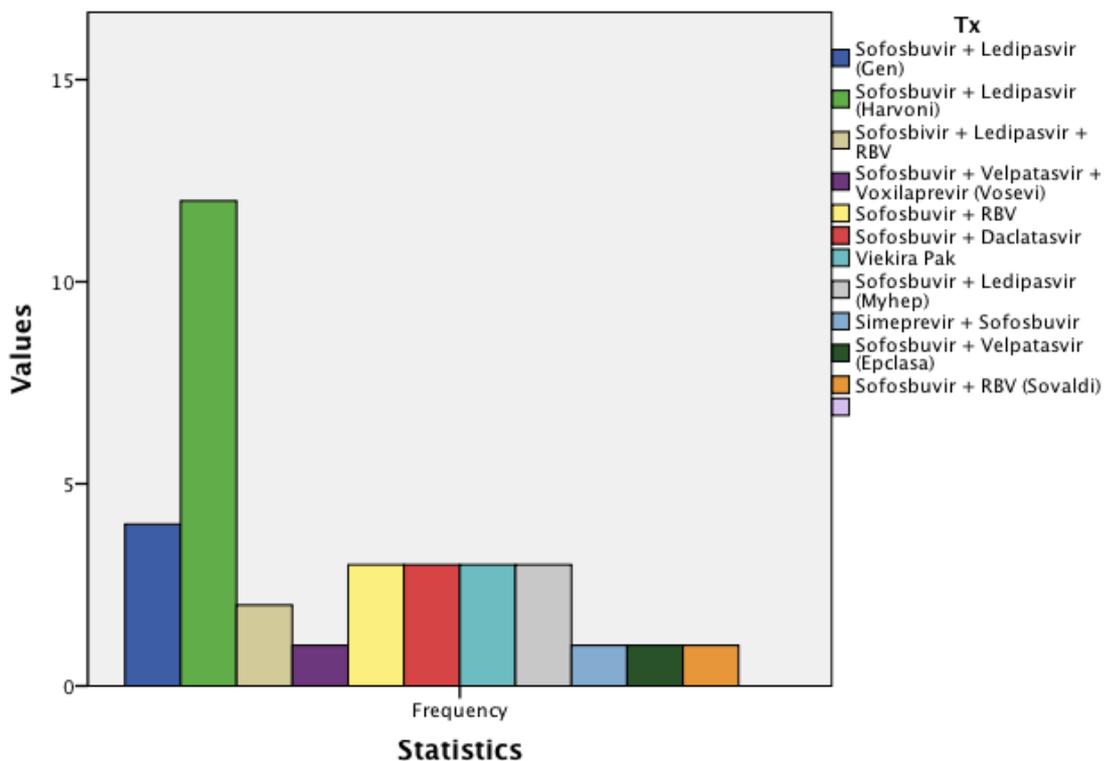
Frequency Table

		Prev_Tx			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Naive	29	85.3	85.3	85.3
	PegIFN/RBV	3	8.8	8.8	94.1
	Simprevir/IFN/RBV	2	5.9	5.9	100.0
	Total	34	100.0	100.0	

Dentro de las categorías de respuesta, se encontró que 29 casos (85%) se encontraban determinados como pacientes respondedores, 2 pacientes (5.9%) en recaída, 1 paciente (2.9%) como no respondedor, y 2 pacientes (5.9%) como falla a PegIFN/RBV.

El tratamiento utilizado con mayor frecuencia fue la combinación de Sofosbuvir + Ledipasvir (Harvoni) en 12 casos (35.3%), seguido de Sofosbuvir + Ledipasvir (Gen) en 4 casos (11.8%). Las combinaciones de Sofosbuvir + RBV, Sofosbuvir + Daclatasvir, Sofosbuvir + Ledipasvir, y Viekira Pak se utilizaron en 3 casos respectivamente (8.8% respectivamente). La combinación con Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV se utilizó en 2 casos (5.9%), mientras que las combinaciones de Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir (Vosevi), Simeprevir + Sofosbuvir, Sofosbuvir + RBV (Sovaldi), y Sofosbuvir + Velpatasvir en 1 caso respectivamente (2.9% respectivamente). (Tabla 4.0) (Fig 4.0)

		Tx			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Sofosbuvir + Ledipasvir (Gen)	4	11.8	11.8	11.8
	Sofosbuvir + Ledipasvir (Harvoni)	12	35.3	35.3	47.1
	Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV	2	5.9	5.9	52.9
	Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir (Vosevi)	1	2.9	2.9	55.9
	Sofosbuvir + RBV	3	8.8	8.8	64.7
	Sofosbuvir + Daclatasvir	3	8.8	8.8	73.5
	Viekira Pak	3	8.8	8.8	82.4
	Sofosbuvir + Ledipasvir (Myhep)	3	8.8	8.8	91.2
	Simeprevir + Sofosbuvir	1	2.9	2.9	94.1
	Sofosbuvir + Velpatasvir (Epclasa)	1	2.9	2.9	97.1
	Sofosbuvir + RBV (Sovaldi)	1	2.9	2.9	100.0
	Total	34	100.0	100.0	



A las 4 semanas de tratamiento, se observó una respuesta viral completa en 97.05% de los pacientes, encontrando carga viral no detectable. Únicamente 1 paciente (2.05%) fue detectado con 53.00 copias. Dicho paciente destaca ser documentado en tratamiento con Sofosbuvir + Ledipasvir (Gen). A las 12 semanas de tratamiento, el 97.05% de los pacientes presentaron una carga viral no detectable, mientras que únicamente 1 paciente (2.05%) mostró una carga de 4,130.00 copias. Cabe destacar que los pacientes con carga viral detectable en la semana 4 y la semana 12 no corresponden al mismo caso. El paciente que no mostró respuesta viral sostenida a las 12 semanas, se documentó en tratamiento con Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir (Vosevi).

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Utilizando el programa IBM SPSS Statistics 22.0, se introdujeron los datos de los 34 casos junto con las 38 variables a estudiar. Se utilizó la respuesta viral sostenida como variable de desenlace primario, y al ser de naturaleza dicotómica se aplicó un modelo de regresión logística binaria. Utilizando un intervalo de confianza del 95% junto con una prueba de Hosmer & Lameshow contando con las variables de genotipo de VHC, sexo, carga viral inicial, y tratamiento (**Fig 5.0**). Aplicando el modelo descrito se obtuvo un grado de significancia de 0.001 con 1 grado de libertad (**Fig 6.0**)

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	HCV_Genotype	-11.425	4420.424	.000	1	.998	.000	.000	.
	Sex	-50.615	8939.763	.000	1	.995	.000	.000	.
	VLoad_Log	38.314	5928.973	.000	1	.995	4.362E+16	.000	.
	Tx	1.356	3779.901	.000	1	1.000	3.882	.000	.
	Constant	-34.320	15616.052	.000	1	.998	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: HCV_Genotype, Sex, VLoad_Log, Tx.

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0	Constant	3.497	1.015	11.866	1	.001	33.000

Para probar la ampliación del segundo modelo con las variables descritas, se utilizaron la pruebas de coeficientes entre modelos (**Fig 7.0**).

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	9.023	4	.061
	Block	9.023	4	.061
	Model	9.023	4	.061

El análisis entre tratamientos utilizando una prueba de regresión logística por bloques resultó insuficiente con la muestra obtenida, ya que el 97.05% de los pacientes presentaron una carga viral no detectable a las 12 semanas.

10. DISCUSIÓN

La experiencia clínica reportada en la literatura apunta que los AAD tienen una alta tasa de efectividad. La intención de nuestro estudio fue conocer la respuesta viral sostenida a 12 meses de tratamiento con agentes antivirales directos en pacientes con infección crónica por VHC que recibieron tratamiento en el Hospital Ángeles Lomas.

Los pacientes incluidos en esta cohorte fueron tratados con diferentes regímenes, el agente empleado con mayor frecuencia fue la combinación de Sofosbuvir + Ledispavir en un 35.3%, probablemente esto se explica por el predominio de genotipo 1a y al ser un régimen utilizado una vez al día en pastilla única facilita la adherencia al tratamiento. Ninguno de los pacientes interrumpió el tratamiento y ninguno de ellos presentó algún efecto adverso grave. El 32% de los pacientes presentaron algún efecto adverso leve, entre los efectos adversos más comunes destacan la presencia de fatiga y dolor articular.

La tasa de RVS a las 12 semanas fue de 97.05%, el único paciente no respondedor recibió tratamiento con Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir, siendo el paciente genotipo 1b y sabiendo que la tasa de respuesta en este grupo de pacientes es especialmente relevante podríamos pensar que pudo haber tenido algún otro factor asociado que no se logró elucidar, probablemente falta de apego al tratamiento.

Una limitante importante de nuestro estudio es que al ser retrospectivo no se pudieron controlar diversas variables; sin embargo, a pesar de que la muestra fue pequeña, el no tener criterios de inclusión estrictos nos permite extrapolar los resultados a una población real. Algo valioso de este estudio es que en la población mexicana el acceso a los AAD aún sigue siendo limitado ya que el costo del tratamiento es elevado, por tal motivo existe poca información acerca de pacientes mexicanos que han recibido tratamiento con regímenes libres de IFN + RBV.

11. CONCLUSIONES

El uso de agentes antivirales de acción directa en pacientes mexicanos que recibieron tratamiento en un hospital privado mostró una eficacia similar a lo ya reportado en la literatura a nivel internacional (Respuesta viral sostenida a las 12 semanas de tratamiento= 97%).

El Genotipo 1a fue el más prevalente de nuestro estudio, también destaca que fue el genotipo tratado con la mayor variedad de opciones terapéuticas.

Se ha demostrado que los AAD tienen un amplio perfil de seguridad, en nuestro estudio ninguno de los pacientes presentó efectos adversos graves. Únicamente el 32% de ellos presentó algún factor adverso leve.

11. REFERENCIAS

- 1) World Health Organization. Hepatitis C: fact sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>. Updated: October 2017;
- 2) Smith BD, et al. MMWR Recomm Rep. 2012;61(RR-4):1-32.
- 3) Bukh J, Miller RH, Purcell RH. et. al AASLD/IDSA. HCV Guidelines 2017. Genetic heterogeneity of the hepatitis C virus. Princess Takamatsu Symp 1995; 25: 75-91.
- 4) Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brecht C et. al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994; 19 (5): 1321-1324.
- 5) Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 2004; 39 (1):5-19.
- 6) Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States. *NEJM*. 1999 Aug 19. 341 (8): 556-62.
- 7) Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017;2:161-176
- 8) Alberti A, Chemello L, Benvegna L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatology* 2009; 31 (1): 17-24.
- 9) Bowen DG, Walker CM. Mutational escape from CD8+ T cell immunity: HCV evolution, from chimpanzees to man. *J Exp Med* 2005;201:1709-14
- 10) Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology* 2008;48:418-31.
- 11) Afdhal NH. The natural history of hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2004; 24: Suppl 2:3-8.
- 12) Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-72.
- 13) Rosen, H. R. (2011). Chronic Hepatitis C Infection. *New England Journal of Medicine*, 364(25), 2429-2438. doi:10.1056/nejmcp1006613.
- 14) Memon MI, Memon MA. Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat* 2002; 9(2): 84-100.
- 15) Bruguera M. Sporadic hepatitis C: relative significance of non-apparent vertical, sexual, and parenteral transmission of the hepatitis C virus. *Med Clin* 1998; 111 (17): 658-659.
- 16) Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26:21S.
- 17) Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1:9.
- 18) Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999; 45:613.
- 19) Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, et. al. The GERMIVIC. Groupe. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. *Medicine*. Jan 2000. 79(1): 47-56.
- 20) Ferri C, Ramos-Casals M, Zignego AL, et al. International diagnostic guidelines for patients with HCV-related extrahepatic manifestations. A multidisciplinary expert statement. *Autoimmun Rev* 2016; 15:1145.
- 21) Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gobble J, Melpolder J, et. al. Routes of infection, viremia and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *NEJM*. 1996; 334 (26): 1691.
- 22) Kirk GD, Mehta SH, Astemborski J, et al. HIV, age, and the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a cohort study. *Ann Intern Med* 2013; 158:658.
- 23) Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, et al. Outcomes after successful direct-acting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2016;65:741-747.
- 24) Anand BS, Velez M. Assessment of correlation between serum titers of hepatitis C virus and severity of liver disease. *World J Gastroenterology* 2004; 10:2409.
- 25) Sagnelli E, Coppola N, Messina V, et al. HBV superinfection in hepatitis C virus chronic carriers, viral interaction, and clinical course. *Hepatology* 2002; 36:1285.

- 26) Farci P, Alter HJ, Wong D, et al. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1991; 325:98.
- 27) Ferreira González A, Shiffmann ML. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis.* 2004; 24 2:9-18.
- 28) Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology.* 2002;36(5):65-72.
- 29) Maggi F, Focosi D, et. al. How Current Direct-Acting Antiviral and Novel Cell Culture Systems for HCV are Shaping Therapy and Molecular Diagnosis of Chronic HCV Infection. *Curr Drug Targets.* 2015 Aug 6.
- 30) Ghany MG, Nelson DR, et. al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the AASLD. *Hepatology* 2011 Oct. 54 (4): 1433-44.
- 31) Vasilios P, Emmanuel T, Andrew K. Non-invasive assessment of liver fibrosis. *Annals of Gastroenterology.* 2012; 25:218-231.
- 32) Pierre Bedossa P, Darge're D, Paradis V. Sampling Variability of Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 1449-1457.
- 33) Zarski J, et. al. Comparison of nine blood tests and transient elastography for liver fibrosis in chronic hepatitis C: The ANRS HCEP-23 study. *Journal of Hepatology.* 2012; 56: 55-62.
- 34) Jezequel C, Bordou-Jacquet E, Desille Y, et. al. Survival of patients infected bu chronic hepatitis C and F1F1fibrosis at baseline after a 15 year follow-up. 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of Liver (EASL); April 26, 2015;
- 35) Roche Bruno, Coilly Audrey, Duclos-Vallee Jean Charles, et. al. The impact of treatment of hepatitis C with DAAS on the occurrence of HCC. *Liver Int.* 2018; 38 (Suppl.1): 139-145.
- 36) Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
- 37) Simmons B, Saleem J, Heath K, Cooke GS, Hill A. Long-term treatment outcomes of patients infected with hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a sustained virological response. *Clin Infect Dis.* 2015;61:730-740.
- 38) Muñoz et al. Curing Decompensated Wait Listed HCV Patients with the New DAAs: The Potential Significant Impact on Liver Transplant Wait List and Organ Allocation. (2015), 1-2. 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA Nov 13-17 2015 Abstract 202.
- 39) Sanford Joan, et. al. Advances in the treatment of hepatitis C virus Infection from EASL 2013: the 48th annual meeting of the European Association for the Study of Liver; April 24-28, 2013; Amsterdam. Simeprevir plus peginterferon/ribavirin is associated with a high SVR12 rate in treatment-naïve patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology and Hepatology.* 2013 Jun; 9 (6 Suppl 3): 1-18.
- 40) Carrasco I, Arias A, Benitez-Gutierrez L, et.al. Baseline NS5A resistance associated substitutions may impair DAA response in real-world hepatitis C patients. *J Med Virol.* 2018 Mar. 90 (3) : 532-6.
- 41) Chirino-Sprung RA, Dehesa M, et.al. Chronic Hepatitis C Treatment with Direct-Acting Antiviral Agents in a Real-Life setting. *Rev Invest Clin.* 2016 Jul-Aug; 68 (4): 203-12.