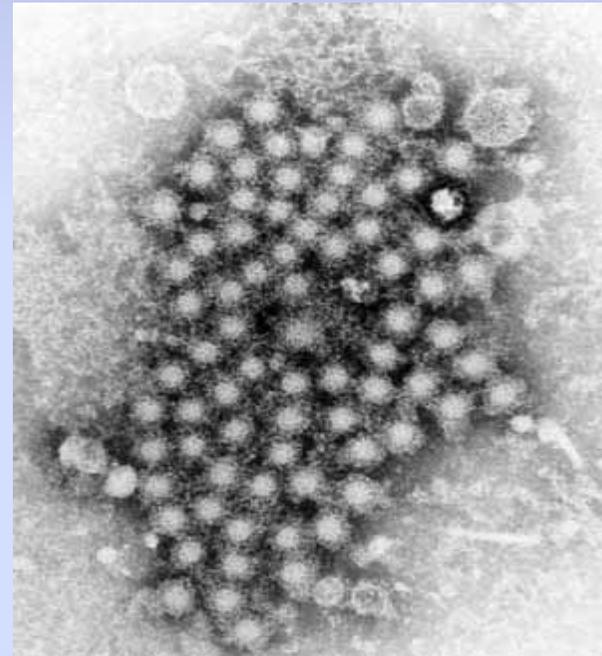
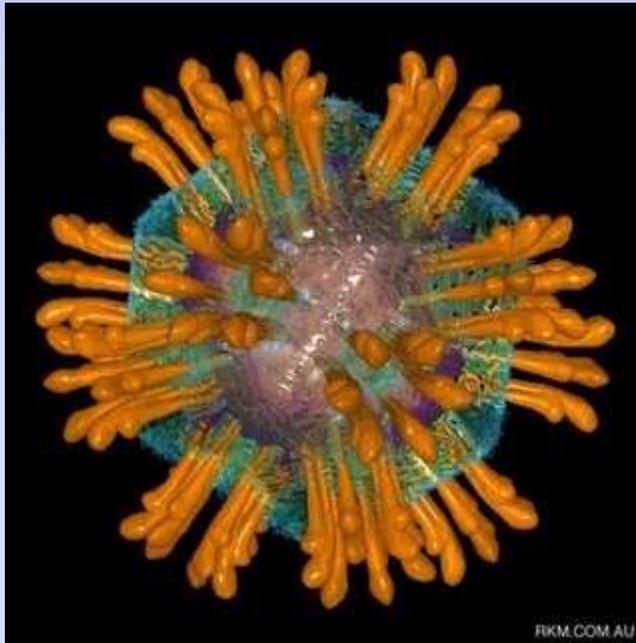


# Hepatitis viral tipo C (HCV)

## RT-PCR



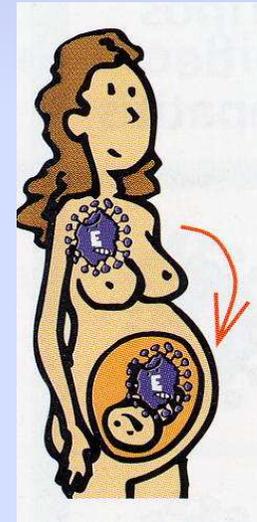
Celía, Alejandro Fabián  
Taborda, Florencia Ines

## Características Generales del HCV

- Agente etiológico de las HNANB transmitidas por transfusiones
- Flia: Flaviviridae
- Género: hepacivirus
- Esférico
- Envuelto
- ARN (+) sc Vida media: 2,7 horas
- Producción diaria: 10 trillones de viriones

# Transmisión

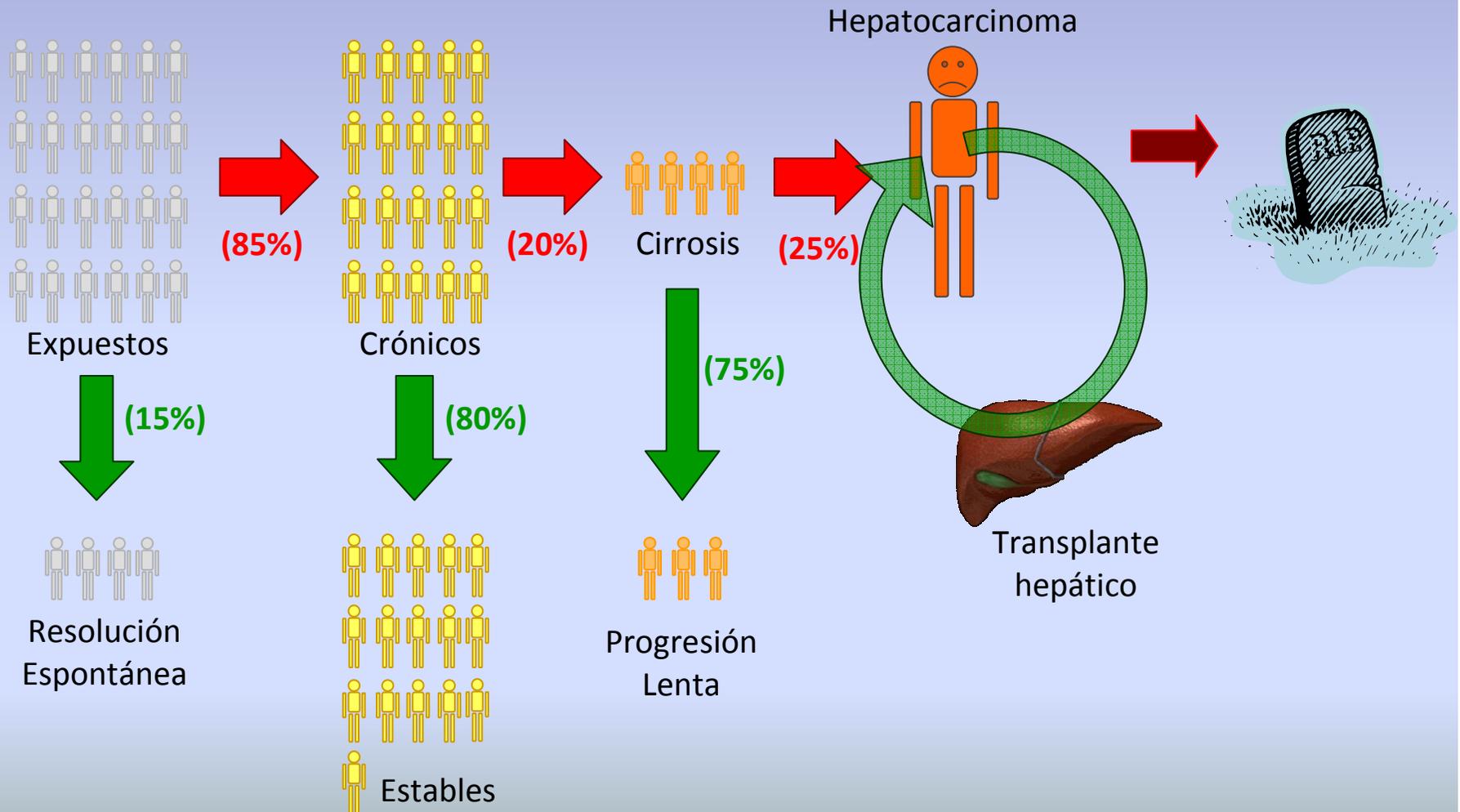
- 30% Drogadictos Endovenosos
- 27% Trabajadores de Salud
- 8% Vía sexual
- 15% Nosocomial, iatrogénica
- 05% Vertical
- 15% Vía desconocida



# Vías de transmisión

- Exposición a sangre o fluidos contaminados
- Transmisión sexual: menos que HIV y HVB
- Transmisión vertical: madre-recién nacido
  - Depende de la carga viral ( $> 2 \times 10^6$  copias/ml)
  - Aumenta en coinfección HIV-HCV
  - Lactancia materna: no contraindicada
  - Cesárea: no indicada
- Transmisión horizontal: exposición percutánea o de las membranas mucosas al material infectado

# Historia Natural de la infección por HCV



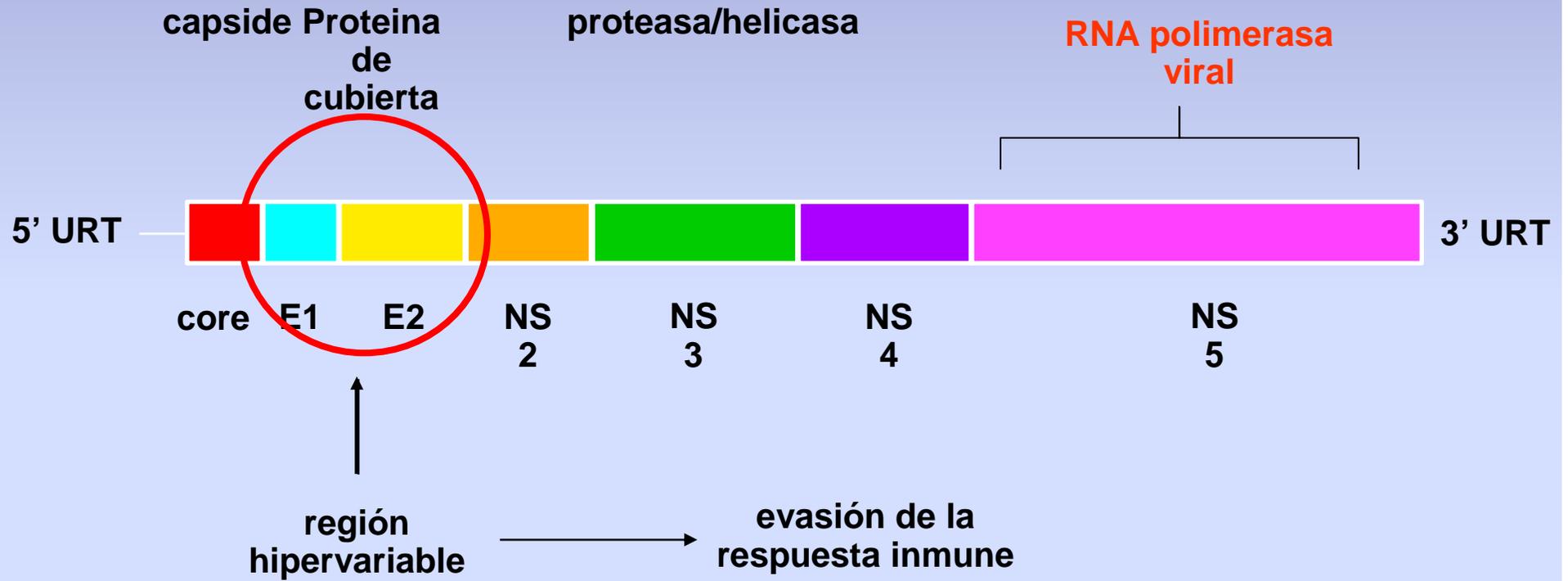
# Datos Clínicos

- Periodo de Incubación: Media 6-7 sem
- Clínica (ictericia): 20-30%
- Hepatitis crónica (HCV RNA > 6 meses): 70-85%
- Manif. Extrahepáticas: 40%
- Inmunidad: No Anticuerpos protectores

## Recomendaciones para hacerse la prueba basadas en el riesgo de infección por el VHC

PERSONAS	RIESGO DE INFECCIÓN	¿SE RECOMIENDA HACERSE LA PRUEBA?
Usuarios de drogas inyectables	Alto	Sí
Personas que recibieron factores coagulantes producidos antes de 1987	Alto	Sí
Pacientes de hemodiálisis	Mediano	Sí
Personas que recibieron sangre y/o órganos sólidos antes de 1992	Mediano	Sí
Personas con problemas hepáticos no diagnosticados	Mediano	Sí
Bebés nacidos de madres infectadas	Mediano	Después de los 12-18 meses de edad
Profesionales de la salud y empleados de seguridad pública	Bajo	Sólo después de que se haya presentado la exposición
Personas que tienen relaciones sexuales con múltiples parejas	Bajo	No*
Personas que tienen relaciones sexuales con una pareja constante que está infectada	Bajo	No*

# Genóma



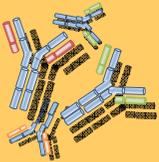
# Diagnóstico (Herramientas)



## Clínica:

Cuestionario, labor detectivesca

Ictericia, ALT elevadas, dolor abdominal, orina oscura.  
Suelen ocurrir en un 30% de las infecciones.  
La seroconversión puede tardar 8 semanas o más.



## Serología:

Infecciones pasadas o presentes, no puede distinguir cronicidad de infección resuelta

**EIA:** Mayor Sensibilidad. **RIBA, LIA:** Mayor especificidad  
Falsos neg. en inmunodeprimidos, dializados y agamaglobulinémicos.  
Serotipos: Murex, Chiron, 1997 → ???



## Detección cualitativa de ARN Viral:

Por RT-PCR o algún Kit Comercial

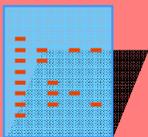
Confirma infección activa y detección temprana de virus.  
Recién nacidos. Monitoreo de la terapia antiviral.  
Debido a la viremia fluctuante, un solo resultado negativo no es concluyente.



## Detección cuantitativa de ARN viral

RT-PCR comercial, Branched DNA, Real Time PCR

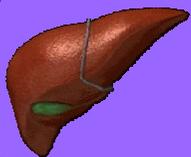
Herramienta para predecir la respuesta a la terapia y para seguir sus avances. Dependiendo de la técnica es menos sensible que la det. cualitativa.  
No se usa para diagnóstico



## Genotipificación:

Secuenciación (NS5B), RFLP, Hibridación

Uso en epidemiología. Predice la probabilidad de éxito del tratamiento.



## Histología directa o indirecta:

Única forma de establecer el grado de avance de la enfermedad.

**Biopsia Hepática:** Metodología directa. Gold Standar. Sensible al muestreo y al operador.  
**Métodos indirectos:** Elastografía, medición de enzimas u otros marcadores bioquímicos. No invasivos.

# RT - PCR

## Reacción de transcripción reversa y PCR

### APLICACIONES

- Presencia o ausencia de transcriptos
- Estimulación del nivel de expresión de un gen
- Clonación de fragmentos de genes
- Estudio de genomas retrovirales

# Transcriptasa reversa

AMV: VIRUS DE LA MIELOBLASTOSIS AVIARIA

M-MLV: VIRUS DE LEUCEMIA MURINA MOLONEY

Tth: termus termophilus

Requiere bajas T° (4°C) y presencia Mn<sup>2+</sup>, a diferencia de la ADN Pol que trabaja a altas T°(72°C) y requiere Mg<sup>2+</sup>.

# Metodología de RT - PCR

- Extracción de ARN (CH<sub>5</sub>N<sub>3</sub>.HSCN)
- Desnaturalización
- Incubación con mezcla de reacción
  - Buffer
  - dNTPs
  - primers
  - RNAasa inhibitor
  - Transcriptasa reversa
- Desnaturalización de la retro transcripción.

# PCR - COMPONENTES

1. ADN molde (ADNc)
2. ADN polimerasa (Taq)
3. Primers o cebadores
4. dNTP
5. Mg ( $\text{Cl}_2\text{Mg}$ )
6. Buffer / agua

Ciclo: **30**

Copias
536.870.882
536.870.911
30
1



ADNc

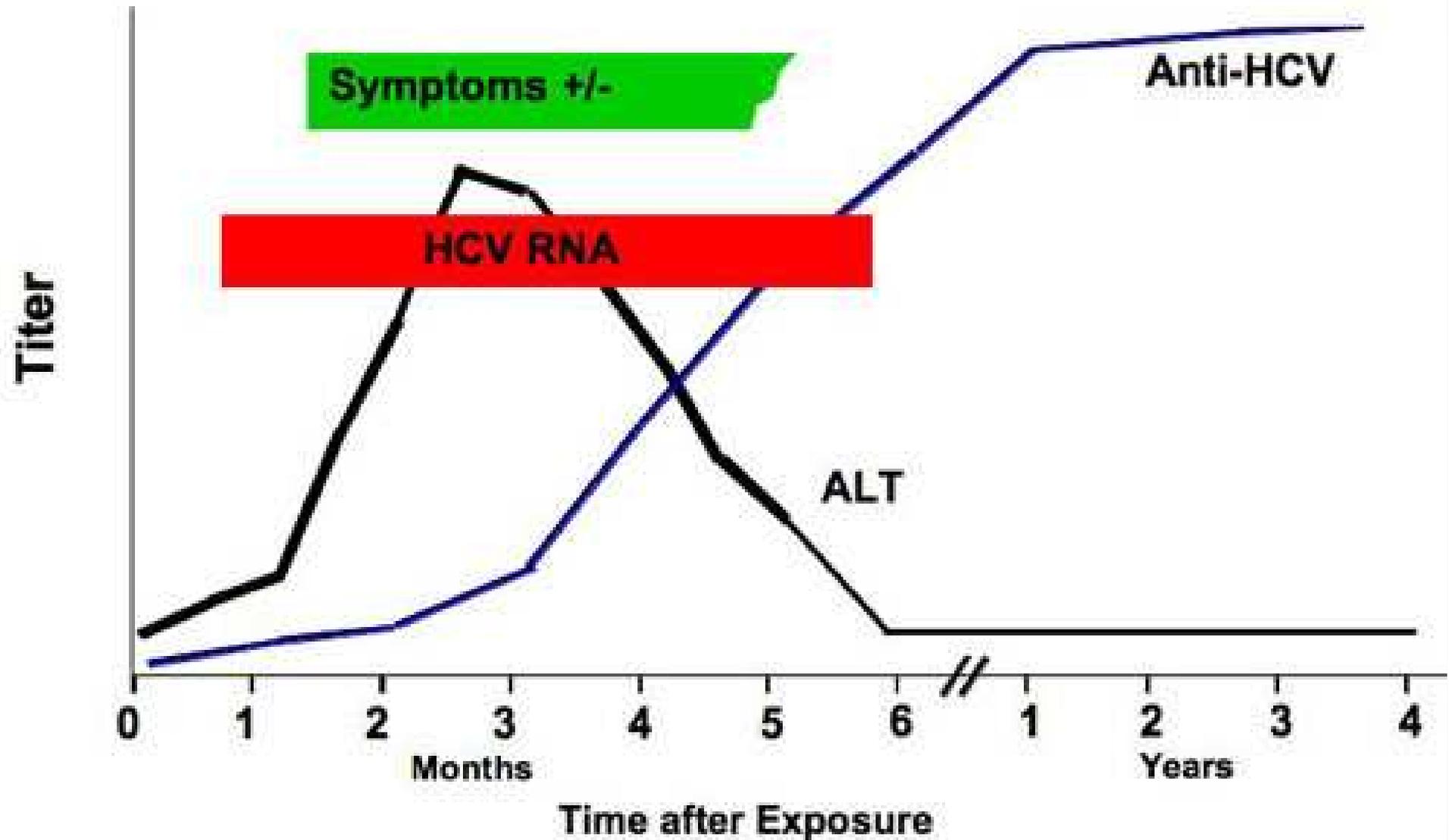
ARNm

# SISTEMAS DE DETECCIÓN DE PRODUCTOS AMPLIFICADOS

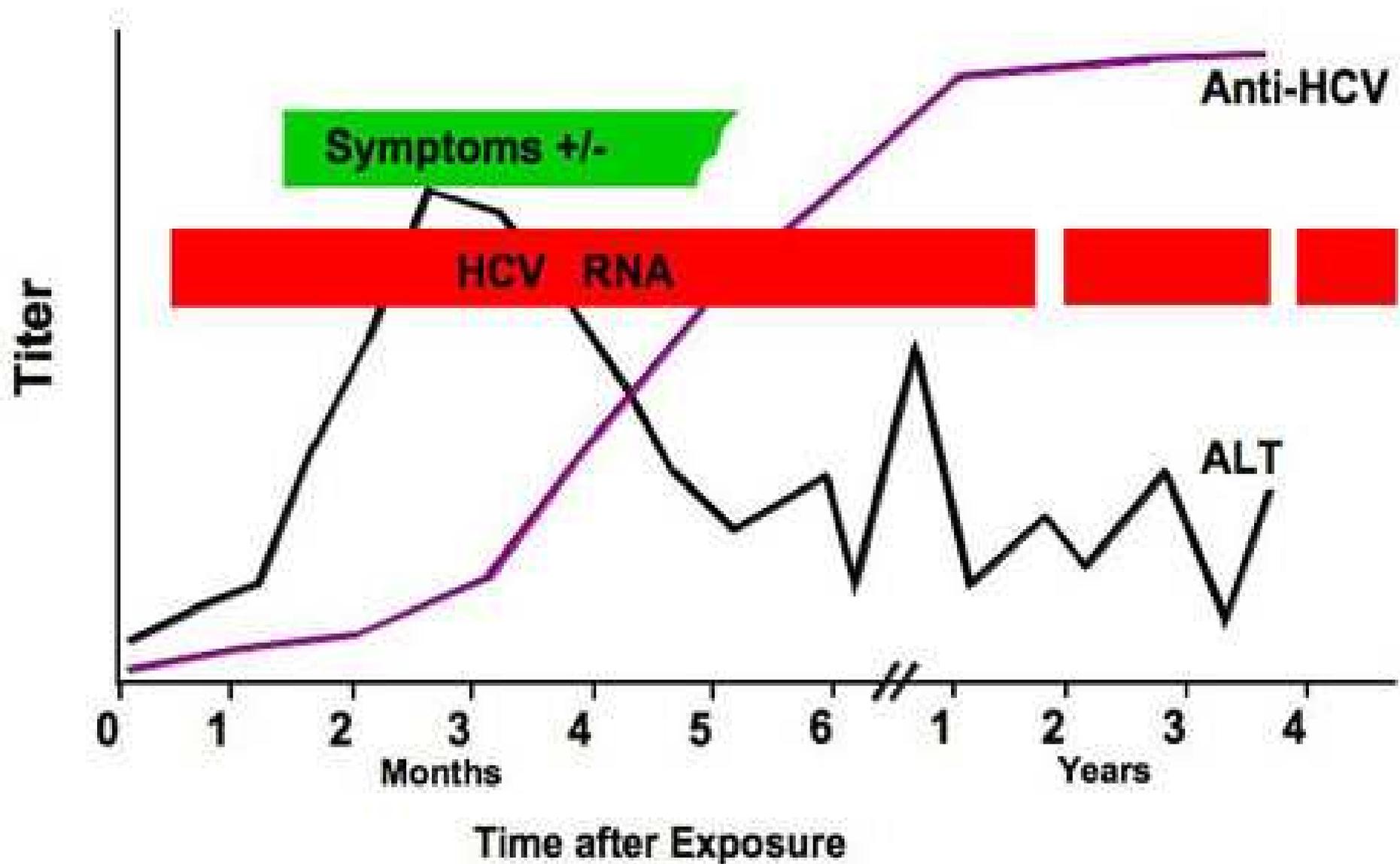
- **Electroforesis en gel de agarosa con tinción de Bromuro de Etidio**
- **Detección colorimétrica en microplacas**
- **SOUTHERN Blot**



# Infección Aguda



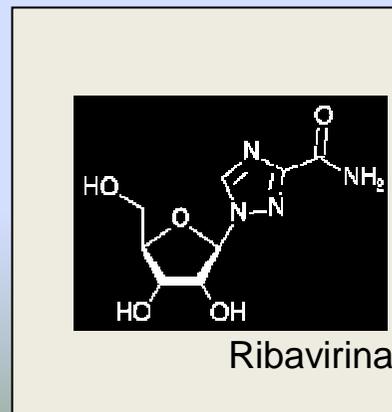
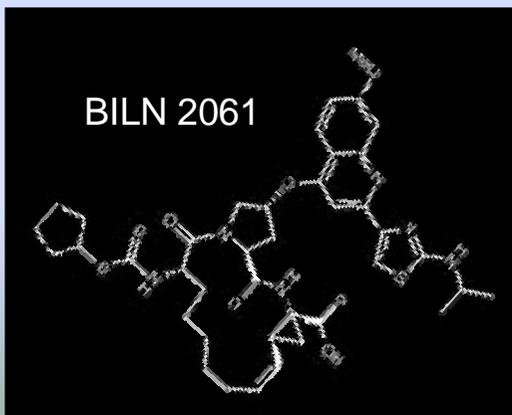
# Infección Crónica





# Tratamiento

- NO HAY VACUNA
- PEG-a2-Interferon
- Ribavirina
- Otros Antivirales → inhibición de NS3 (Toxico!)
- Factores que afectan el éxito de la terapia
  - Hospedador:
    - Edad; Sexo; “Etnia”; ADHERENCIA
  - Virus:
    - Carga Viral, Genotipo
  - Enfermedad:
    - Grado de fibrosis, Cirrosis descompensada, Inmunosupresión. COINFECCIONES



GRACIAS !!!!!!!

