**TRABAJO PRACTICO WORD**

**CURSOS: 2° A, 2° B, 2° C, 2° D.**

Tema: Hipervínculos

**Consigna**

Resolver los ejercicios de las paginas siguientes.

**Correo para entrega de trabajos:** **informatica.2do.46@gmail.com**

**Fecha de entrega: Jueves 08-10 (**si lo realizan antes, lo envían**)**

Proponemos realizar una reunión de 2° año (A, B, C y D) mediante la plataforma ZOOM el día Lunes 05-10 a las 13:30 hs.

[**https://us04web.zoom.us/j/7320823662?pwd=WmVKVzVEZnFMMWJRR2RHOFpxMGI4dz09**](https://www.google.com/url?q=https://us04web.zoom.us/j/7320823662?pwd%3DWmVKVzVEZnFMMWJRR2RHOFpxMGI4dz09&sa=D&usd=2&usg=AOvVaw1HMEXelIIh2oqpiZeW7nsG)

**ID de reunión**: 732 082 3662
Clave: 1234

Participaremos los profesores Cárdenas Jonathan de 2B y Oberholzer Rolf de 2A, 2C Y 2D. El objetivo es resolver las dudas respecto al desarrollo de cada trabajo práctico y ayudarnos a perfeccionar nuestra elaboración de los próximos videos.

**Formato sugerido**: (Así debe quedar en el documento nuevo – son 6 hojas como se muestra en las imágenes de las páginas 2 y 3)

* Letra: Arial 10
* Margenes: Superior, inferior e izquierdo: 2 – Derecho: 1,5
* **JUSTIFICAR** todo el documento (que quede alineado el margen derecho)
* Sangría de 1 cm.
* Aplicar las columnas como se muestra en la imagen.
* Realizar los Hipervínculos y marcadores de los títulos y subtítulos en verde.

**Atencion!!!**

**Copiar** el texto base que se encuentra de la ***página 4 a la 8*** en un documento en blanco y realizar el práctico. \*\* ***No será corregido si se envia junto con éste instructicvo***. \*\*







DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA HEPATITIS C

INDICE

1. TAXONOMÍA
2. DIVERSIDAD GENETICA
3. ASPECTOS CLINICOS DE LA HEPATITIS C
	1. INFECCIÓN AGUDA
	2. INFECCIÓN CRÓNICA
4. DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN POR VHC
	1. CURACIÓN A PARTIR DE UNA FORMA AGUDA
	2. CURACIÓN A PARTIR DE UNA FORMA CRÓNICA
	3. CRONICIDAD
5. BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

En 1989 apareció el primer trabajo sobre un nuevo agente viral denominado Virus de la Hepatitis C (VHC). Del estudio comparado con otros genomas virales conocidos se dedujo su relación con la familia de los Flavivirus. La construcción de un test de diagnóstico para detectar anticuerpos frente a él ya ha clasificado la mayoría de las hepatitis postransfusionales (NANB) y otras muchas como hepatitis por Virus C (HVC).

1.TAXONOMÍA *(volver al índice)*

Las consideraciones taxonómicas sobre el VHC se pensó que fuesen tiles no sólo para clasificar este nuevo agente dentro del reino viral sino tambiÉn para ayudar al entendimiento sobre su estructura genética, Mecanismos de replicación, transmisión y patogénesis. La cuestión no resultó tan sencilla. Cómo se dijo VHC está encuadrado dentro de los Flavivirus patógenos pertenecientes a un grupo de agentes llamados Arbovirus (Tabla 1). Este término, desafortunado en este momento, agrupa una variedad de virus muy diferentes cuya característica común es la de ser transmitidos mediante artrópodos pero que, paradójicamente, excluye a otros que genéticamente son muy similares y no son transmitidos por esta vía. Para el VHC no se conoce ningún artrópodo vector y sus infecciones producen enfermedad crónica y en algunos casos, los menos, una enfermedad aguda autolimitada o inaparente seguida de eliminación del virus y curación.

El VHC no ha sido visualizado pero conocemos algo de su tamaño ya que atraviesa filtros con poros de 60 a 70 nm. Tiene aproximadamente 60 nm de diámetro con una envoltura lipoproteica en la que encontramos glicoproteinas específicas insertas en ella. La nucleocpside es de simetría icosaédrica y encierra 9400 bases alineadas en una única molécula de ARN de polaridad positiva y que circula, según estudios fisicoquímicos, como viriones intactos y nucleocpsides. Su extracción a partir de plasma infeccioso mediante disolventes lipídicos (cloroformo) inactiva el virus indicando que los lípidos son una parte esencial de su estructura presumiblemente de la envoltura.

Igualmente el calor, formol y luz ultravioleta terminan con sus propiedades biológicas.

Se ha descrito su secuencia completa la cual contiene una única zona de lectura (ORF) que codifica una poliproteina precursora de 3011 aminoácidos, que posteriormente es fragmentada en diferentes polipéptidos estructurales y funcionales. Igual que los otros flavivirus el genoma del VHC tiene en la posición 5' una región que codifica las proteínas de la partícula viral(proteínas estructurales) y otra hacia el extremo 3' que codifica proteínas enzimáticas (proteínas funcionales que no forman parte de la estructura viral NS).

**REGION 5' NO CODIFICANTE**

Más allá del extremo 5' del genoma existe una pequeña secuencia de unas 34 bases que no expresa proteínas (región no codificante, 5'UTR) ‑ Untranslated Region‑ y que es la zona más conservada (92, 98 % de igualdad) en todos los tipos de virus aislados (Figura 1). Esta homogeneidad de 5'‑UTR hace presumir que contiene información de elementos reguladores para la traslación y tambiÉn para la replicación y empaquetamiento del virus.

Casi con certeza las mutaciones a este nivel son letales para el virus y no son toleradas.

**REGION CODIFICANTE**

\* Región estructural:

En esta región tenemos los genes C, E1 y E2. El gen C codifica una proteína de unos 191 aa. que forma la nucleópside, se denomina p22 (antígeno c22). Está altamente conservada en diferentes genotipos. Los genes E1 y E2 , este último bautizado inicialmente como NS1, codifican las proteínas de la envoltura viral. E1 es el responsable de una glicoproteína de 192 aa. (antígeno gp33). E2 responde de la traslación de otra glicoproteína de 327 aa. (antígeno gp70), muy variable y que parece ser el blanco de los anticuerpos neutralizantes.

\* Región no estructural

Contiene los genes NS2, NS3, NS4 y NS5 que como se comentó codifican proteínas funcionales cada una con diferentes cometidos. VHC no produce ADNs intermediarios de la replicación ni se ha encontrado material genético integrado en el genoma del huésped desconociéndose hasta este momento el mecanismo oncogénico de este virus.

2. DIVERSIDAD GENETICA *(volver al índice)*

La variabilidad de los genomas ARN es consustancial con la infidelidad de copia de sus ARN polimerasas Esta diversidad en los virus ha acuado el término de "quasiespecie" viral. La comparación entre los genomas de VHC han mostrado una considerable variabilidad en las regiones de la envoltura (E) y en las no estructurales (NS), mientras que la 5' no codificante (5'‑UTR) y en mucho menor grado, la región del core están altamente conservadas. Fundamentalmente han existido dos iniciativas serias de clasificación que han sido sucesivas. Una se basaba en las descripciones de los grupos japoneses que agrupaba a los diferentes aislados en tres grupos (I,II y III) con la posibilidad de ampliación a un cuarto y otra, la más actual, se basa en las pequeas diferencias encontradas sobre 5'‑UTR, que han dado lugar a un nuevo árbol definido por Simmonds y Cols en 1993 y que agrupa la mayoría de aislados conocidos.

3. ASPECTOS CLINICOS DE LA HEPATITIS C *(volver al índice)*

a. INFECCIÓN AGUDA *(volver al índice)*

**Como regla general la primoinfección es asintomática en el 90‑95% de los casos**.

Las formas agudas suelen ser poco habituales (10%) y escasamente graves. El periodo de incubación se estima entre 2 y 26 semanas aunque en el 80‑90% de los infectados los síntomas aparecen entre las 4 y 10 semanas; la incubación de las postransfusionales es más corto. El cuadro clínico de la forma aguda es similar al de otras hepatitis, **pero el virus C no suele producir ictericia** y el nivel de ALT suele ser igualmente más bajo y generalmente fluctuante, alcanzando su máximo nivel entre los 30 ‑ 60 días postinfección y en coincidencia con la inflamación aguda del hígado.

Cuadros más intensos no suelen ser habituales (5%) y dependen en gran parte de la dosis infectiva.

**Las formas fulminantes son muy poco frecuentes.**

b.INFECCIÓN CRÓNICA *(volver al índice)*

Aunque la resolución definitiva de la enfermedad es posible (10 ‑ 15 % de los casos), lo más frecuente en cualquiera de sus formas clínicas es la evolución a la cronicidad. La proporción de pacientes con infección aguda por virus C que se transforman en infecciones crónicas se estima que es un 60‑70%. Si la infección ha sido adquirida por transfusión, la cronicidad es la norma en el 50‑70% de los infectados mientras que en los casos esporádicos estas cifras descienden a rangos del 15‑ 30%.Sólo el 40‑60% de los pacientes con infección crónica desarrollan hepatitis, la situación puede variar desde un estado asintomático sin daño hepático hasta una forma con hepatitis rápida que en poco tiempo, 8 o 10 años, produce cirrosis. Lo habitual es que esta evolución se haga en un periodo de 20 o 30 años. La práctica repetida de biopsias hepáticas muestra una gran heterogeneidad entre los pacientes infectados crónicamente por VHC. En algunos casos las lesiones se mantienen estables durante años, en otros empeoran progresivamente y en otros alternan fases de empeoramiento y de mejoría. La progresión a cirrosis, parece producirse de forma gradual, por lo que la proporción de pacientes cirróticos aumenta con el paso de los años. No se han comprobado diferencias claras en la evolución entre los pacientes con hepatitis por VHC adquirida por transfusión y la de adquisición esporádica.

Con independencia de la evolución histológica, que puede ser muy evolucionada incluso en pacientes totalmente asintomáticos y con ALT normales, las manifestaciones clínicas de la hepatitis crónica por VHC se mantienen modestas a lo largo de los años. La mayoría de los pacientes siguen libres de síntomas o con mínimas molestias inespecíficas que rara vez interfieren con su actividad cotidiana. Esta ausencia de síntomas se comprueba no sólo en los pacientes que presentan lesiones hepáticas estables y mínimas sino tambiÉn en los que progresan a la cirrosis, por lo que permanecer asintomático no garantiza una evolución favorable.

La gran mayoría de los pacientes con hepatocarcinoma asociado al VHC padecen cirrosis. Sin embargo, aproximadamente un 3% de los hepatocarcinomas se desarrollan sobre hígados no cirróticos, A pesar de la ausencia de integración de este virus estos datos lo hacen pensar en la existencia de un efecto oncogénico directo del VHC. El intervalo entre la infección por VHC y la aparición del hepatocarcinoma es de 7 a 25 aos.

Para terminar, es posible que la aparición de mutantes que escapen a la vigilancia del sistema inmune explique en muchos casos la persistencia de la infección. Es asÍ mismo posible que la infección por variantes genéticas con distinta capacidad aparecidas en el curso de la infección crónica bajo la presión del sistema inmune o adquiridas en el momento del contagio, pueda contribuir a explicar la marcada variabilidad evolutiva de la infección crónica por VHC.

4. DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN POR VHC *(volver al índice)*

Podemos dividir las pruebas de diagnóstico en dos grupos:

\* Las que ponen de manifiesto anticuerpos frente a diferentes antígenos constitutivos del virus o frente a proteínas producidas en su proceso de replicación.

 Su positividad indica que el paciente estuvo o está infectado el virus. De ninguna manera significa únicamente infección por VHC..

\* Las que detectan componentes del virus y que por tanto, su positividad, es expresión de la presencia del virus y de infección.

**DIAGNOSTICO SEROLOGICO. DETECCION DE ANTICUERPOS**

La variedad de proteínas producidas durante el proceso de replicación del VHC produce una respuesta serológica muy variada frente a Él. No ha podido encontrarse una relación precisa entre los diferentes patrones de respuesta inmune y el estadío biológico o clínico de la infección.

Únicamente sabemos con certeza que los anticuerpos frente al core (antígeno c22‑c) y NS3 (c33‑c) son los primeros en aparecer en los cuadros de primoinfección.

**MARCADORES DE INFECCION**

Fundamentalmente son dos los parámetros que el laboratorio puede determinar:

\* ARN viral de forma cualitativa (viremia) o cuantitativa (carga viral)

\* Genotipo viral.

**DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO DEL VHC**

Existen diferentes procedimientos para su determinación. Cada técnica tiene sus limitaciones. Los métodos basados en la PCR de la región 5'UTR son muy sensibles pero hay que tener en cuenta que las diferencias entre los diferentes tipos son muy sutiles. RFLP diferencia entre los tipos pero no entre algunos subtipos. La metodología de Okamoto es laboriosa etc. Las técnicas para determinar el genotipo del VHC infectante son:

**BASADOS EN LA PCR**

\* Secuenciación: es la tÉcnica de mayor efectividad puesto que determina la secuencia de nucleótidos del virus infectante; sin embargo, requiere un equipo de elevado coste que no se encuentra al alcance de todos los laboratorios de MicrobiologÍa ClÍnica. Por otro lado, el procesamiento de un gran número de muestras es muy laborioso. Se analizan las diferencias en las regiones Core y NS5.

\* PCR utilizando cebadores específicos para cada genotipo. Es un método desarrollado por Okamoto y colaboradores para determinar los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b y, posteriormente, el 3a. El uso de cebadores específicos para cada tipo es un método sencillo para identificar los genotipos ya que se puede resolver en un gel de agarosa, identificando cada tipo por la longitud de los productos obtenidos. Sin embargo, el ensayo se puede volver demasiado complejo al intentar determinar todos los genotipos aparecidos hasta el momento. Otro problema de este método parece ser el de producir falsos positivos para infecciones mixtas. Las regiones estudiadas para esta metódica corresponden a NS5, 5'UTR, Core/E1 y Core.

**EVOLUCION DE LOS MARCADORES**

Primoinfección

En estos casos los anticuerpos pueden hacerse detectables entre las semanas 3 o 4 despuÉs del comienzo de la enfermedad pero puede alargarse como media a las 8 semanas (depende en gran parte de la dosis infectiva que aportó el mecanismo de transmisión). TambiÉn puede detectarse IgM. El título más elevado de anticuerpos suele establecerse despuÉs que lo hayan alcanzado las ALT. En esta fase los anticuerpos están dirigidos fundamentalmente contra c22, c33‑c, ambos muy antigénicos, y NS5.

El ARN es detectable mucho antes de la seroconversión y su concentración suele ir en incremento hasta que los anticuerpos alcanzan su meseta. Luego, si el paciente cura, desaparece rápidamente. Si evoluciona a la cronicidad su presencia puede ser o constante y con concentraciones oscilantes o intermitente con incrementos y descensos arbitrarios.

a. CURACIÓN A PARTIR DE UNA FORMA AGUDA (volver al índice)

Los anticuerpos van disminuyendo lentamente y pueden desaparecer entre los 12 o 24 meses aunque en ocasiones persisten más de 5 años. El ARN, al cesar la replicación se negativiza persistentemente. Esto debe de constatarse mediante la realización de PCR seriadas mientras existan anticuerpos. Si los anticuerpos desaparecen debe de repetirse la prueba para confirmar la buena evolución.

b. CURACIÓN A PARTIR DE UNA FORMA CRÓNICA *(volver al índice)*

En los pacientes que curan en esta fase siguen manteniendo la reactividad frente a c22 y c33c indefinidamente. Se desconoce el motivo de esta persistencia que puede ser debida a la larga estimulación antigénica que supuso esta forma de enfermedad. El ARN igualmente es el primer marcador que se negativiza siendo necesaria la monitorización de esta prueba. En el caso de los pacientes tratados la persistencia de ARN, a títulos similares a los iniciales, es indicio de la poca eficacia de aquel.

Si transcurridos 2 meses la situación persiste deberá reevaluarse la terapética. Una vez finalizado el tratamiento con respuesta aparente (aclaramiento del ARN) el paciente deberá ser monitorizado hasta al menos 6 ó 12 meses.

c. CRONICIDAD *(volver al índice)*

En esta forma de enfermedad la persistencia de los anticuerpos con cualquier patrón de respuesta, incluso con pruebas confirmatorias indeterminadas, son posibles. El ARN igualmente puede tener comportamientos imprevisibles alternando fases de gran concentración con otras de silencio.

En estos casos ALT son marcadores muy útiles en el seguimiento.

5. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA *(volver al índice)*

Coo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby Lr Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood‑borne non‑A non‑B hepatitis genome. 1989.

Science. 244:359‑362.

Alter HJ, Purcell RH Shih JW. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectyvely folowed transfusion recipients with acute and chronic non‑Anon‑B hepatitis. 1989. New Eng J Med. 321:1494‑1500.

Choo QL, Richman KH, Han JH. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. 1991. Proc Nat Acad Sci USA. 88:2451‑2455.

Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Manabe S, Murakami S, Fujita J, Onishi E. Structure and organization of the hepatitis C virus Genome Isolated from human carriers. 1991. J Virol. 65:1105‑1113.

Cambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus genome organization, expresion and replication. 1990. Annu Rev Microbiol. 44:649‑688.

Choo QL, Weiner AJ, Overby LR, Kuo G, Houghton M, Bradley DW,. Hepatitis C virus: the mayor causative agent of viral non‑A non‑B hepatitis. 1990.Br Med Bull.46:423‑441.

Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the 5' noncoding region

of hepatitis C virus. 1992. Proc Natl Acd Sci USA. 89:4942‑4946.

Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. Molecular Biology of the Hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. 1991. Hepatology. 2:381‑389.

Rizzetto M,Feinstone SM, Bonino F, Brunnetto MR, baldi M, Rassam SW, Dusheiko GM, Genesca J, Esteban JL, Esteban R, Vander Poel CL, Reesink HW, Saracco G. Hepatitis C. 1991. Eurp J Gastroenterol and Hepatol. 3:569‑606.

Simmonds P, McOmish F, Yap P, Chan SW, Lin C, Dusheiko G, Saeed A, Holmes E. Sequence variability in the 5' non‑coding region of hepatitis C virus:Identification of a new virus type restrictions on sequence diversity. 1993. J.Gen Virology. 74:661‑668.