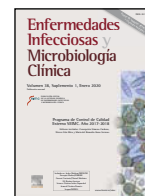


Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Posición actual de la carga viral frente a la determinación de antígeno core del virus de la hepatitis C



Antonio Aguilera^{a,*}, Juan Carlos Alados^{b,*}, Roberto Alonso^c, José María Eiros^d y Federico García^{e,f,*}

^aServicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y Departamento de Microbiología de la Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, A Coruña, España

^bServicio de Microbiología, Hospital Universitario de Jerez, Jerez, Cádiz, España

^cServicio de Microbiología, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^dServicio de Microbiología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

^eServicio de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

^fInstituto de Investigación Biosanitaria Ibs.Granada, Granada, España

*Estos autores han colaborado por igual y comparten la primera autoría.

RESUMEN

Palabras clave:

Hepatitis C
Diagnóstico
Tratamiento
Antígeno core
Carga viral

La cuantificación del ARN del virus de la hepatitis C –VHC– (carga viral) constituye el marcador más utilizado para diagnosticar y confirmar la infección activa por el VHC. El antígeno core del VHC forma parte de la estructura interna del virus y, al igual que el ARN del VHC, su detección indica también replicación viral, y presenta algunas ventajas frente a la carga viral como los costes que conlleva, que son menores que los de la carga viral, la estabilidad de la diana, que es superior que la de la carga viral, la posibilidad de trabajar con el mismo tubo primario que el que se utiliza para la serología de VHC y la rapidez para obtener resultados, ya que no es necesario trabajar en lotes como ocurre con la mayoría de las plataformas de carga viral. Aunque el antígeno core presenta menor sensibilidad analítica que el ARN del VHC para la detección de viremias bajas, diversos estudios y guías han puesto ya de manifiesto su utilidad para la identificación de pacientes con infección activa por VHC. En este capítulo se resumirán las plataformas actuales para la determinación de carga viral, incluyendo los sistemas "point of care"; se revisarán igualmente las indicaciones que las principales guías de tratamiento de hepatitis C atribuyen a este marcador. Además, se revisarán las características del antígeno core del VHC, las plataformas existentes para su determinación, la correlación que existe con la determinación de carga viral y las indicaciones que las distintas guías reconocen para este marcador.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Current position of viral load versus hepatitis C core antigen testing

ABSTRACT

Keywords:

Hepatitis C
Diagnosis
Treatment
Core antigen
Viral load

Quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA (viral load) is the most widely used marker to diagnose and confirm active HCV infection. The HCV core antigen forms part of the internal structure of the virus and, like HCV RNA, its detection also indicates viral replication and presents certain advantages over viral load testing such as its lower cost, the greater stability of the target, the possibility of working with the same primary tube as that used for HCV serology, and the rapidity of obtaining results, since there is no need to work in batches, unlike the situation with most viral load platforms. Although the core antigen has lower analytical sensitivity than HCV RNA for the detection of low viremia levels, several studies and guidelines have already shown their utility in the identification of patients with active HCV infection. This article summarises current platforms for viral load determination, including point-of-care systems, and also reviews the indica-

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fegarcia@ugr.es (F. García).

tions attributed to this marker by the main HCV treatment guidelines. The article also reviews the characteristics of HCV core antigen, the available platforms for its determination, its correlation with viral load determination, and the indications for this marker in the distinct guidelines.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

Solo 30 años después del descubrimiento del virus de la hepatitis C (VHC), asistimos a una de las más importantes oportunidades en microbiología clínica para contribuir a la eliminación de una enfermedad infecciosa. En la actualidad, la eliminación del VHC constituye un verdadero reto de los profesionales sanitarios, en el que los microbiólogos clínicos jugamos un papel fundamental, y al que debemos sentirnos obligados a participar.

Para contribuir a este reto, el diagnóstico en un paso representa un eslabón fundamental. El diagnóstico de la hepatitis C debe consistir en realizar, sobre la misma muestra, en un solo paso, la detección de anticuerpos y un ensayo que permita establecer si el paciente es virémico, es decir, si tiene infección activa por VHC, o no. Este tipo de diagnóstico ha demostrado un importante impacto en salud^{1,2}, y también ha revelado ser coste-eficaz³. Para determinar la viremia, clásicamente se ha utilizado la cuantificación del ARN del VHC (carga viral [CV]), por lo que es el marcador más extendido para diagnosticar y confirmar la infección activa por VHC. El antígeno *core* del VHC forma parte de la estructura interna del virus y, al igual que el ARN del VHC, su detección indica también replicación viral.

En este capítulo se presentarán las plataformas actuales para la determinación de CV, incluyendo los sistemas “*point of care*”, y se revisarán igualmente las indicaciones que las principales guías de tratamiento de hepatitis C atribuyen a este marcador. Además, se revisarán las características del antígeno *core* del VHC, las plataformas existentes para su determinación, la correlación que existe con la determinación de CV y las indicaciones que las distintas guías reconocen para este marcador. Para finalizar se discutirán las ventajas e inconvenientes de la determinación de antígeno *core* del VHC.

La carga viral de la hepatitis C

Previamente a la implementación de los tratamientos con antivirales de acción directa (AAD) de última generación, la cuantificación y monitorización de la CV del VHC fue durante mucho tiempo, por su correlación con el éxito/fracaso de la terapia, una de las herramientas más determinantes en el abordaje de los tratamientos, especialmente en los años en los que la combinación basada en interferón pegilado y ribavirina constituía el estándar de atención para el tratamiento de la hepatitis C crónica⁴. La conocida como terapia guiada por la respuesta (RGT) ayudó a mejorar las tasas de respuesta viral sostenida (RVS) y a disminuir las de los efectos adversos, estableciéndose diferentes pautas de duración del tratamiento sobre la base de la cuantificación basal del ARN-VHC y a su cinética durante diferentes semanas de tratamiento⁵⁻⁹. La monitorización de la CV a las 2 semanas (vRVR, respuesta virológica precoz), 4 semanas (RVR, respuesta virológica rápida), 12 semanas (eRVR, respuesta virológica extendida) y 24 semanas, también permitió una estimación de la supresión viral y de la adherencia del paciente^{5,6}, así como la definición de la llamada RVS, la erradicación deseada del ARN viral 24 semanas después de finalizar el tratamiento^{5,6}, lo que sin duda ponía en valor la determinación de la CV del VHC en los pacientes infectados que estaban en tratamiento.

Con los actuales AAD disponibles, la reducción de la CV por debajo del límite de cuantificación y/o detección a menudo se puede lograr dentro de las primeras semanas de tratamiento y su monitoriza-

ción de cara a acortar, extender o suspender el tratamiento no tiene sentido, excepto en pacientes difíciles de tratar, como medida de control de su adherencia^{9,10}.

Todo lo anterior pone de manifiesto la evolución experimentada por la monitorización de la cinética viral del ARN-VHC, con la finalidad de satisfacer en cada momento y con cada tipo de tratamiento las necesidades clínicas cambiantes⁹; sin embargo, y aunque la CV del VHC no se relaciona con la gravedad de la enfermedad hepática del paciente ni tampoco pronostica su progresión¹¹, es un hecho que su determinación sigue considerándose una labor primordial del laboratorio de microbiología molecular y en la actualidad constituye una prueba habitual para el abordaje de los pacientes infectados, ya que su presencia refleja la replicación viral existente y, por tanto, confirma la infección activa, además de utilizarse para evaluar la respuesta a tratamiento

Plataformas para determinar la carga viral del virus de la hepatitis C

La concentración del ARN-VHC en plasma o suero puede cuantificarse en la actualidad con diferentes ensayos moleculares comerciales en tiempo real^{9,12}, que tienen un amplio rango dinámico de cuantificación y son sensibles, específicos, precisos y reproducibles (tabla 1) y cuyas características operacionales^{13,14} han mejorado sustancialmente con respecto a otros ensayos disponibles anteriormente. Los resultados de la CV se expresan habitualmente en unidades internacionales/ml (UI/ml) y los diferentes métodos y ensayos comerciales disponibles presentan un límite inferior de cuantificación (LLOQ) y un límite inferior de detección (LOD) propios^{9,13,14}, por lo tanto, los resultados de un paciente pueden informarse de manera diferente dependiendo del ensayo utilizado. No obstante, se ha consensuado recomendar, con los regímenes de tratamiento con AAD, ensayos con un LLOQ < 25 UI/ml y un LOD < 15 UI/ml. En este sentido, conviene tener presente que la presencia de ARN del VHC detectable pero no cuantificable es clínicamente relevante porque determina viremia verdadera.

La carga viral del virus de la hepatitis en las guías

Las diferentes guías de práctica clínica (GPC) para el abordaje de la infección por el VHC de las principales sociedades científicas (AASLD, American Association for the Study of Liver Diseases; EASL, European Association for the Study of the Liver; APASL, Asian Pacific Association for the Study of the Liver; AEEH, Asociación Española para el Estudio del Hígado) establecen recomendaciones en mayor o menor medida y con diferentes grados de evidencia para la utilización de la CV del VHC¹⁵⁻¹⁹. Estas GPC recomiendan en líneas generales su realización para detectar la viremia y confirmar la infección activa por el VHC y también para guiar la terapia antiviral, incluyendo una determinación basal de inicio y otras 12 o 24 semanas después de finalizar este para determinar la RVS. Por otra parte, también recomiendan su realización en diversas situaciones como una prueba negativa de anticuerpos frente al VHC en las personas que están inmunocomprometidas, que están siendo hemodializadas o que pudieron haber estado expuestas al VHC en los últimos 6 meses; también en la exposición perinatal y, por último, anualmente, en las personas con riesgo de reinfección (usuarios de drogas por vía parenteral, hombres que tienen sexo con hombres) después de la eliminación

Tabla 1
Principales características de los ensayos que cuantifican el ARN-del virus de la hepatitis C (VHC)

Ensayo	Fabricante	LOD (UI/ml)	LLOQ (UI/ml)	ULOQ (UI/ml)	Volumen (µl)	Diana	Método	Resultados (horas)	Marcado (estandarización)	POC
Alinity m HCV Assay	Abbott Molecular	5	12	$2,0 \times 10^8$	600	5'-UTR	PCR a TR	1,9	CE (4th WHO)	No
Aptima HCV RNA	Hologic	4	10	$1,0 \times 10^8$	500	5'-UTR	TMA	2,68	CE/FDA (2nd WHO)	No
Artus HCV QS-RGQ	Qiagen	21 (34)	35 (65)	$1,8 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6$)	1.000 (500)	5'-UTR	PCR TR	5-6	CE (Acrometrix)	No
CAP/CTM v2 HCV	Roche	15	15	$1,0 \times 10^8$	650	5'-UTR	PCR a TR	5	CE/FDA (2nd WHO)	No
COBAS 6800/8800	Roche	10	15	$1,0 \times 10^8$	500	5'-UTR	PCR a TR	3,5	CE (4th WHO)	No
GeneXpert HCV	Cepheid	4	10	$1,0 \times 10^8$	1.000	5'-UTR	PCR a TR	1,75	CE/FDA (4th WHO)	Sí
Realtime HCV	Abbott Molecular	12	12	$1,0 \times 10^8$	500	5'-UTR	PCR a TR	5,4-7,6	CE (2nd WHO)	No
Veris DxN HCV	Beckman Coulter	12	12	$1,0 \times 10^8$	1.000	5'-UTR	PCR a TR	1,7	CE (4th WHO)	No
Versant kPCR	Siemens	15	15	$1,0 \times 10^8$	500	5'-UTR	PCR a TR	5-6	CE (3rd WHO)	No

LOD: límite de detección; es el nivel más bajo de ARN del VHC que se detecta sin cuantificar el 95% de las veces.

LLOQ: límite inferior de cuantificación; es el nivel más bajo de ARN del VHC que está dentro del rango lineal de cuantificación y es analíticamente aceptable en el ensayo.

ULOQ: límite superior de cuantificación; es el nivel más alto de ARN del VHC que está dentro del rango lineal de cuantificación y es analíticamente aceptable en el ensayo.

viral previa de manera espontánea o relacionada con el tratamiento. En todos estos casos, las GPC también recomiendan, como ya se señaló, que la detección y cuantificación del ARN-VHC en suero o plasma debe realizarse mediante un ensayo molecular con un LOD ≤ 15 UI/ml. Sin embargo, en entornos especiales de poblaciones vulnerables (sin techo, centros de drogadicción, inmigrantes, etc.) y, al igual que para los países con ingresos bajos y moderados, se podrían usar ensayos cualitativos con un LOD ≤ 1.000 UI/ml, si no estuviesen disponibles ensayos cuantitativos más sensibles a tal fin, ya que el riesgo excepcionalmente bajo de un resultado falso negativo con estos ensayos, en un pequeño porcentaje de individuos infectados, se ve compensado por el beneficio de ampliar el acceso al diagnóstico y la atención a una población mayor. Finalmente, alguna de estas GPC ya contempla entre sus recomendaciones¹⁶, la de utilizar muestras de sangre seca (DBS) como una alternativa al suero o plasma obtenido por punción venosa para la prueba de ARN del VHC, para su envío a un laboratorio capacitado donde se realizará la detección molecular y también la de reemplazar la detección de anticuerpos anti-VHC por un análisis de ARN de VHC en el punto de atención al paciente (POC, del inglés *point of care*), si tal ensayo está disponible y la estrategia de detección demuestra ser rentable.

A este respecto, la determinación de la CV en muestras de sangre capilar y DBS en papel de filtro puede ser una excelente alternativa al tratarse de muestras de fácil obtención, almacenamiento y transporte y su uso puede constituir una solución simple y rentable en entornos desfavorecidos, de alta prevalencia y países de bajos recursos²⁰⁻²⁴ y, por tanto, facilitar el acceso a los cuidados necesarios.

Utilidad actual de la carga viral del virus de la hepatitis C

Por tanto, y tal como se ha señalado, entre las principales utilidades reconocidas para la determinación de la CV del VHC estarían: a) confirmar un resultado positivo de anticuerpos anti-VHC y/o hacer el diagnóstico de infección activa; b) determinar la CV basal antes de iniciar el tratamiento; c) monitorizar la respuesta al tratamiento en pacientes especiales, y d) determinar si un paciente ha conseguido la

RVS. De todas ellas, serían la primera y la última las que realmente estarían justificadas con los AAD actuales y con el objetivo de eliminación de la hepatitis C de la OMS en el horizonte de 2030⁹.

No obstante, y con referencia a la primera indicación, también habría que considerar la determinación del ARN-VHC en las muestras seropositivas de VHC con resultados negativos de Ag-VHC, ya que con los actuales tratamientos, estas pruebas menos sensibles se están utilizando para medir la falta de adherencia y los fracasos y como sustitutivo de la CV en el diagnóstico de la infección activa por VHC²⁴.

Futuro de la carga viral del virus de la hepatitis C

Con estas indicaciones, y de cara a los objetivos establecidos por la OMS, se hace imprescindible mejorar el acceso a estas pruebas que determinan y cuantifican el ARN-VHC mediante métodos alternativos de muestreo (DBS), desarrollando nuevas tecnologías moleculares de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) que sean capaces de utilizarse en el POC y también optimizando las infraestructuras disponibles actualmente, incluyendo su descentralización si fuese necesaria²⁵, para así reducir la proporción de infección no diagnosticada. En este sentido, la disponibilidad de pruebas NAT en el POC tiene el gran potencial de simplificar los algoritmos actuales, aumentar el diagnóstico y facilitar el tratamiento de cara a la eliminación del VHC²⁶⁻²⁸.

A este respecto, se están optimizando métodos comerciales²¹⁻²³, especialmente a nivel de extracción y amplificación, que se desarrollan para muestras de suero o plasma y sus primeros resultados apuntan a una fuerte correlación en especificidad y sensibilidad en muestras con viremias superiores a 1.000 UI/ml²², aunque bien es cierto que los resultados obtenidos en estos estudios fueron más bajos que los procedentes de plasma, probablemente por la degradación de la muestra o por su menor sensibilidad relacionada con el tipo y volumen de la muestra utilizada²⁰. Probablemente, con el actual ritmo de avance tecnológico, a corto plazo la detección rápida del ARN-VHC dispondrá de cara al diagnóstico y eliminación de la infección por el VHC de pruebas más sencillas y económicas.

Por último, conviene señalar que con la posible incorporación de los ensayos moleculares que detectan y cuantifican, también a partir de sangre capilar, el ARN-VHC en los POC²⁶⁻²⁸ y de la determinación rutinaria en DBS procedente de entornos especiales, en los laboratorios de microbiología, el uso de la cinética de replicación del VHC para iniciar la terapia seguirá estando limitada por el rango dinámico y la variabilidad de las pruebas de laboratorio.

En este sentido, los microbiólogos clínicos, como ya hicieron con la RGT, deberán estar informados sobre estas diferencias, para asegurar el cuidado apropiado del paciente infectado, y aconsejar al clínico de la necesidad de seguir siendo cautos al interpretar los resultados cuando estos están próximos a los umbrales de decisión^{10,11}.

El antígeno core del virus de la hepatitis C

El genoma del VHC contiene un marco abierto de lectura que codifica una poliproteína de aproximadamente 3.000 aminoácidos que se procesa por una combinación de proteasas virales y del huésped²⁹, lo que genera al menos 10 proteínas individuales, y el core es una de las 4 proteínas estructurales. Durante la formación o ensamblado del virus, el antígeno se libera al plasma y se puede detectar antes que los anticuerpos correspondientes³⁰. La presencia del antígeno en sangre se correlaciona con la presencia de viriones completos, aunque también se puede deber a la presencia de inmunocomplejos o a la liberación de antígeno por los hepatocitos tras procesos de lisis de mediación inmune o apoptosis³¹.

El antígeno core del VHC, por su precocidad en pasar a la sangre, su elevada concentración plasmática y su correlación con el ARN viral, constituyó una diana diagnóstica de gran interés desde hace décadas^{32,33}.

Métodos para la detección del antígeno core

La primera publicación en la que aparece la detección del antígeno core del VHC como un nuevo marcador serológico, que se determinaba mediante técnicas de ELISA, data de 1996³⁰, destacándose su utilidad en el período ventana de la infección, ya que se podía detectar con una antelación de más de 1 mes respecto a los anticuerpos

VHC^{32,34}. El antígeno core del VHC es detectable tan solo 1-2 días después de que aparezca el ARN-VHC en sangre^{34,35}. Por ello, se propone como un excelente marcador para utilizar en el cribado de pacientes con riesgo de infección aguda por VHC, situación clínica que cada vez está adquiriendo más importancia entre el colectivo de hombres que tienen sexo con hombres³⁶.

Inicialmente se desarrollaron 2 tipos de pruebas, una para detectar antígeno en sangre, previo a la aparición de anticuerpos, y otra capaz de detectarlo en presencia de estos³⁷; posteriormente se desarrollaron técnicas duales basadas en ELISA capaces de detectar simultáneamente anticuerpos y antígeno³⁵. Además, con el fin de mejorar la sensibilidad en la detección del antígeno se desarrollaron técnicas que incorporaban una fase previa de separación de inmunocomplejos^{30,32}.

A lo largo de los años han aparecido en el mercado diferentes pruebas diagnósticas para la determinación del antígeno core del VHC, unas basadas en quimioluminiscencia y otras en enzimo-inmunoanálisis, con diferentes sensibilidades y especificidades, que se resumen en la tabla 2. Freiman et al³⁸ publicaron un metaanálisis diseñado con el propósito de evaluar la exactitud de las diferentes pruebas diagnósticas basadas en la detección de AgVHC para diagnosticar infección activa por VHC comparando con técnicas de ácidos nucleicos. En este metaanálisis (12.670 muestras) que comparó estos marcadores se encontró una sensibilidad y una especificidad de Architect® HCV Assay del 93,4 y el 98,8%, respectivamente, similar a las de Ortho® ELISA con el análisis de 11.777 muestras (el 93,2 y el 99,2%, respectivamente). Los peores datos fueron los detectados con la técnica Human Jynda Bioengineering Group, con una sensibilidad del 59,5% y una especificidad del 82,92%, sobre un total de 592 muestras.

Actualmente, la técnica de detección de antígeno VHC de uso más extendido en Europa es Architect® HCV Ag Assay comercializada por Abbott Diagnostic. Esta técnica consiste en un inmunoanálisis de 2 pasos que utiliza micropartículas quimioluminiscentes. En el primer paso, el pretratamiento de la muestra con urea, ácido clorhídrico y detergentes lisa los virus presentes y separa los inmunocomplejos liberando el antígeno core, que se detecta en el segundo paso. El procesamiento se hace en el autoanalizador Architect® de Abbott, y la

Tabla 2

Principales características de los ensayos para la detección del antígeno core del VHC

Ensayo	Fabricante	Sensibilidad (IC del 95%)	Especificidad (IC del 95%)	Razón de verosimilitud positivos	Razón de verosimilitud negativos	Método	Rango de detección
Abbott ARCHITECT HCV Ag assay	Abbott	93,4% (88,7-96,2)	98,7% (96,9-99,4)	71,8 (28,6-160,3)	0,07 (0,04-0,12)	CMIA	3-20.000 fmol/l
Ortho ELISA Ag	Ortho	93,2% (81,6-97,7)	99,2% (87,9-99,9)	116,5 (6,7-977)	0,06 (0,02-0,07)	ELISA	44,4-3.600 fmol/l
Bio-RAD Monolisa HCV Ag-Ab ULTRA	Bio-RAD	28,6-95% ^a	94,9% (89,9-99,8) ^b	NA	NA	ELISA	ND
EIKEN Lumispot HCV Ag	EIKEN	97,5-98,1% ^a	ND	NA	NA	CLEIA	20-400.000 fml/l
Fujerebio Lumipulse Ortho HCV Ag	Fujerebio	95% (90,2-99,8) ^b	ND	NA	NA	CLEIA	50-50.000 fmol/l
Human Jynda HCV core Ag ELISA	Human Jynda	59,5% (46-71,7)	82,9% (58,6-94,3)	3,5 (1,1-12,6)	0,28 (0,2-0,3)	ELISA	ND

CLEIA: enzimo-inmunoanálisis quimioluminiscente; CMIA: inmunoanálisis de micropartículas quimioluminiscente; ELISA: enzimo-inmunoanálisis; IC: intervalo de confianza; NA: no aplicable; ND: no datos.

^aRango descrito en los estudios revisados.

^bResultados de un solo estudio.

Adaptada de referencia 38.

concentración de antígeno se calcula mediante una curva de calibración. Se considera una muestra reactiva si la concentración de antígeno es ≥ 3 fmol/l, aconsejándose repetir por duplicado las muestras con valores entre 3 y 10 fmol/l.

Hu y Cui³⁹ han descrito recientemente un inmunoanálisis con el que logran incrementar la sensibilidad en la detección del VHC dirigiéndolo hacia varias dianas proteicas, estructurales y no estructurales (*core*, NS3, NS4b y NS5a), de esta forma logran una sensibilidad analítica equivalente a 150-250 UI/ml de VHC, cercana a las técnicas de ácidos nucleicos.

El antígeno core como alternativa a la carga viral

Cualquier prueba que pueda sustituir a la determinación de ARN-VHC para el abordaje de los pacientes infectados por VHC debe de ser capaz de a) identificar a los pacientes virémicos y b) evaluar la respuesta terapéutica. A continuación se presentan los datos existentes en la literatura con relación a cada uno de estos puntos.

En la actualidad no parece existir ninguna duda sobre la utilidad del antígeno *core* del VHC para identificar pacientes virémicos, es decir, para el diagnóstico de infección activa por VHC. Diferentes publicaciones han posicionado al antígeno VHC como un marcador de replicación similar al ARN-VHC, aunque con la limitación de una menor sensibilidad analítica (3 fmol/l), equivalente a 400-3.000 IU/ml ARN-VHC^{32,38,40,41}. Sin embargo, esta falta de sensibilidad no limita su uso para el diagnóstico de la infección activa. Recientemente, van Tilborg et al⁴² estudiaron una cohorte de más de 10.000 pacientes cribados para hepatitis C y encontraron una sensibilidad del 94% y una especificidad del 100% en el diagnóstico de los 80 pacientes virémicos (ARN-VHC+) de su serie, y destacaron que todos los falsos negativos de antígeno *core* se debieron a la baja CV de las muestras. Estos autores detectaron antígeno *core* del VHC en todas las muestras con niveles de ARN VHC > 1.000 UI/ml. Otros estudios que comparan niveles de antígeno *core* del VHC con niveles de ARN-VHC^{41,43-46}, muestran una buena correlación entre ambos parámetros, siempre que los niveles de ARN sean > 3.000 UI/ml. Por otro lado, la correlación descrita en algunos trabajos con un coeficiente de Pearson > 0,95 podría permitir estimar el valor de la CV a partir de la concentración de antígeno *core* del VHC mediante una simple fórmula⁴⁷.

Un estudio reciente⁴⁸ analizó los datos de 3 cohortes españolas en las que se dispone de datos en paralelo de CV y de antígeno *core*. Se analizaron 17.189 pruebas de CV y 2.735 resultados de antígeno *core*. Solo el 3,5% de las determinaciones de CV mostró resultados entre 15-5.000 UI/ml y solo el 0,4% era nuevo diagnóstico de la hepatitis C. De las muestras que se evaluaron para determinación de antígeno *core*, el 2,9% mostró resultados entre 3-10 fmol/l (un 0,9% en pacientes sin tratamiento) y el 3% entre 1-2,99 fmol/l (un 1,2% en pacientes sin tratamiento). Como era de esperar, se detectó mayor número de positivos para CV en los pacientes con 3-10 fmol/l (10/15) que en los de 1-2,99 fmol/l (6/25). No se detectó ningún paciente con CV positiva cuando el antígeno *core* era < 1 fmol/l. A la vista de estos resultados, los autores proponen utilizar el antígeno *core* como alternativa segura a la CV para el diagnóstico de la infección activa por VHC, y recomiendan determinar la CV solo en los pacientes en los que los niveles de antígeno estén entre 1 y 10 fmol/l.

En un nuevo estudio⁴⁹ se evaluó la validez y la seguridad de las posibles estrategias del diagnóstico de la infección por VHC en un solo paso, así como sus costes y eficiencia. Las posibles estrategias de diagnóstico evaluadas fueron: anti-VHC seguida de CV (Ac-CV), anti-VHC seguida de antígeno *core* (Ac-Ag), y anti-VHC seguida de antígeno y de CV (Ac-Ag-CV). Todas las estrategias para el diagnóstico de VHC en un solo paso que se evaluaron presentaron validez y seguridad aceptables, a consecuencia de la elevada sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas. La estrategia más eficiente es Ac-Ag, seguida de Ac-Ag-CV y Ac-CV, debido a su menor coste por paciente

cribado, aunque es menos eficaz que Ac-CV. En este modelo no se tiene en cuenta la propuesta de algoritmo de diagnóstico del estudio anterior.

La determinación de antígeno *core*, además de como herramienta diagnóstica, también se ha investigado para la monitorización del tratamiento⁵⁰⁻⁵⁴. Aunque es poco probable que un paciente que no haya respondido a tratamiento, o recidive tras su finalización, lo haga con niveles < 1.000 UI/ml de ARN de VHC, esta situación es posible y más frecuente, como se ha indicado anteriormente, que cuando se utiliza este marcador para el diagnóstico. Por ello, es aquí donde hay que tener en cuenta la principal limitación del antígeno *core* del VHC, ya que su sensibilidad desciende hasta el 64,7-81,9% en las muestras con bajas concentraciones de ARN del VHC^{40,44}. En su serie, van Tilborg et al⁴² describen que ambas técnicas fueron capaces detectar el fracaso terapéutico a las 12 semanas en todos los pacientes salvo uno. Al no disponer de muestra a las 24 semanas postratamiento, no se pudo ver si el antígeno VHC se hubiese detectado. Por otro lado, Alados et al⁵⁰ describen similares resultados en la semana 12 postratamiento, y encuentran 2 pacientes con viremias < 1.000 UI/ml y con los niveles de antígeno que no superan el umbral de 3 fmol/l (1,92 y 2,26 fmol/l); sin embargo, al analizar muestras posteriores sí se detectó antígeno.

Nuevas metodologías y usos de la determinación del antígeno core

En 2015, la OMS estableció como una prioridad el diseño de técnicas diagnósticas que permitiesen la detección directa del virus en el paciente en formato POC. Fruto de la colaboración entre Dakari Diagnostics y Merck, próximamente saldrá al mercado la primera técnica de detección del antígeno del VHC a partir de sangre capilar obtenida por punción dactilar en formato POC. Aunque su sensibilidad se ve disminuida al 85%, puede resultar de extrema utilidad en situaciones especiales, en las que sea la única alternativa para poder diagnosticar la infección activa⁵⁵.

La aplicación de los DBS, cuya utilidad ya se ha comentado en el apartado de CV, parece tener menor aplicación para su uso para la determinación de antígeno *core* del VHC, debido a que la sensibilidad analítica disminuiría sensiblemente, aunque de igual manera puede también resultar de utilidad en escenarios sin acceso a ensayos de CV⁵⁶.

Ventajas de la determinación del antígeno core para el diagnóstico de infección activa

A continuación se resumen las ventajas, algunas ya comentadas previamente, de la utilización del antígeno *core* del VHC. Entre estas destacan los costes, que son menores que los de la CV, la estabilidad de la diana, que es superior que la de la CV, la posibilidad de trabajar con el mismo tubo primario utilizado para la serología de VHC y la reducción del tiempo de respuesta (rapidez para obtener resultados), ya que no es necesario trabajar en lotes como ocurre con la mayoría de las plataformas de CV.

Aunque el antígeno *core* presenta una menor sensibilidad que el ARN-VHC para la detección de viremias bajas, diversos estudios y guías han puesto de manifiesto su utilidad para la identificación de pacientes con infección activa por VHC.

Las ventajas y los inconvenientes de la utilización del antígeno *core* se resumen en la tabla 3.

Conflicto de intereses

Juan Carlos Alados ha recibido ayudas para asistencia a congresos/reuniones científicas de Werfen y Gilead y también ha recibido compensación económica por ponencias de Abbvie y Gilead.

Antonio Aguilera ha recibido ayudas para asistencias a congresos y reuniones científicas de Roche, Hologic, Abbott Científica y Sie-

Tabla 3

Ventajas y desventajas de la determinación del antígeno core del virus de la hepatitis C (VHCag) en comparación con la determinación de carga viral por técnicas moleculares (reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) como marcador cuantitativo de viremia

Ventajas	Desventajas
Apto para cualquier número de muestras (incluso una única determinación). No hay necesidad de trabajar por lotes	No es el método de referencia (la carga viral por técnicas moleculares está mucho más referenciada y es preferida en la actualidad para el seguimiento clínico)
Disponibilidad inmediata, muy útil para situaciones de urgencia (p. ej., donante de órganos seropositivo para VHC)	Poca oferta comercial: básicamente un único proveedor. Es necesario que el laboratorio cuente previamente con el autoanalizador adecuado y lo utilice para otras aplicaciones
Rapidez: 45 min (frente a horas-días para la PCR)	Sensibilidad ligeramente inferior a la del método de referencia (no detecta viremias inferiores a 1.000-3.000 UI/ml)
Posibilidad de utilizar una única muestra para "screening" serológico y cuantificación de la viremia	
Simplicidad técnica. No es necesario personal especializado ni instalaciones complejas	
Alta correlación con el método de referencia (PCR) y posibilidad de cálculo de equivalencias entre ambas técnicas con fórmulas sencillas	
No hay variaciones significativas entre los distintos genotipos	
Precio: aproximadamente 15 €/determinación (frente a 30-50 €/determinación para la PCR)	

mens Healthcare y también ha recibido compensación económica por charlas de Roche y Abbott Científica.

José María Eiros Bouza ha realizado labores de consultoría para Abbvie, Abbott Diagnostics y Gilead.

Roberto Alonso ha realizado labores de consultoría, recibido bolsas para asistencia a congresos, y contratos de investigación de Siemens, Abbott, Roche, DiaSorin, BioRad, Vircell, Copan, Gilead y ViiV.

Federico García ha realizado labores de consultoría, recibido bolsas de viaje y disfrutado de contratos de investigación de Abbott, Abbvie, Hologic, Vircell, Qiagen, Glead, Werfen, ViiV y Merck.

Bibliografía

- Casas P, Navarro D, Aguilera A, García F. A pilot study on the implementation of reflex testing for the diagnosis of active hepatitis C virus infection at two health-care centres. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;**37**:348-9.
- Casas P, García F, Freyre-Carrillo C, Montiel N, De la Iglesia A, Viciana I, et al. Towards the elimination of hepatitis C: Implementation of reflex testing in Andalusia. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, aceptado en prensa
- García F, Domínguez-Hernández R, Casado M, Macías J, Téllez F, Pascasio JM, et al. The simplification of the diagnosis process of chronic hepatitis C is cost-effective strategy. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019. doi:10.1016/j.eimc.2019.03.001. [Epub ahead of print].
- Alberti A, Benvenuto L. Management of hepatitis C. *J Hepatol.* 2003;**38**:S104-18.
- Yee HS, Chang MF, Pocha C, Lim J, Ross D, Morgan TR, et al; Department of Veterans Affairs Hepatitis C Resource Center Program; National Hepatitis C Program Office. Update on the management and treatment of hepatitis C virus infection: recommendations from the Department of Veterans Affairs Hepatitis C Resource Center Program and the National Hepatitis C Program Office. *Am J Gastroenterol.* 2012;**107**:669-89.
- Naggie S. Management of hepatitis C virus infection: the basics. *Top Antivir Med.* 2012;**20**:154-61.

- Poordad F, Reddy KR, Martin P. Rapid Virologic Response: a new milestone in the management of chronic hepatitis C. *Clin Infect Dis.* 2008;**46**:78-84.
- Wilson EM, Rosenthal ES, Kattakuzhy S, Tang L, Kottitil S. Clinical laboratory testing in the era of directly acting antiviral therapies for hepatitis C. *Clin Microbiol Rev.* 2017;**30**:23-42.
- Maasoumy B, Vermehren J. Diagnostics in hepatitis C: the end of response-guided therapy? *J Hepatol.* 2016;**65**:S67-81.
- Wiesmann F, Braun P. Significance of HCV RNA monitoring in the era of new potent therapies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2016;**14**:837-44.
- Aguilera A, González-Alba JM, Martínez-Lamas L, Moldes-Suárez ML, Galán JC. Evaluación crítica de los nuevos métodos comerciales para la determinación de la carga viral del VIH-1 y del VHC. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;**28** Supl 1:62-7.
- Wiesmann F, Naeth G, Sarrazin C, Berger A, Kaiser R, Ehret R, et al. Variation analysis of six HCV viral load assays using low viremic HCV samples in the range of the clinical decision points for HCV protease inhibitors. *Med Microbiol Immunol.* 2015;**204**:515-25.
- Cobb B, Pockros PJ, Vilchez RA, Vierling JM. HCV RNA Viral Load Assessments in the Era of Direct-Acting Antivirals. *Am J Gastroenterol.* 2013;**108**:471-5.
- Cobb B, Heilek G, Vilchez RA. Molecular diagnostics in the management of chronic hepatitis C: key considerations in the era of new antiviral therapies. *BMC Infect Dis.* 2014;**14** Suppl 5:S8.
- Calleja JL, Macías J, Fornis X, García F, Berenguer M, García Deltoro M, et al. Guidelines on treatment of hepatitis C virus infection. Spanish Association for the Study of the Liver (AEH). *Gastroenterol Hepatol.* 2018;**41**:597-608.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol.* 2018;**69**:461-511.
- AASLD-IDS A HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2018 Update: AASLD-IDS Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Clin Infect Dis.* 2018;**67**:1477-92.
- Omata M, Kanda T, Wei L, Yu ML, Chuang WL, Ibrahim A, et al. APASL consensus statements and recommendations for hepatitis C prevention, epidemiology, and laboratory testing. *Hepatol Int.* 2016;**10**:681-701.
- Omata M, Kanda T, Wei L, Yu ML, Chuang WL, Ibrahim A, et al. APASL consensus statements and recommendations on treatment of hepatitis C. *Hepatol Int.* 2016;**10**:702-26.
- Marques BLC, Do Espirito-Santo MP, Marques VA, Miguel JC, Da Silva EF, Villela-Nogueira CA, et al. Evaluation of dried blood spot samples for hepatitis C virus detection and quantification. *J Clin Virol.* 2016;**82**:139-44.
- Marconi A, Balestrieri M, Comastri G, Pulvirenti FR, Gennari W, Tagliacuzzi S, et al. Evaluation of the Abbott Real-Time HIV-1 quantitative assay with dried blood spot specimens. *Clin Microbiol Infect.* 2009;**15**:93-7.
- Shepherd SJ, Baxter RE, Gunson RN. Evaluation of the Abbott m2000 system for dried blood spot detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Virol.* 2019;**110**:7-10.
- Marins EG, Bodinaidu K, Lin M, Deforest A. Evaluation of the COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0 for HCV viral load monitoring using dried blood spot specimens. *J Virol Meth.* 2017;**247**:77-80.
- Cloherly G, Talal A, Collier K, Steinhart C, Hackett J Jr, Dawson G, et al. Role of serologic and molecular diagnostic assays in identification and management of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol.* 2016;**54**:265-73.
- Peeling RW, Boeras DI, Marinucci F, Easterbrook P. The future of viral hepatitis testing: innovations in testing technologies and approaches. *BMC Infect Dis.* 2017;**17** Suppl 1:699.
- Grebely J, Lamoury FMJ, Hajarizadeh B, Mowat Y, Marshall AD, Bajis S, et al; LiveRLife Study Group. Evaluation of the Xpert HCV Viral Load point-of-care assay from venepuncture-collected and finger-stick capillary whole-blood samples: a cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;**2**:514-20.
- Grebely J, Applegate TL, Cunningham P, Feld JJ. Hepatitis C point-of-care diagnostics: in search of a single visit diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;**17**:1109-15.
- Lamoury FMJ, Bajis S, Hajarizadeh B, Marshall AD, Martinello M, Ivanova E, et al; LiveRLife Study Group. Evaluation of the Xpert HCV Viral Load finger-stick point-of-care assay. *J Infect Dis.* 2018;**217**:1889-96.
- Manabe S, Fuke I, Tanishita O, Kaji C, Gomi Y, Yoshida S, et al. Production of non-structural proteins of hepatitis C virus requires a putative viral protease encoded by NS3. *Virology.* 1994;**198**:636-44.
- Tanaka E, Kiyosawa K, Matsumoto A, Kashiwakuma T, Hasegawa A, Mori H, et al. Serum levels of hepatitis C virus core protein in patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha. *Hepatology.* 1996;**23**:1330-3.
- Schuetzler CG, Thomas C, Discher T, Friese G, Lohmeyer J, Schuster R, et al. Variable ratio of hepatitis C virus RNA to viral core antigen in patient sera. *J Clin Microbiol.* 2005;**42**:1977-81.
- Aoyagi K, Ohue C, Iida K, Kimura T, Tanaka E, Kiyosawa K, et al. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin. Microbiol.* 1999;**37**:1802-8.
- Tanaka E, Ohue C, Aoyagi K, Yamaguchi K, Yagi S, Kiyosawa K, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology.* 2000;**32**:388-93.
- Peterson J, Green G, Iida K, Caldwell B, Kerrison P, Bernich S, et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative 'window' phase of hepatitis C infection. *Vox Sanguinis.* 2000;**78**:80-5.
- Laperche S, Le Marrec N, Girault A, Bouchardeau F, Servant-Delmas A, Maniez-Montreuil M, et al. Simultaneous detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen and anti-HCV antibodies improves the early detection of HCV infection. *J Clin Microbiol.* 2005;**43**:3877-83.

36. Gras J, Mahjoub N, Charreau I, Cotte L, Tremblay C, Chas J, et al. Early diagnosis and risk factors of acute hepatitis C in high-risk men who have sex with men on pre-exposure prophylaxis. *AIDS*. 2019. doi: 10.1097/QAD.0000000000002364. [Epub ahead of print].
37. Leary TP, Gutierrez RA, Muerhoff AS, Birkenmeyer LG, Desai SM, Dawson GJ. A chemiluminescent, magnetic particle based immunoassay for the detection of hepatitis C virus core antigen in human serum or plasma. *J Med Virol*. 2006;78:1436-40.
38. Freiman JM, Tran TM, Schumacher SG, White LF, Ongarelo S, Cohn J, et al. Hepatitis C core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection. A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2016;165:345-55.
39. Hu KQ, Cui W. A Highly Specific and Sensitive Hepatitis C Virus Antigen Enzyme Immunoassay for One-Step Diagnosis of Viremic Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology*. 2016;64:415-24.
40. Garbuglia AR, Monchetti A, Galli C, Sabatini R, Ferreri ML, Capobianchi MR, et al. HCV core antigen and HCV-RNA in HIV/HCV co-infected patients with different HCV genotypes. *BMC Infect Dis*. 2014;14:222.
41. Ottiger C, Gygli N, Huber AR. Detection limit of architect hepatitis C core antigen assay in correlation with HCV RNA, and renewed confirmation algorithm for reactive anti-HCV samples. *J Clin Virol*. 2013;58:535-40.
42. Van Tilborg M, Al Marzooqi SH, Wong WWL, Maan R, Vermehren J, Maasoumy B, et al. CV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:856-64.
43. Kadkhoda K, Smart G. HCV antigen testing for the diagnosis of hepatitis C infection: a cost-efficient algorithm. *Clin Lab*. 2014;60:677-80.
44. Medici MC, Furlini G, Rodella A, Fuertes A, Monchetti A, Calderaro A, et al. Hepatitis C virus core antigen: analytical performances, correlation with viremia and potential applications of a quantitative, automated immunoassay. *J Clin Virol*. 2011;51:264-9.
45. Park Y, Lee JH, Kim BS, Kim do Y, Han KH, Kim HS. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *J Clin Microbiol*. 2010;48:2253-6.
46. Moini M, Ziyaeyan M, Aghaei S, Sagheb MM, Taghavi SA, Moeini M, et al. Hepatitis C virus (HCV) infection rate among seronegative hemodialysis patients screened by two methods; HCV core antigen and polymerase chain reaction. *Hepat Mon*. 2013;13:e9147.
47. Alonso R, Pérez-García F, Ampuero D, Reigadas E, Bouza E. New direct-acting antivirals for patients with chronic HCV infection: can we monitor treatment using an HCV core antigen assay? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;87:243-6.
48. Alados JC, Casa P, Rodriguez Velasco M, Torres E, García F, Vallejo A, et al. Significado de niveles bajos de ARN del virus de la hepatitis C (VHC) o antígeno core VHC en la práctica clínica. IV Córdoba: Congreso GEHEP; 2018, OR-05.
49. Crespo J, Eiros Bouza JM, Blasco Bravo AJ, Lázaro de Mercado P, Aguilera Guirao A, García F, et al. The efficiency of several one-step testing strategies for the diagnosis of hepatitis C. *Rev Esp Enferm Dig*. 2019;111:10-6.
50. Alados JC, Pavaon Guerrero I, Blanco Rodriguez MJ, Torres Martos E, Pérez AB, Cepero León C, et al. Hepatitis C virus core antigen in the management of patients treated with new direct-acting antivirals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;89:29-34.
51. Aghemo A, Degasperis E, De Nicola S, Bono P, Orlandi A, D'Ambrosio R, et al. Quantification of core antigen monitors efficacy of direct-acting antiviral agents in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14:1331-6.
52. Nguyen L, Gray E, O'Leary A, Carr M, De Gascun CF; Irish Hepatitis C Outcomes Research Network. The Role of Hepatitis C Virus core Antigen Testing in the Era of Direct Acting Antiviral Therapies: What We Can Learn from the Protease Inhibitors. *PLoS One*. 2016;11:0163900.
53. Chevaliez S, Feld J, Cheng K, Wedemeyer H, Sarrazin C, Maasoumy M, et al. Clinical utility of HCV core antigen detection and quantification in the diagnosis and management of patients with chronic hepatitis C receiving an all-oral, interferon-free regimen. *Antiviral Ther*. 2018;23:211-7.
54. Rockstroh JK, Feld JJ, Chevaliez S, Cheng K, Wedemeyer H, Sarrazin C, et al. HCV core antigen as an alternate test to HCV RNA for assessment of virologic responses to all-oral, interferon-free treatment in HCV genotype 1 infected patients. *J Virol Methods*. 2017;245:14-8.
55. Forum for Collaborative HIV Research, Foundation for Innovative New Diagnostics. High-priority target product profile for hepatitis C diagnosis in decentralized settings. Vienna; 2015. Disponible en: www.finddx.org/wp-content/uploads/2016/01/HCV-TPP-Report_17July2015_final.pdf
56. Biondi MJ, Van Tilborg M, Smookler D, Heymann G, Aquino A, Perusini S, et al. Hepatitis C core-Antigen Testing from Dried Blood Spots. *Viruses*. 2019;11:E830.