

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD DIAGNÓSTICA DE UN INMUNOENSAYO
PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS TOTALES ANTI HEPATITIS C,
EN EL HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS DURANTE EL PERIODO NOVIEMBRE
2022-ABRIL 2024

Trabajo Final de graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa de
Estudios del Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de
Especialidad en Inmunología Clínica

MARÍA JIMENA CASASOLA BADO

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

DEDICATORIA

A mis papas, por haberme acompañado siempre y hacer posible, con su respaldo incondicional, cada paso de mi vida y carrera universitaria.

A Kenneth, por caminar conmigo en esta nueva etapa, con paciencia y compañía que hicieron posible la conclusión de este trabajo.

Y a Kira, aunque nunca pueda leer estas palabras, porque su compañía, alegría y amor incondicional significaron para mí una fuente inmensa de fuerza y esperanza en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía en cada paso, por darme la fortaleza en los momentos de cansancio, la claridad cuando las ideas parecían agotarse y la paz necesaria para no rendirme. Sin Su presencia, este trabajo no habría sido posible.

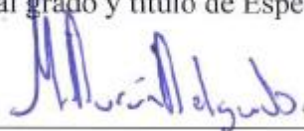
A mi familia, porque con su apoyo hicieron más llevadero este sacrificio y me permitieron llegar hasta aquí.

A Marvin, mi tutor y amigo, por su apoyo incondicional, su guía profesional y por ser un apoyo constante en mi vida, en mi trabajo y en mis estudios.

A Facó y a mis compañeros de la División de Inmunología del Hospital San Juan de Dios, por su colaboración, disposición y por compartir generosamente sus conocimientos.

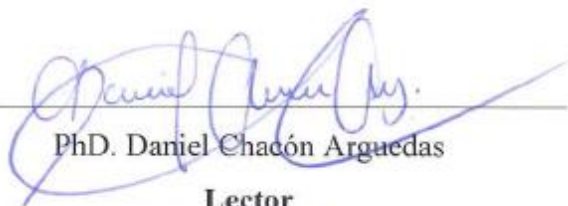
Y a todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron a que este proyecto se hiciera realidad.

Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Inmunología Clínica



Esp. Marvín Roberto Durán Delgado

Profesor tutor



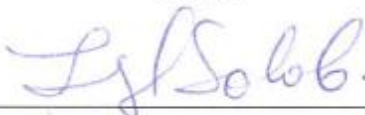
PhD. Daniel Chacón Arguedas

Lector



Esp. Francisco Rodríguez Amador

Lector



MSc. Ingrid Salas Campos

Directora

Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología



MSc. Lucía Figueroa Protti

Coordinadora Especialidad en Inmunología Clínica



María Jimena Casasola Bado

Sustentante

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
HOJA DE APROBACIÓN	iv
TABLA DE CONTENIDOS	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
El Virus de la Hepatitis C (VHC)	3
Epidemiología del VHC	6
Fisiopatología y manifestaciones clínicas de la infección por VHC	11
Diagnóstico de laboratorio del VHC	16
Evaluación de la exactitud diagnóstica en el ensayo de tamizaje	27
Estado de la cuestión	31
OBJETIVO GENERAL	33
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
METODOLOGÍA	35
1. Diseño del estudio	35
2. Participantes	35
3. Estrategia metodológica	36
4. Obtención de datos	37
5. Análisis estadístico	37
6. Consideraciones éticas y confidencialidad	44
RESULTADOS	46
Selección de la población de estudio	46
Descripción de la seroprevalencia de anticuerpos totales anti HCV en la población de estudio	51
Concordancia diagnóstica del ensayo ARCHITECT Anti-HCV con respecto al ensayo HCV-IB en la población de individuos RR en las condiciones actuales.	52

Punto de corte óptimo de la prueba de detección de anticuerpos totales anti HCV para predecir infección por HCV. _____	53
DISCUSIÓN _____	55
CONCLUSIONES _____	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	67

RESUMEN

Este estudio evaluó la exactitud diagnóstica del inmunoensayo Architect Anti-HCV (Abbott Diagnostics), referencia 6C37-38, para la detección de anticuerpos totales contra el virus de la hepatitis C (VHC), en condiciones reales de uso en el Laboratorio de Inmunología del Hospital San Juan de Dios (HSJD), entre noviembre de 2022 y abril de 2024. En el diagnóstico serológico institucional de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), este ensayo se utiliza como prueba de tamizaje inicial, y los resultados reactivos se confirman mediante el ensayo HCV Immunoblot 3.0 (MP Diagnostics).

Se analizaron 32 814 determinaciones, de las cuales 147 fueron repetidamente reactivas (RR). De estas, el 50,3% se confirmaron como verdaderos positivos y el 49,7% como falsos positivos. La seroprevalencia total fue 0,17%, con diferencias entre donantes (0,03%) y no donantes (0,21%). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se considera que una población tiene seroprevalencia intermedia o alta para una infección cuando esta es igual o mayor al 2%; por lo tanto, los resultados del HSJD corresponden a un escenario de baja prevalencia (World Health Organization, 2025). Los falsos positivos se concentraron en valores bajos del índice señal/punto de corte (S/CO promedio = 2,4), mientras que los verdaderos positivos presentaron valores altos (S/CO = 14,0). El análisis mediante curva ROC mostró un área bajo la curva de 0,90, lo que confirma una buena capacidad discriminativa del ensayo.

Con el punto de corte del fabricante (S/CO \geq 1,0) la especificidad fue de 4,1%; al ajustar el punto de corte a 9,5 S/CO, la especificidad aumentó a 98,6%, con una razón de verosimilitud positiva (LR+) de 53 y un índice de Youden de 0,71. En conjunto, los resultados muestran que la exactitud diagnóstica del Architect anti-HCV en el HSJD no se ve limitada por su sensibilidad como prueba de tamizaje, sino por la estrategia empleada para el manejo de los resultados inicialmente reactivos en un contexto de muy baja prevalencia. La magnitud del índice de reactividad es clave para la interpretación diagnóstica, ya que las reactividades bajas concentran la mayoría de los resultados no confirmados, mientras que los valores elevados se asocian a una alta probabilidad de verdadero positivo.

ABSTRACT

This study evaluated the diagnostic accuracy of the immunoassay Architect anti-HCV (Abbott Diagnostics) for the detection of total antibodies against the hepatitis C virus, under real-world conditions in the Immunology Laboratory of Hospital San Juan de Dios (HSJD) between November 2022 and April 2024. Within the institutional serological diagnosis of the Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), this assay is used as the initial screening test, and reactive results are confirmed using the HCV Immunoblot 3.0 assay (MP Diagnostics).

A total of 32 814 results were analysed, of which 147 were repeatedly reactive (RR). Among these, 50,3% were confirmed as true positives and 49,7% were false positives. The overall seroprevalence was 0,17%, with differences between donors (0,03%) and non-donors (0,21%). According to the World Health Organization, a population is considered to have intermediate or high seroprevalence when it is equal to or greater than 2%; therefore, the HSJD results correspond to a low prevalence setting (World Health Organization, 2025). False positive results were concentrated at low signal-to-cutoff ratios (S/CO) (mean = 2,4), whereas true positives showed high values (S/CO = 14,0). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed an area under the curve of 0,90, confirming good discriminative ability of the assay.

Using the manufacturer's cutoff (S/CO \geq 1,0), specificity was 4,1%; when the cutoff was adjusted to 9,5 S/CO, specificity increased to 98,6%, with a positive likelihood ratio (LR+) of 53 and a Youden index of 0,71. Overall, the results indicate that the diagnostic accuracy of the Architect anti-HCV assay at HSJD is not limited by its sensitivity as a screening test, but by the strategy used to manage initially reactive results in a very low prevalence context. The magnitude of the S/CO index is key for diagnostic interpretation, as low reactivity values account for most non confirmed results, while high values are associated with a high probability of true positivity.

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Características demográficas de la población según resultado serológico	47
Tabla II. Valores del índice señal/corte (S/CO) del Architect anti-HCV según resultado serológico	48
Tabla III. Comparación entre el número de FP esperados según la especificidad reportada por el fabricante y los observados en la cohorte del HSJD	52
Tabla IV. Desempeño diagnóstico del inmunoensayo Architect anti-HCV en el punto de corte óptimo (9,5 S/CO)	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Representación esquemática de la tira de HCV-IB 3.0 con disposición de bandas virales y controles internos. Fuente: MP Diagnostics, 2016.....	24
Figura 2. Esquema del proceso que sigue el fabricante para definir y ajustar el punto de corte de un inmunoensayo. Adaptado de Hassanzad & Hajian-Tilaki (2024).....	30
Figura 3.Diagrama de flujo del proceso de selección de casos, adaptado de la guía STARD (elaboración propia con BioRender).....	46
Figura 4. Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los casos no reactivos del Architect anti-HCV	48
Figura 5.Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los verdaderos positivos (VP) Architect anti-HCV.....	49
Figura 6. Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los casos falsos positivos (FP) del Architect anti-HCV.....	49
Figura 7. Dispersión de los valores del índice de reactividad (S/CO) obtenidos por el Architect anti-HCV en los casos falsos positivos (FP) y verdaderos positivos (VP) según la clasificación del HCV-IB. La línea roja indica la mediana.	50
Figura 8.Curva ROC del inmunoensayo Architect Anti-HCV utilizando el inmunoensayo HCV-IB como referencia.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

- ALT: Alanina aminotransferasa
- AUC: Área bajo la curva (*Area Under the Curve*)
- CCSS: Caja Costarricense de Seguro Social
- CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*
- CEC-HSJD: Comité Ético Científico del Hospital San Juan de Dios
- CIARM: Conferencia Internacional de Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Medicamentos de Uso Humano
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- CONIS: Consejo Nacional de Investigación en Salud
- Core: Antígeno estructural de la cápside del virus de la Hepatitis C
- ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- Esp: Especificidad
- ER: Estándar de referencia
- FP: Falsos positivos
- GST: Glutación-S-transferasa
- VHC: Virus de la hepatitis C
- HCV cAg: Antígeno core del VHC
- HCV-EIA: Inmunoensayo para la detección de anticuerpos totales anti-VHC
- HCV-IB: Hepatitis C Virus *Immunoblot*
- HSJD: Hospital San Juan de Dios
- IC95%: Intervalo de confianza al 95%
- IFN- γ : Interferón gamma
- IgG / IgM: Inmunoglobulina G / Inmunoglobulina M
- IR (S/CO): Índice de reactividad (Señal/Punto de corte)
- J: Índice de Youden
- κ : Índice Kappa de Cohen
- KS: prueba de Kolmogorov–Smirnov
- LR+: Razón de verosimilitud positiva
- NAT: *Nucleic Acid Test*

- NS3 / NS4 / NS5: Proteínas no estructurales 3, 4 y 5 del VHC
- OMS / WHO: Organización Mundial de la Salud / *World Health Organization*
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- PD-1: *Programmed cell death protein 1*
- RIG-I: *Retinoic acid-Inducible Gene 1*
- ROC: Curva característica operativa del receptor (*Receiver Operating Characteristic*)
- RR: Repetidamente reactivo
- RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa
- Sen: Sensibilidad
- S/CO: Relación señal/punto de corte (*Signal-to-Cut-off ratio*)
- SR-B1: Receptor *Scavenger* clase B tipo 1
- STARD: *Standards for Reporting Diagnostic Accuracy Studies*
- TCR: Receptor de células T
- TLR: Receptores tipo Toll
- Treg: Linfocitos T reguladores
- URL: Unidades relativas de luz
- VHB: Virus de la hepatitis B
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana
- VN: Verdaderos negativos
- VP: Verdaderos positivos
- VPN: Valor predictivo negativo
- VPP: Valor predictivo positivo

INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis C (VHC) continúa siendo un reto importante para la salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente 50 millones de personas viven actualmente con esta infección y cada año se producen alrededor de un millón de nuevos casos (Global Hepatitis Report 2024, 2024). Muchas personas infectadas desconocen hoy en día su diagnóstico, lo que limita la posibilidad de un tratamiento oportuno y aumenta el riesgo de complicaciones asociadas como cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular (Global Hepatitis Report 2024, 2024).

En Costa Rica, no existen estudios poblacionales recientes que estimen con precisión la prevalencia del VHC. Según datos de la OMS recopilados por la Coalición para la Eliminación Global de la Hepatitis, en 2022 la prevalencia fue de 0,55% (Coalition for Global Hepatitis Elimination (CGHE). Country Data Profile: Costa Rica., 2022). Este dato es similar al reportado por la Revista Médica de la Universidad de Costa Rica en ese mismo año, aunque dicho estudio no detalla la metodología utilizada, por lo que debe interpretarse con cautela (Corrales-Rodríguez et al., 2022).

La baja prevalencia de esta infección tiene implicaciones importantes en el diagnóstico de laboratorio, ya que influye en la exactitud de los inmunoensayos utilizados en la práctica clínica. En escenarios de baja prevalencia, aunque un inmunoensayo tenga buena sensibilidad, el valor predictivo positivo (VPP) de esta disminuye. Esto aumenta la proporción de resultados reactivos que no corresponden a infección confirmada por VHC. Por ello, es esencial contar con un diagnóstico temprano y confiable para orientar de forma adecuada el manejo clínico de los pacientes.

En la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) se emplea una estrategia diagnóstica institucional que inicia con una prueba altamente sensible para la detección de anticuerpos totales anti-VHC, seguida de la confirmación de los resultados reactivos con una técnica más específica. Esta estrategia es adecuada para nuestro sistema de salud porque prioriza la

sensibilidad en el tamizaje. Sin embargo, al aplicarse en una población de baja prevalencia, deja en evidencia limitaciones que requieren evaluación en condiciones reales.

Dentro de esta estrategia, la prueba inicial es el inmunoensayo de quimioluminiscencia Architect anti-HCV (Abbott Diagnostics), en adelante referido como Architect anti-HCV, utilizado de rutina como herramienta de tamizaje. Los resultados reactivos se confirman mediante la prueba confirmatoria HCV Immunoblot 3.0 (MP Diagnostics), en adelante referido como HCV-IB.

El presente estudio tiene como objetivo principal evaluar la exactitud diagnóstica del inmunoensayo Architect anti-HCV en la población analizada en el Hospital San Juan de Dios (HSJD) entre noviembre de 2022 y abril de 2024. Para ello, se analizó su desempeño en condiciones reales de uso, utilizando como referencia la prueba HCV-IB y aplicando herramientas estadísticas como la curva Característica Operativa del Receptor (ROC) para determinar el punto de corte más adecuado para nuestra población (Roy-García et al., 2023). Además, se analizó la relación entre los patrones de reactividad observados en el HCV-IB y la clasificación de los casos como verdaderos positivos o falsos positivos.

Este estudio busca generar evidencia local que contribuya a optimizar el uso de este inmunoensayo en el contexto clínico nacional, promoviendo un diagnóstico más preciso y una utilización más eficiente de los recursos diagnósticos.

ANTECEDENTES

El Virus de la Hepatitis C (VHC)

Características del VHC

El VHC es un virus ARN perteneciente al género *Hepacivirus* dentro de la familia *Flaviviridae*. Una de sus principales características es la elevada variabilidad genética, debida a que su ARN polimerasa carece de un mecanismo de corrección de errores durante la replicación (Martinez & Franco, 2021). A esto se le suma la alta tasa de replicación viral y la presión selectiva del sistema inmune del huésped, que favorecen la formación de cuasiespecies. Gracias a esto el virus puede persistir y evadir la respuesta inmunológica (Martinez & Franco, 2021). Esta heterogeneidad genética también complica el diagnóstico y manejo clínico, ya que algunas mutaciones pueden afectar regiones blanco de los anticuerpos en los inmunoensayos o de los fármacos antivirales, reduciendo la sensibilidad diagnóstica de las pruebas o la eficacia de los tratamientos (Le et al., 2024).

El VHC es un virus pequeño y pleomórfico, con un diámetro de aproximadamente de 50 a 80 nanómetros. Su estructura está compuesta por una cápside proteica (core) que envuelve el genoma viral (Méndez-Sánchez et al., 2024). Esta cápside está rodeada por una envoltura lipídica en la que se insertan glicoproteínas virales de tipo espicular (E1 y E2), las cuales permiten la unión del virus a receptores específicos en la membrana de las células blanco para facilitar su ingreso (Metcalf et al., 2023; Velez-Moller, 2017). Una característica particular del VHC es que puede asociarse a lipoproteínas y apolipoproteínas del huésped, como Apo A1, B, C y E, dando origen a lipoviropartículas (LVPs). Esta asociación le permite al virus evadir la respuesta inmune y facilita su interacción con receptores celulares (Li et al., 2021; Méndez-Sánchez et al., 2024).

El genoma viral está compuesto por una hebra de 9 600 nucleótidos de ARN de cadena sencilla y codifica una única poliproteína precursora, de aproximadamente 3 000 aminoácidos (Goonawardane et al., 2025). Esta poliproteína da origen a 10 proteínas virales: tres proteínas estructurales (core, E1 y E2) y siete proteínas no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B,

NS5A y NS5B) (Méndez-Sánchez et al., 2024). Las proteínas estructurales participan en el ensamblaje del virión y en el reconocimiento celular. La proteína integral de membrana p7 tiene dos dominios transmembrana y actúa como canal iónico facilitando el ensamblaje viral (Sanchez Orozco et al., 2016).

Por otro lado, las proteínas no estructurales no forman parte del virión maduro, pero sí participan activamente en la replicación del virus (Sanchez Orozco et al., 2016). Las proteínas NS2 y NS3 forman un complejo con actividad proteasa que corta la poliproteína precursora en proteínas funcionales (Sanchez Orozco et al., 2016). La proteína NS3 también actúa como helicasa, desenrollando estructuras secundarias del ARN que permiten la síntesis del genoma viral (Martineau et al., 2024). La proteína NS4A es un cofactor que estabiliza la actividad proteasa de NS3 (Sanchez Orozco et al., 2016). NS5A es una metaloproteína de zinc que participa en la replicación viral, el ensamblaje de nuevas partículas virales y la inhibición de la apoptosis de la célula infectada, contribuyendo a la evasión de la respuesta inmune (Goonawardane et al., 2025). Finalmente, la proteína NS5B es una ARN polimerasa dependiente de ARN, responsable de la síntesis de nuevos genomas virales (Laurido, 2018).

Es importante mencionar que muchas de estas proteínas como NS3, NS4 y NS5, se utilizan como antígenos recombinantes en inmunoensayos serológicos, debido a su alta inmunogenicidad (Jiang et al., 2021). Un ejemplo es el HCV-IB de MP Diagnostics, que incorpora estas proteínas para detectar anticuerpos específicos contra el virus y confirmar los resultados obtenidos en las pruebas de tamizaje (MP Biomedicals, 2019).

Ciclo replicativo del VHC

El VHC presenta tropismo hepático, por lo que su ciclo replicativo ocurre principalmente en los hepatocitos. En la sangre, el virus circula sobre todo en forma de LVPs, lo que facilita su captura por los receptores DC-SIGN en células dendríticas y L-SIGN en el endotelio. De esta manera, el virus atraviesa el endotelio hacia el espacio sinusoidal y posteriormente al espacio de Disse, un compartimento perisinusoidal ubicado entre el endotelio y los hepatocitos, donde entra en contacto directo con la membrana basolateral de los hepatocitos. En esta membrana se encuentran los receptores que hacen posible el ingreso del virus (Li et al., 2021).

En este proceso participan receptores de membrana específicos como CD81 y ocludina, cuya coexpresión en los hepatocitos favorece la entrada viral (Méndez-Sánchez et al., 2024). Sin embargo, también se ha reportado que el VHC puede replicarse en otros tipos celulares extrahepáticos, como monocitos, macrófagos, linfocitos B y T, células dendríticas e incluso en la microglía del sistema nervioso central (Méndez-Sánchez et al., 2024; Song et al., 2021). Esto sugiere que otras células podrían actuar como reservorios virales y contribuir a la persistencia de la infección (Echevarria-Lima & Moles, 2024)

La entrada del virus se inicia con un anclaje inespecífico a los hepatocitos mediante la unión a proteoglicanos sulfatados y facilitado por la asociación del virus con apolipoproteínas como ApoE. Seguidamente, las glicoproteínas de envoltura E1 y E2 se une específicamente con SR-B1 y CD81 de los hepatocitos. Finalmente, la ocludina permite la internalización mediada por clatrina, un paso importante en el ingreso del virus a la célula .

Una vez que las partículas virales son internalizadas en vesículas endocíticas, la disminución del pH induce cambios conformacionales en la glicoproteína E1, lo que provoca la fusión de la envoltura lipídica viral con la membrana del endosoma. Esto permite la liberación de la nucleocápside hacia el citoplasma. Una vez en el compartimento citoplasmático, las proteínas de la cápside se separan y el ARN viral es liberado y dirigido al retículo endoplásmico rugoso para iniciar su traducción (Izumida & Morita, 2024).

En el retículo endoplásmico rugoso ocurre la síntesis proteica. El ARN viral actúa como ARN mensajero y es traducido directamente por los ribosomas del retículo, generando un precursor poliproteico que luego será procesado por proteasas virales (NS3) y celulares. De esta forma se originan las proteínas estructurales (core, E1, E2) y no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) necesarias para la replicación del virus (Izumida & Morita, 2024; Laurido, 2018).

Por otra parte, las proteínas NS4B y NS5A, junto con algunas proteínas celulares, inducen la reorganización del retículo endoplásmico para formar una red membranosa con vesículas de doble membrana. En estas estructuras ocurre la replicación del ARN viral, el ensamblaje de proteínas y la formación de nuevas partículas virales (Laurido, 2018).

Las nuevas nucleocápsides adquieren su envoltura lipídica en el retículo endoplásmico y son transportadas a través del aparato de Golgi, donde se asocian a lipoproteínas celulares, formando partículas LVPs. Finalmente, estas partículas son secretadas por exocitosis hacia el espacio extracelular (Izumida & Morita, 2024).

Adicional al ciclo de replicación clásico, el VHC puede transmitirse directamente de un hepatocito a otro, lo que le permite evadir la neutralización por anticuerpos. También puede transferirse a través de exosomas, que transportan el ARN viral protegido sin la exposición directa al sistema inmune. Estos mecanismos, junto con su capacidad de infectar células extrahepáticas, explican la persistencia del virus en el huésped y el desarrollo de la infección crónica (Li et al., 2021).

Epidemiología del VHC

Epidemiología global y situación en Costa Rica

La infección por el VHC representa un importante problema de salud pública a nivel mundial y se considera una de las principales causas de morbilidad y mortalidad asociadas a enfermedades hepáticas. Entre sus consecuencias más graves se encuentran la hepatitis crónica, la cirrosis y el carcinoma hepatocelular (World Health Organization, 2025).

En el 2024, la OMS estimó que alrededor de 50 millones de personas vivían con infección crónica por VHC y que cada año se producen aproximadamente 1,5 millones de infecciones nuevas. La mayoría de estas personas desconoce su diagnóstico, lo que limita el acceso a tratamiento oportuno y favorece la transmisión de la infección (World Health Organization, 2025).

La distribución geográfica de la prevalencia de la infección es heterogénea en el mundo. En África es de aproximadamente 2,9%, mientras que en América es de 1,3%. La región del Mediterráneo Oriental y la Región Europea contienen la mayor cantidad de personas con infección crónica, con aproximadamente 12 millones casos en cada una (Petruzzello et al.,

2016; World Health Organization, 2025). Esto evidencia desigualdades en el acceso a un diagnóstico oportuno y a tratamientos antivirales efectivos.

La eliminación del VHC es una de las metas de la OMS que forma parte de las “Estrategias mundiales del sector de la salud contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), las hepatitis víricas y las infecciones de transmisión sexual para el periodo 2022-2030”. El objetivo es reducir en un 90% las infecciones nuevas por VHC y en un 65% la mortalidad asociada para el año 2030. Para lograrlo es necesario mejorar la detección activa de nuevos casos, ampliar el acceso al tratamiento y mantener una vigilancia epidemiológica constante (WHO, 2024).

En el caso de Costa Rica, la información disponible sobre la epidemiológica del VHC es limitada. No existen estudios poblacionales recientes que permitan estimar de forma confiable la prevalencia de la enfermedad, y el Ministerio de Salud no cuenta con estadísticas actualizadas al respecto. En relación con los factores de riesgo de infección por VHC, Barboza Porras (2015) señala que un 43% de los casos en Costa Rica podrían atribuirse a transfusiones sanguíneas, especialmente a aquellas realizadas antes de la implementación de los tamizajes serológicos a donantes (Barboza Porras, 2015). Sin embargo, al revisar la referencia en la que se apoya (Busch et al., 2005), se observa que dicho estudio no incluye información específica del país ni reporta dicho porcentaje. Tampoco fue posible encontrar esta cifra en otras fuentes disponibles, por lo que probablemente se trate de un dato interno no publicado, cuya validez carece de respaldo científico y debería corroborarse mediante estudios adicionales antes de utilizarse como referencia epidemiológica.

Algunos estudios han intentado aportar información sobre la situación del VHC en el país. En 2013, por ejemplo, se reportó una seroprevalencia del 4% en una población de 100 personas indigentes de San José (Leiva-Hidalgo et al., 2013). No obstante, debido al diseño metodológico del estudio y a las características específicas de esta población, los resultados obtenidos no pueden extrapolarse a toda la población costarricense, ya que es probable que este grupo estuviera expuesto a un mayor número de factores de riesgo, lo que explicaría la seroprevalencia elevada observada

Otro estudio efectuado entre 1993 y 1994 reportó una seroprevalencia de 0,24% en donantes de sangre mediante un inmunoensayo ELISA de segunda generación (Carboni et al., 1995). Sin embargo, estos resultados no fueron verificados mediante pruebas confirmatorias, por lo que no es posible asegurar que los casos reportados como positivos correspondieran a verdaderas infecciones por VHC, especialmente considerando que los donantes constituyen una población presuntivamente sana, seleccionada mediante entrevistas y criterios clínico-epidemiológicos destinados a excluir a personas con conductas de riesgo, en la que la probabilidad de infección es baja.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se considera que una población tiene seroprevalencia baja para una infección cuando esta es menor al 2%; por lo tanto, los hallazgos descritos en donantes costarricenses corresponden a un escenario de baja prevalencia (World Health Organization, 2025).

Aunque estas investigaciones brindan una idea general, no permiten estimar con precisión cuántas personas están realmente infectadas por VHC en el país. Ante la ausencia de datos representativos, se recurre al uso de datos de poblaciones específicas como las mencionadas anteriormente, pero estas no reflejan la prevalencia real en la población general. A pesar de que la prevalencia del VHC en Costa Rica parece ser baja, su impacto en salud pública sigue siendo relevante por la alta proporción de personas no diagnosticadas y las complicaciones asociadas a la infección crónica. Por eso es esencial la identificación oportuna de casos mediante herramientas diagnósticas confiables y adaptadas a la necesidad epidemiológico del país.

Mecanismos de transmisión del VHC

El ser humano es el único reservorio natural conocido para el VHC, la principal fuente de transmisión es la sangre de las personas infectadas (Velez-Moller, 2017) En consecuencia, la vía parenteral es el principal mecanismo de contagio, ya sea por exposición directa a sangre o a hemocomponentes (Laurido, 2018)

Entre las vías de exposición más relevantes se encuentran:

- **Transfusiones sanguíneas:** históricamente fue la principal vía de transmisión, especialmente en receptores que recibieron hemocomponentes de personas infectadas antes de que se implementara el tamizaje serológico en donantes. En la actualidad ocurre en países con alta prevalencia y sistemas de salud con recursos limitados (Sanchez Orozco et al., 2016)
- **Uso de drogas intravenosas:** es uno de los principales factores de riesgo en la actualidad, sobre todo por el uso compartido de agujas (Barboza, 2015). En países como Estados Unidos, el uso compartido de jeringas entre personas jóvenes que inician su consumo de drogas inyectables, ha cambiado el perfil epidemiológico de la infección (CDC, 2025).
- **Uso de drogas inhaladas:** aunque con menor riesgo que las intravenosas, también se ha descrito como posible vía de transmisión (Laurido, 2018).
- **Procedimientos invasivos:** cirugías, hemodiálisis o atención médica y/o dental con materiales punzocortantes mal esterilizados (Laurido, 2018; Orozco et al., 2016).
- **Trasplante de órganos:** provenientes de donantes con infección activa por VHC. Se han documentado casos en receptores de hígado, riñón y médula ósea (Barboza Porras, 2015)
- **Exposición ocupacional:** personal de salud que sufre accidentes con instrumentos contaminados (Barboza Porras, 2015)
- **Tatuajes, perforaciones o acupuntura:** en entornos sin control sanitario adecuado, especialmente si se utilizan instrumentos no esterilizados. También se ha descrito la transmisión por el uso compartido de objetos personales contaminados con sangre (Barboza Porras, 2015; CDC, 2025)
- **Brotos nosocomiales:** a pesar de los avances en bioseguridad, la OMS ha documentado brotes en centros de salud donde persisten prácticas inseguras, como el uso compartido de viales, agujas o dispositivos entre pacientes. Esto evidencia que la transmisión en entornos sanitarios continúa siendo un desafío en regiones con sistemas de salud vulnerables (World Health Organization, 2025).

La transmisión sexual del VHC es poco común, representa entre un 3% y un 5% del total de casos. Sin embargo, las relaciones sexuales entre hombres, particularmente cuando hay coinfección con VIH o prácticas sexuales traumáticas con daño en las mucosas, representan una vía creciente de transmisión (CDC, 2025; Laurido, 2018)

La transmisión perinatal es muy poco probable (Laurido, 2018). La tasa de ocurrencia se estima entre un 3% a 6%, y el riesgo aumenta cuando la madre presenta una carga viral elevada (CDC, 2025; Panagiotakopoulos, 2023). Hasta ahora no se ha demostrado que la lactancia materna sea una vía de transmisión (World Health Organization, 2025)

Poblaciones vulnerables y grupos de riesgo

Aunque los mecanismos de transmisión del VHC están bien definidos, el riesgo de infección no es uniforme en toda la población. Algunas personas tienen mayor probabilidad de infectarse debido a factores sociales, prácticas de riesgo o antecedentes médicos (World Health Organization, 2025). Entre ellas se encuentran los usuarios de drogas endovenosas, los hombres que tienen sexo con hombres y quienes han recibido transfusiones o procedimientos invasivos en circunstancias con control sanitario deficiente. También se considera en riesgo a los hijos de madres con infección activa al momento del parto (World Health Organization, 2025).

Además, ciertas condiciones favorecen la propagación comunitaria del VHC, como el entorno carcelario, el uso compartido de artículos personales contaminados y la coinfección con VIH, que eleva la susceptibilidad y la carga viral, facilitando la transmisión (Méndez-Sánchez et al., 2024).

La OMS incluye entre los grupos de riesgo a personas migrantes provenientes de regiones con alta endemicidad, trabajadores sexuales y personal de salud con exposición ocupacional (World Health Organization, 2025). Es importante identificar estos grupos para comprender los patrones actuales de transmisión y diseñar estrategias diagnósticas diferenciadas. En el abordaje diagnóstico estas poblaciones deben ser priorizadas, debido a presentan una mayor probabilidad de infección.

Asimismo, la OMS recomienda el tamizaje de donantes de sangre en regiones donde la seroprevalencia de anticuerpos anti-VHC en la población general es mayor de 2%, con el fin de reducir el riesgo de transmisión a través de hemocomponentes (World Health Organization, 2025). Sin embargo, los donantes de sangre voluntarios representan una población

considerada sana, seleccionada bajo criterios que disminuyen el riesgo aparente de infección y filtrada mediante cuestionarios clínico-epidemiológicos y pruebas serológicas. Esto hace que su probabilidad *pre-test* de infección por VHC sea muy baja, lo que disminuye el valor predictivo positivo (VPP) del inmunoensayo en esa población y aumenta la probabilidad de obtener resultados falsamente positivos.

Fisiopatología y manifestaciones clínicas de la infección por VHC

Fisiopatología e inmunología de la infección por VHC

El VHC no destruye directamente a los hepatocitos, sino que es la respuesta del sistema inmune del huésped, especialmente la mediada por linfocitos T, la que provoca inflamación crónica y daño progresivo en el hígado (Laurido, 2018). Sin embargo, el virus puede inducir cambios metabólicos como acumulación de grasa en el hígado, la resistencia a la insulina y el aumento del estrés oxidativo. La combinación de los factores inmunológicos y metabólicos favorece el desarrollo de fibrosis hepática (Laurido, 2018).

En fases tempranas de la infección, el sistema inmune innato reconoce al virus a través de receptores de reconocimiento de patrones moleculares, como los receptores tipo Toll (TLR) y RIG-I, en los hepatocitos. La activación de estos receptores desencadena una cascada de señales intracelulares que inducen la producción de interferones tipo I y III, así como otras proteínas con actividad antiviral (Di Stasio et al., 2024; Laurido, 2018). Estas citoquinas generan un estado antiviral en las células hepáticas y estimulan la activación de células NK y macrófagos, reforzando la respuesta antiviral temprana (Di Stasio et al., 2024). Además, las células NK contribuyen a contener la infección mediante la destrucción de hepatocitos infectados y la liberación de interferón gamma (IFN- γ), lo que potencia el entorno antiviral y facilita la activación de la respuesta adaptativa (Njiomegnie et al., 2020). Esta respuesta innata ayuda a contener la infección y al mismo tiempo activa mecanismos que darán paso a la inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa frente al VHC involucra la producción de anticuerpos específicos contra proteínas estructurales y no estructurales del virus por parte de los linfocitos B,

aunque solo una pequeña fracción de estos tiene capacidad neutralizante (Laurido, 2018). Al mismo tiempo, los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ reconocen antígenos virales; los $CD8^+$ eliminan hepatocitos infectados mediante citotoxicidad mediada por la producción de $IFN-\gamma$, mientras que los $CD4^+$ coordinan y sostienen esta respuesta (Laurido, 2018).

La calidad de la respuesta de los linfocitos T es determinante en el control de la infección. Durante la fase aguda, la viremia suele mantenerse elevada entre 8 y 12 semanas, hasta que aparecen respuestas específicas mediadas por linfocitos $CD4^+$ y $CD8^+$, lo que coincide con una disminución en la viremia (Hartlage & Kapoor, 2021). Cuando esta respuesta no logra eliminar el virus, los linfocitos T, especialmente los $CD4^+$, entran en un estado de agotamiento funcional, que reduce progresivamente su capacidad de controlar la infección y favorece la progresión hacia la cronicidad (Hartlage & Kapoor, 2021). Aunque los $CD8^+$ son los principales efectores antivirales, dependen de la colaboración de los $CD4^+$ para sostener su actividad. Tras una infección resuelta, se producen linfocitos T de memoria que permanecen por años y permiten un control más rápido en reinfecciones (Hartlage & Kapoor, 2021).

El virus, sin embargo, cuenta con mecanismos para interferir con estas respuestas. Los $CD8^+$ pueden volverse irrelevantes debido a mutaciones de escape en los epítomos que reconocen, o caer en un estado de agotamiento caracterizado por pérdida progresiva de funciones efectoras, ausencia de memoria y sobreexpresión de receptores inhibitorios como PD-1. La pérdida temprana de los linfocitos $CD4^+$ específicos contra el virus es uno de los predictores de cronicidad, porque sin ellos los $CD8^+$ no logran sostener la actividad antiviral. En cambio, cuando los $CD4^+$ se mantienen funcionales y los $CD8^+$ evitan el agotamiento, el virus es eliminado espontáneamente (Hartlage & Kapoor, 2021).

En cuanto a los anticuerpos neutralizantes, su aparición temprana en la fase aguda se asocia con eliminación espontánea, mientras que su desarrollo tardío puede retrasar la resolución de la infección. En reinfecciones, la memoria de estos anticuerpos permite un control más eficiente de la viremia. Sin embargo, la alta capacidad de mutación del VHC y su capacidad de circular asociado a lipoproteínas complica el reconocimiento por parte de estos anticuerpos.

Además, la transmisión directa del virus de célula a célula evade los anticuerpos circulantes (Hartlage & Kapoor, 2021).

Por otra parte, proteínas virales como NS3 y NS4B interfieren con la producción de interferones tipo I, mientras que NS4A inhibe enzimas celulares con función antiviral, como OAS y PKR, lo que reduce la capacidad de la célula para eliminar el virus (Laurido, 2018). Adicionalmente, la proteína E2 interfiere con la señalización intracelular del receptor de linfocitos T (TCR) y, junto con la expresión sostenida del receptor inhibitorio PD-1 y la expansión de linfocitos T reguladores (Treg), contribuye al agotamiento funcional de la respuesta T (Laurido, 2018).

Cuando el virus no es eliminado, la inflamación hepática se vuelve crónica, provocando daño progresivo en el tejido (Laurido, 2018). Además, la activación de las células estrelladas hepáticas conlleva la producción de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular, contribuyendo al desarrollo de fibrosis. Con el tiempo, este ambiente inflamatorio constante junto con el estrés oxidativo acelera el desarrollo de cirrosis, dañando la estructura y la función del hígado (Di Stasio et al., 2024).

Adicionalmente, el VHC altera la expresión de genes relacionados con el metabolismo hepático, favoreciendo la acumulación de lípidos en los hepatocitos, el desarrollo de resistencia a la insulina y el aumento del estrés oxidativo. Estos cambios potencian el daño hepático y la progresión de la enfermedad hacia fibrosis en pacientes con infección crónica (Méndez-Sánchez et al., 2024; Vélez-Moller, 2017). Además, estos cambios se han vinculado con manifestaciones extrahepáticas, como enfermedad cardiovascular y renal (Méndez-Sánchez et al., 2024).

Determinantes de la evolución hacia resolución o cronicidad

Se estima que aproximadamente el 20% de los casos se resuelven espontáneamente gracias a una respuesta inmunológica efectiva. Sin embargo, en el 80% restante el sistema inmune no logra la eliminación del virus, lo que lleva a una infección crónica persistente (Laurido, 2018).

Existen varios factores que influyen en si la infección se resuelve o progresa a cronicidad. Entre los que favorecen la resolución espontánea se encuentran: el sexo femenino, la edad menor de 35 años, la presencia de síntomas con aumento de transaminasas, la presencia del polimorfismo C/C en el gen de la interleuquina-28B (IL28B) y ciertos alelos HLA de clase II que facilitan la presentación antigénica (Laurido, 2018; C.-H. Liu & Kao, 2023).

Por otro lado, la coinfección con el VIH o con virus de la Hepatitis B (VHB), el estado de inmunosupresión, el origen étnico africano, el genotipo viral del VHC, la carga máxima de ARN alcanzada y la diversidad de cuasiespecies se asocian con un mayor riesgo de progresión a cronicidad (C.-H. Liu & Kao, 2023; Velez-Moller, 2017). Por ejemplo, los genotipos virales 1a y 3 se asocian con mayor riesgo de progresión a cirrosis y hepatocarcinoma (Velez-Moller, 2017). Adicionalmente, la calidad de la respuesta inmune adaptativa del huésped es determinante. La persistencia de linfocitos T CD4⁺ que mantengan la actividad de los CD8⁺ permite que la respuesta antiviral sea adecuada. Se ha descrito que respuestas tempranas y fuertes de linfocitos CD8⁺, en ausencia de anticuerpos neutralizantes, ejercen una presión selectiva sobre el virus, lo cual favorece el escape viral y el establecimiento de cronicidad. Por el contrario, la coexistencia de linfocitos T funcionales y anticuerpos neutralizantes desde etapas tempranas de la infección se asocia con resolución de la infección (Walker et al., 2025).

Manifestaciones clínicas agudas y crónicas

La hepatitis C aguda se define por la presencia de cualquier síntoma de hepatitis viral aguda más ictericia o elevación sérica de la enzima alanina aminotransferasa (ALT), junto con la detección serológica de anticuerpos anti-VHC, ARN del VHC o la detección del antígeno viral en los primeros seis meses posteriores a la infección. Sin embargo, los niveles de ALT pueden fluctuar y la seroconversión de los anticuerpos anti-VHC puede retrasarse durante la infección aguda por VHC (Woo & Choi, 2024)

Aproximadamente un 80% de las personas con infección aguda por VHC son asintomáticas. En pacientes sintomáticos, el periodo de incubación entre la exposición e inicio de síntomas va desde las 2 a 12 semanas (C.-H. Liu & Kao, 2023). Cuando se presentan síntomas, pueden ser inespecíficos, por lo que la infección pasa desapercibida y es difícil de diagnosticar (Velez-

Moller, 2017). Por eso, en la mayoría de los casos el diagnóstico se realiza de manera casual en el laboratorio y no a partir de la sospecha clínica, lo que subraya la importancia de contar con pruebas diagnósticas sensibles para detectar la infección a tiempo (Laurido, 2018; Vélez-Moller, 2017; WHO, 2022). En los pacientes que desarrollan síntomas, estos suelen aparecer entre 6 y 8 semanas después del inicio de la infección y pueden durar hasta 12 semanas. Los más frecuentes incluyen malestar general, astenia, adinamia, hiporexia, febrícula y con menor frecuencia ictericia (Laurido, 2018). Esta última se presenta principalmente en personas con elevaciones marcadas de las transaminasas, lo cual ocurre típicamente entre 10 y 12 semanas (Laurido, 2018).

La hepatitis C se considera crónica cuando el virus persiste en el huésped por más de 6 meses (Velez-Moller, 2017). Su evolución es lenta y silenciosa y la mayoría de los pacientes permanecen asintomáticos o presentan síntomas leves e inespecíficos por años, hasta que se desarrolla fibrosis hepática o cirrosis (Laurido, 2018). Los síntomas más frecuentes son fatiga, debilidad general, mialgias, artralgias y pérdida de peso (Laurido, 2018). La constante inflamación hepática, con viremias persistentes, provoca daño progresivo en el parénquima hepático, lo que lleva al desarrollo de fibrosis y eventualmente cirrosis. Esta evolución incrementa el riesgo de carcinoma hepatocelular, que puede darse aún en ausencia de cirrosis previa (Laurido, 2018).

Además de la afectación hepática, el VHC puede comprometer otros órganos y tejidos. Se estima que entre un 30% y un 40% de los pacientes presentan manifestaciones extrahepáticas. Entre las más frecuentes se encuentran la crioglobulinemia mixta, la porfiria cutánea tarda y la glomerulonefritis membranoproliferativa (Laurido, 2018). También se ha descrito su asociación con enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjögren y la tiroiditis autoinmune (Laurido, 2018). Otras manifestaciones extrahepáticas incluyen alteraciones neuropsiquiátricas, trastornos linfoproliferativos, manifestaciones dermatológicas y nefrológicas (Méndez-Sánchez et al., 2024). Estas manifestaciones reflejan que la infección por VHC tiene un efecto sistémico que afecta también otros sistemas del organismo.

Diagnóstico de laboratorio del VHC

El diagnóstico del VHC requiere pruebas que permitan detectar tanto la exposición previa al virus como la infección activa. La estrategia recomendada por la OMS consiste en una prueba inicial para la detección de anticuerpos anti-VHC, seguida de una prueba confirmatoria que identifique la replicación activa del virus, como la detección de ARN viral o del antígeno *core* (World Health Organization, 2022)

Algunas de las indicaciones más frecuentes de este tipo de pruebas son el tamizaje serológico de los donantes de órganos y tejidos así como el control prenatal, dado que frecuentemente ambas indicaciones corresponden a un requisito de seguridad y no a una indicación realizada en un escenario de sospecha clínica, normalmente se consideran poblaciones de baja prevalencia, en dado caso los resultados positivos obtenidos en los inmunoensayos empleados como tamizaje pueden tener un VPP reducido. Por esta razón, la confirmación con una prueba que detecte directamente al virus, como el ARN o el antígeno *core*, mejora el VPP de la estrategia serológica y reduce el número de falsos positivos (World Health Organization, 2019). Una situación similar ocurre en otras infecciones virales, como el SARS-CoV-2, donde en contextos de baja prevalencia, aun en ensayos con buena sensibilidad y especificidad se generó una cantidad considerable de falsos positivos. Esto demuestra que el VPP no depende solamente de las características técnicas de la prueba, sino también de la población en la que se utiliza. Por eso, es clave complementar el tamizaje con pruebas confirmatorias específicas para lograr diagnósticos más confiables (Santini et al., 2020).

Diagnóstico en Costa Rica

En Costa Rica, la CCSS emplea como prueba de tamizaje inicial la prueba Architect anti-HCV (Abbott), un inmunoensayo de quimioluminiscencia para la detección de anticuerpos totales contra el VHC. En adelante, en este estudio se hará referencia a esta prueba simplemente como “Architect anti-HCV”. Los casos con resultado reactivo son confirmados mediante el HCV-IB 3.0 (MP Diagnostics), de acuerdo con el abordaje institucional vigente.

Aunque en el país existe disponibilidad para realizar detección de ARN y de antígeno *core* de VHC, estas determinaciones no forman parte del algoritmo confirmatorio. Debido a esto, el presente estudio se enfoca en evaluar la exactitud diagnóstica del inmunoensayo Architect anti-HCV en las condiciones reales de uso, usando como referencia el resultado del HCV-IB, que es la herramienta confirmatoria establecida en la CCSS.

Cinética de marcadores diagnósticos en la infección aguda por VHC

En la infección aguda, el ARN viral es el primer marcador detectable en sangre, usualmente entre la primera y segunda semana después de la exposición, mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) (Woo & Choi, 2024). Su concentración aumenta de forma acelerada al inicio de la infección y alcanza un pico entre la semana 6 y la semana 10 posterior a la infección. En los casos que se resuelven de forma espontánea, el ARN desaparece a los 6 meses (Sanchez Orozco et al., 2016; Zilouchian et al., 2025). Sin embargo, en algunos casos la positividad del ARN puede ser intermitente, por lo que un resultado negativo debe confirmarse con una nueva muestra tras un intervalo aproximado de seis meses, especialmente en pacientes con factores de riesgo que favorecen la progresión a cronicidad (Pondé, 2025).

Por otro lado, el antígeno *core* (HCV cAg) se libera en sangre periférica durante el ensamblaje viral y puede identificarse poco después del ARN, aproximadamente entre los días 12 y 15 posteriores a la infección. Es un marcador sensible y específico de infección activa (Woo & Choi, 2024). Como se mencionó anteriormente, a pesar de que en la CCSS esta prueba está disponible como herramienta complementaria, no forma parte de la estrategia serológica diagnóstica institucional y no fue contemplada en este trabajo.

Los anticuerpos anti-VHC generalmente se detectan entre la séptima y novena semana después de la exposición, aunque el rango puede variar entre 3 a 22 semanas (Woo & Choi, 2024). En pacientes inmunocomprometidos la seroconversión puede tardar hasta 12 meses o incluso no ocurrir (C.-H. Liu & Kao, 2023; Pondé, 2025). Esto implica que, si la prueba se realiza durante la ventana diagnóstica antes de la seroconversión de los anticuerpos anti-VHC, o en casos donde no se desarrolla la respuesta serológica típica, el resultado puede ser negativo

a pesar de la presencia de infección. Esto puede hacer que no se detecten algunos casos en fase aguda y que el control clínico de la infección se vea limitado (Pondé, 2025).

En cuanto a la secuencia de aparición de los anticuerpos, primero aparecen los anticuerpos contra la proteína del core (epítipo c22c), seguidos de los dirigidos a la región NS3 (epítipo c33c), posteriormente los anti-NS5 y en último lugar, los anti-C100-3 en infecciones autolimitadas. La respuesta de anticuerpos frente a los antígenos del VHC puede ser variable, influida por el genotipo infectante y variar según el desenlace de la infección (Pondé, 2025). Después de una infección resuelta, los anticuerpos tienden a permanecer detectables de manera indefinida, aunque en ciertas circunstancias clínicas pueden disminuir hasta ser indetectables o incluso desaparecer de la circulación (Pondé, 2025). Este orden de aparición y persistencia tiene relevancia práctica, ya que el HCV-IB se interpreta en función de los patrones de reactividad de estos epítipos, lo que permite diferenciar verdaderas infecciones de reactividades inespecíficas.

Aunque en la fase aguda los pacientes producen anticuerpos IgM frente al VHC, su detección no se utiliza en los análisis de laboratorio de rutina. Los inmunoensayos comercialmente disponibles detectan anticuerpos totales (IgG + IgM). Además, los anticuerpos IgM pueden encontrarse tanto en infección aguda como en crónica, lo que limita su utilidad como marcador diferencial. Esto ocurre porque el virus tiende a persistir y volverse crónico en la mayoría de los casos, de modo que los anticuerpos IgM pueden seguir detectables de forma sostenida durante la replicación viral activa (Pondé, 2025).

Por último, otra herramienta clínica de apoyo para valorar la actividad de la enfermedad es la alanina aminotransferasa (ALT), un marcador de daño hepático que se eleva a partir de la cuarta semana posterior a la exposición. Tanto la ALT como la carga viral pueden presentar oscilaciones durante la fase aguda (C.-H. Liu & Kao, 2023)

Evolución de los inmunoensayos para la detección de VHC

Los primeros inmunoensayos para VHC aparecieron en 1989 y solo incluían un epítipo recombinante (c100-3 de la región NS4). Tenían una ventana diagnóstica muy amplia de 4 a

6 meses. Además, su baja sensibilidad y especificidad limitaba mucho su uso como herramienta diagnóstica (Warkad et al., 2019; Zilouchian et al., 2025).

En 1992 surgieron los inmunoensayos de segunda generación, que incluyeron más antígenos virales: epítipo c22-3 de la región *core*, epítipo c33c de la región NS3 y los epítopos C200 y HC-31 de la región NS4. Esto permitió una mejor sensibilidad y disminución en la ventana diagnóstica a un rango de 10 a 24 semanas (Warkad et al., 2019; Zilouchian et al., 2025).

En 1996 se desarrollaron los inmunoensayos de tercera generación, que utilizaban una tecnología de antígenos múltiples mucho más robusta. Se incluyó al epítipo 5-1-1p de la región NS4 y epítopos de la región NS5. Con esto se redujo la ventana diagnóstica a 7-8 semanas (Warkad et al., 2019; Zilouchian et al., 2025).

Luego se desarrollaron las pruebas de cuarta generación, conocidas como “pruebas combinadas antígeno–anticuerpo”, que permiten detectar en el mismo ensayo tanto anticuerpos como antígenos del VHC. Con esto se acortó la ventana diagnóstica a 26 días y aumentó su sensibilidad (Warkad et al., 2019; Zilouchian et al., 2025).

Además de la inclusión de antígenos, también evolucionaron las plataformas de detección. Se pasó de métodos colorimétricos tradicionales a plataformas de quimioluminiscencia. En estas, los antígenos virales se encuentran fijados a micropartículas magnéticas y, si en la muestra hay anticuerpos contra el virus, se unen a ellas. Posteriormente, los anticuerpos se detectan mediante un anticuerpo marcado con una molécula quimioluminiscente y luego de la reacción enzimática, se produce luz que el analizador cuantifica. Esta tecnología mantiene la sensibilidad y especificidad de los inmunoensayos de tercera o cuarta generación, con la posibilidad de automatizar el proceso, hacerlo más preciso y con tiempos de respuesta menores (Warkad et al., 2019).

A pesar de que cada avance representó una mejora en sensibilidad, especificidad y ventana diagnóstica, el rendimiento real de estos ensayos depende de las condiciones en que se aplican.

Prueba presuntiva: inmunoensayo Architect anti-HCV

Las pruebas de tamizaje se utilizan principalmente en personas sanas o asintomáticas, para identificar a los que podrían estar infectados. Ante un resultado inicialmente reactivo, se requiere la realización de estudios adicionales más específicos (Santini et al., 2021). Las pruebas con uso previsto de tamizaje deben tener una alta sensibilidad que permita detectar la mayoría de los casos positivos, deben ser simples, de bajo costo y fáciles de implementar (Evans et al., 2005).

El Architect anti-HCV (Abbott Diagnostics) es la prueba de tamizaje utilizada en la CCSS para la detección inicial de infección por VHC. Este es un inmunoensayo automatizado de quimioluminiscencia que detecta la presencia de anticuerpos totales dirigidos contra proteínas estructurales y no estructurales del virus en el suero de los pacientes. El fabricante utiliza dos antígenos recombinantes: el primero es la proteína HCr-43 compuesta por dos regiones codificantes no contiguas del genoma del virus, correspondiente a NS3 y *core*. El segundo es la proteína c100-3, que representa una región del genoma viral correspondiente a las proteínas no estructurales NS3 y NS4, y que abarca los aminoácidos 1569 a 1931 de la poliproteína del VHC (Abbott Diagnostics, 2021).

El procedimiento consiste en mezclar la muestra del paciente con micropartículas paramagnéticas recubiertas con estos antígenos recombinantes. Si la muestra contiene anticuerpos anti-VHC, estos se unirán a las micropartículas recubiertas. Luego se añade un conjugado anti IgG/IgM marcado con acridina que, al reaccionar con las soluciones de preactivación y activación, genera una reacción quimioluminiscente que se mide como unidades relativas de luz (URL) (Abbott Diagnostics, 2021). La empresa Abbott reporta mejoras técnicas en el diseño de este inmunoensayo en la patente ES2820877T3, como el uso de antígenos optimizados y estrategias para disminuir interferencias inmunológicas como por ejemplo los anticuerpos heterófilos y factores reumatoides (Abbott Laboratories, 2021).

El fabricante establece que la cantidad de anticuerpos anti-VHC presentes en la muestra se refleja directamente en la intensidad de la señal de luz generada. El sistema expresa este

resultado como un índice señal/punto de corte (S/CO), calculado al dividir el valor de URL de la muestra entre el punto de corte, definido por la medición del calibrador 1 durante la calibración del reactivo (Abbott Diagnostics, 2021). Este índice S/CO no representa una medida cuantitativa de la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra, sino una relación relativa definida por el fabricante. Es decir, el valor del S/CO no equivale a un título de anticuerpos ni permite establecer de forma directa en qué fase de la infección se encuentra el paciente, sino únicamente si la muestra se clasifica como reactiva o no, de acuerdo con el punto de corte definido en la calibración (Abbott Diagnostics, 2021).

Según las especificaciones un valor S/CO mayor o igual a 1,00 se reporta “reactiva para anti-VHC”, lo que significa que la señal quimioluminiscente generada por la muestra es igual o superior a la señal de corte establecida. Por el contrario, una relación menor a 1,00 se considera “no reactiva”. Toda muestra reactiva debe ser reanalizada por duplicado y si se confirma la reactividad, se requiere pruebas confirmatorias mediante inmunoensayos más específicos como inmunoblot o NAT (Abbott Diagnostics, 2021).

Aunque el fabricante establece este umbral, diversos estudios han mostrado que los resultados cercanos al punto de corte ($S/CO \geq 1,0$) concentran la mayoría de las reactividades inespecíficas, mientras que los valores altos se asocian con una probabilidad muy elevada de verdadera infección (Moretti et al., 2012; Zhang et al., 2015; Kirişci & Çalışkan, 2019; Sookoian & Castaño, 2002). En conjunto, estos hallazgos respaldan la necesidad de verificar localmente el punto de corte, de modo que los valores de S/CO reflejen mejor la realidad epidemiológica y poblacional del laboratorio.

Según los datos del fabricante, el inmunoensayo Architect anti-HCV alcanza una sensibilidad del 100% (Intervalo de confianza al 95% IC95%: 99,18–100) en 449 muestras confirmadas positivas, que incluyeron los genotipos virales 1 a 6. En cuanto a la especificidad, Abbott Diagnostics informa un desempeño del 100% (IC95%: 99,93–100) en donantes de sangre y de 99,4% (IC95%: 97,95–99,91) en pacientes hospitalizados (Abbott Diagnostics, 2021). Estos valores reflejan un rendimiento prácticamente perfecto en condiciones de validación

controlada. Sin embargo, en la práctica clínica pueden observarse variaciones, especialmente en poblaciones de baja prevalencia, donde la proporción de falsos positivos tiende a aumentar, pues como se comentó anteriormente los análisis se suelen indicar en escenarios donde existe una baja probabilidad *pre-test* en individuos asintomáticos y sin un riesgo razonable de haber adquirido una infección por VHC.

Prueba confirmatoria: HCV Inmunoblot

Las pruebas confirmatorias se realizan después de obtener un resultado reactivo en el tamizaje, con el fin de confirmar o descartar la infección. Para este propósito deben tener una alta especificidad, es decir, una baja tasa de falsos positivos. Esto es fundamental para evitar clasificar erróneamente como enfermas a personas sanas (Santini & Eaton, 2022).

En Costa Rica, la confirmación diagnóstica de la infección por VHC se realiza mediante el ensayo HCV Blot 3.0 (MP Diagnostics), una prueba cualitativa que detecta anticuerpos IgG contra distintos antígenos virales recombinantes, incluidos el antígeno de la cápside y las proteínas no estructurales NS3, NS4 y NS5. Estos antígenos son inmovilizado en tiras de nitrocelulosa (MP Diagnostics, 2016).

Los antígenos se expresan como proteínas de fusión con GST (glutación-S-transferasa), lo que permite su producción, purificación y estabilidad. Cada uno de estos antígenos fusionados (antígeno del VHC con GST) se deposita por separado en posiciones específicas a lo largo de la tira, lo que permite evaluar la reactividad del suero del paciente de forma individual frente a cada proteína viral. Además, se incluye una banda que contiene solo GST, que funciona como control de reactividad inespecífica del paciente hacia la porción no viral (MP Diagnostics, 2016). Cada tira también incorpora dos controles internos de IgG humana: una banda de alta intensidad (3+) y otra banda de baja intensidad (1+), que sirven como referencia visual para interpretar la intensidad de las bandas reactivas.

El procedimiento consiste en incubar el suero diluido del paciente sobre la tira de nitrocelulosa. Si la muestra tiene anticuerpos específicos contra alguno de los antígenos

virales, estos se unirán a los antígenos correspondientes. Luego se realizan lavados para eliminar los componentes no unidos y se añade una IgG anti-humana conjugada con fosfatasa alcalina, que se unirá a los anticuerpos adheridos. Posteriormente, se incorpora un sustrato enzimático que reacciona con la fosfatasa alcalina, generando una señal visual en forma de bandas reactivas correspondientes a las proteínas virales reconocidas por los anticuerpos del paciente. Estas bandas pueden observarse directamente sobre la tira, como se ilustra en la Figura 1, y representa los antígenos virales reconocidos por los anticuerpos presentes en la muestra (MP Diagnostics, 2016).

La interpretación del resultado se basa en la intensidad de las bandas observadas en la tira, que se compara con bandas de control interno (alta y baja intensidad de IgG humana) incluidas en cada tira (MP Diagnostics, 2016). Según el patrón de reactividad observado, los resultados se clasifican como:

- Negativo: no se observa ninguna banda viral o la reactividad es menor a 1+, sin cumplir criterios de positividad.
- Indeterminado: reactividad de 1+ o mayor en una sola banda viral, o reactividad simultánea en GST y en un algún antígeno viral, sin cumplir con los criterios de un resultado positivo. Esta reactividad puede corresponder a una reacción inespecífica, a una infección pasada ya resuelta o a una seroconversión temprana (MP Diagnostics, 2016).
- Positivo: reactividad de 1+ o mayor en al menos 2 antígenos virales, o reactividad de 2+ o más en la banda correspondiente al núcleo (*core*).

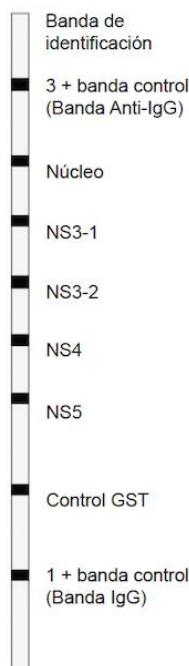


Figura 1. Representación esquemática de la tira de HCV-IB 3.0 con disposición de bandas virales y controles internos. Fuente: MP Diagnostics, 2016.

Estudios indican que no todos los antígenos del VHC provocan la misma respuesta de anticuerpos en las distintas etapas de la infección. La proteína *core*, como forma parte estructural de la cápside viral, genera una respuesta temprana y persistente que indica exposición al virus, pero por sí sola no permite diferenciar entre infección resuelta o activa. En cambio, la proteína NS3, que es muy inmunogénica y está directamente relacionada a la replicación viral, se asocia más estrechamente con infección activa. Rafik et al. (2016) demostraron que la detección simultánea de anticuerpos contra *core* y NS3 en el inmunoblot es clásico de la infección crónica, mientras que los perfiles limitados a una sola banda débil o con ausencia de NS3 suelen corresponder a reactividades inespecíficas o a infecciones pasadas con respuesta de anticuerpos en disminución.

Gracias a que el HCV-IB detecta múltiples antígenos virales, permite identificar tanto infecciones activas como etapas más tempranas o incluso procesos ya resueltos, donde puede quedar cierta reactividad. Sin embargo, el inserto señala que un resultado negativo no descarta exposición previa y que un resultado indeterminado no debe interpretarse como definitivo

(MP Diagnostics, 2016). En estos casos, se recomienda repetir la prueba entre 2 y 6 meses después o realizar una prueba molecular para confirmar si existe infección activa.

Según el fabricante, el ensayo HCV Blot 3.0 (MP Diagnostics) tiene una sensibilidad mayor al 99,9%, evaluada en 330 muestras inicialmente reactivas por ELISA, de las cuales 329 fueron confirmadas positivas por inmunoblot. Con respecto a la especificidad, se reporta un desempeño alto al analizar 200 donantes sanos (193 con resultado negativo y 7 indeterminados), así como 280 muestras clínicas con otras condiciones infecciosas (virales y bacterianas) y con posibles interferencias (muestras prenatales, lipémicas, ictericas y hemolizadas), sin evidenciar falsos positivos (MP Diagnostics, 2016). Esto refleja un rendimiento muy bueno en condiciones controladas, pero en la práctica clínica pueden aparecer resultados indeterminados que necesitan seguimiento.

Limitaciones del inmunoensayo de tamizaje (Architect anti-HCV)

Aunque este inmunoensayo es útil como prueba de tamizaje, su aplicación en personas asintomáticas en escenarios de baja probabilidad *pre-test* incrementa la probabilidad de obtener resultados falsamente positivos, particularmente cuando se aplican en poblaciones con baja prevalencia de infección (menos del 10%), como donantes de sangre o personas sin factores de riesgo asociados (Moretti et al., 2012). En cambio, en poblaciones con mayor prevalencia, como por ejemplo pacientes con coinfección por VIH o enfermedad hepática crónica, el VPP tiende a ser más alto, lo que mejora el rendimiento clínico del ensayo en esos contextos (CDC, 2003). Por esta razón, los resultados reactivos deben considerarse presuntivos y confirmarse con pruebas más específicas, como el inmunoblot recombinante (RIBA) o la detección directa del ARN viral mediante RT-PCR, que permiten diferenciar con mayor certeza entre infección real y reactividad inespecífica (Moretti et al., 2012).

También se ha descrito que muchos de los falsos positivos se concentran en muestras con valores bajos de índice S/CO, cercanos al punto de corte establecido por el fabricante. Aunque este índice no representa directamente un valor cuantitativo de anticuerpos, sí refleja la intensidad relativa de la señal obtenida en el ensayo. Cuando ese valor numérico se reduce a

una sencilla clasificación dicotómica (reactivo/no reactivo), se pierde información valiosa sobre el grado de reactividad de la muestra, no es lo mismo un resultado apenas por encima del punto de corte que uno mucho más alto, aunque ambos sean reactivos. Esta situación explica por qué los valores bajos de S/CO concentran la mayor proporción de falsos positivos (Kesli et al., 2009). Por esto, de acuerdo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011) y otros autores (Kirişci & Caliskan, 2019; Moretti et al., 2012; Zhang et al., 2015), es recomendable verificar y ajustar el punto de corte de forma local mediante herramientas como las curvas ROC, con el fin de reducir reactividades inespecíficas sin perder sensibilidad y asegurar que los resultados reflejen mejor la realidad epidemiológica de la población.

A diferencia de las determinaciones cuantitativas de química clínica, en las que la relación entre la concentración del analito y la señal es directa y lineal, en los inmunoensayos el índice S/CO depende de la interacción antígeno-anticuerpo. Esta interacción puede variar según la afinidad, avidéz y heterogeneidad de los anticuerpos de cada individuo, lo que explica que se presenten resultados falsos positivos por reactividad cruzada o por señales de fondo generadas por anticuerpos inespecíficos (Santini et al., 2020; WHO, 2022; Abbott, 2021).

A esto se suman las interferencias inmunológicas y analíticas descritas en la literatura, que afectan la especificidad del ensayo. Entre ellas se encuentran los anticuerpos heterófilos, que pueden unirse de forma inespecífica a las inmunoglobulinas de origen animal presentes en los reactivos, descritos en personas expuestas a sueros animales, productos de origen biológico o terapias con anticuerpos monoclonales (Kesli et al., 2009). También se han reportado falsos positivos asociados a factores reumatoides, enfermedades autoinmunes, coinfecciones virales (VIH, VHB, herpes simplex, virus de Epstein-Barr), así como condiciones fisiológicas o patológicas como embarazo, síndrome nefrótico o cirrosis portal (Mahajan et al., 2019). Estas interferencias suelen generar resultados ubicados justo en el umbral de reactividad, lo que refuerza la necesidad de confirmación mediante pruebas específicas y ayuda a explicar por qué el desempeño observado en condiciones controladas puede diferir del obtenido en condiciones reales.

Evaluación de la exactitud diagnóstica en el ensayo de tamizaje

Evaluar la exactitud diagnóstica de una prueba como el inmunoensayo Architect anti-HCV es esencial para entender su utilidad clínica en condiciones reales. Este tipo de análisis permite comprobar la idoneidad de la prueba para identificar correctamente a las personas con o sin infección, con base en parámetros como sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos y el comportamiento del índice señal/punto de corte (S/CO) mediante el análisis de curvas ROC y el índice de Youden. Estas herramientas son fundamentales al trabajar con pruebas diagnósticas con resultados dicotómicos, ya que permiten cuantificar su rendimiento general y reconocer posibles limitaciones (Santini et al., 2020).

Comprender estos parámetros facilita una mejor interpretación clínica de los resultados y permite adaptar el uso de la prueba según las características de la población evaluada. Esto es muy importante en poblaciones con baja prevalencia de la infección, donde el riesgo de obtener falsos positivos aumenta y el VPP de la prueba se ve reducido (Santini et al., 2021).

Para poder evaluar la exactitud diagnóstica de un ensayo, es indispensable compararlo contra un estándar de referencia que represente la mejor estimación posible del estado real de enfermedad (Santini et al., 2020). En este estudio, se utilizó el HCV-IB como prueba de referencia, ya que forma parte de la estrategia serológica diagnóstica vigente en nuestro país y permite establecer la condición de infección con un alto grado de confianza.

Parámetros clave: sensibilidad, especificidad, VPP, VPN

La sensibilidad describe la capacidad de la prueba para detectar correctamente a los individuos que sí tienen la infección; es decir, la proporción de verdaderos positivos dentro de todos los casos confirmados. Una sensibilidad alta es clave en situaciones donde el riesgo de pasar por alto un diagnóstico es más riesgoso que aceptar un número mayor de falsos positivos (Santini et al., 2020).

La especificidad refleja la capacidad de la prueba para identificar correctamente a quienes no están enfermos, o sea, la proporción de verdaderos negativos entre todos los individuos sanos.

Una prueba muy específica es útil cuando se busca confirmar la presencia real de enfermedad, evitando identificar erróneamente a individuos sanos (Santini et al., 2020).

Ambas medidas describen la capacidad de la prueba para diferenciar entre enfermos y no enfermos en condiciones controladas, y no se ven afectadas por la frecuencia real de la enfermedad en la población evaluada (Santini et al., 2021). Es decir, son propiedades intrínsecas del ensayo que describen su desempeño en circunstancias ideales.

Por otro lado, los valores predictivos sí dependen directamente de la prevalencia de la enfermedad, por lo que pueden variar significativamente según el contexto clínico. El VPP indica la probabilidad de que una persona con resultado positivo esté realmente enferma, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) refleja la probabilidad de que una persona con resultado negativo realmente esté sana (Santini et al., 2020). En poblaciones con baja prevalencia, incluso una prueba con buena sensibilidad y especificidad puede generar un número considerable de falsos positivos, lo que tiene implicaciones clínicas en la interpretación de los resultados (Santini et al., 2020).

Estos cuatro parámetros se calculan a partir de una tabla de contingencia 2x2 que compara los resultados de la prueba con el estado real de la enfermedad (presente o ausente). Son la base para analizar la exactitud diagnóstica de pruebas con resultados dicotómicos (Santini et al., 2021).

En el caso específico del inmunoensayo Architect anti-HCV, el fabricante reporta una sensibilidad del 100% y una especificidad del 99,60% (Abbott Diagnostics, 2021). Uno de los objetivos de este estudio es comprobar si estos valores se mantienen en nuestra población, considerando la seroprevalencia de la infección y la heterogeneidad clínica de la población; más allá de la validación del inmunoensayo que realiza el fabricante en el contexto de estudios clínicos con condiciones controladas, este trabajo se enfoca en evaluar si este desempeño es reproducible en condiciones reales.

Cocientes de verosimilitud

El cociente de verosimilitud positivo (LR^+) se define como la razón entre la cantidad de verdaderos positivos y falsos positivos, mientras que el cociente de verosimilitud negativo (LR^-) es la razón entre falsos negativos y verdaderos negativos. Estos índices complementan la información que brinda la sensibilidad y especificidad porque permiten valorar mejor la capacidad real de una prueba diagnóstica (Hassanzad & Hajian-Tilaki, 2024).

En este estudio únicamente se tomó en cuenta el LR^+ , por su utilidad al interpretar los resultados positivos. Este indicador expresa qué tan probable es obtener un resultado positivo en un paciente con la infección en comparación con uno sin ella. Su cálculo se realiza mediante la fórmula (Hajian-Tilaki, 2013):

$$LR^+ = \frac{\text{sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

LR^+ puede tener valores que varían desde 0 hasta valores muy altos. Lo que se busca es identificar un punto de corte que lo maximice, ya que entre más alto sea el LR^+ , mayor es la información que aporta la prueba diagnóstica (Hajian-Tilaki, 2013).

Curvas ROC e índice de Youden para el establecimiento de un punto de corte

Cuando una prueba diagnóstica reporta sus resultados de forma numérica y continua, como es el caso del índice S/CO del inmunoensayo “Architect anti-HCV”, es posible evaluar su comportamiento a lo largo de distintos valores para encontrar el punto de corte que mejor equilibra sensibilidad y especificidad. Una de las herramientas más utilizadas con este propósito es la curva ROC, que representa gráficamente la sensibilidad (eje Y) frente a 1-especificidad (eje X) para cada posible punto de corte (Xu et al., 2014).

Los fabricantes definen inicialmente el punto de corte de un inmunoensayo a partir de la distribución de resultados en poblaciones negativas y positivas conocidas. Este valor se calcula obteniendo la media de los valores obtenidos en la población negativa más un número definido de desviaciones estándar. Posteriormente, el punto de corte se valida con muestras positivas confirmadas y se ajusta utilizando herramientas como las curvas ROC. En pruebas

de tamizaje, como el Architect anti-HCV, se prioriza la sensibilidad aunque eso signifique un mayor número de falsos positivos (Hassanzad & Hajian-Tilaki, 2024). Esto justifica la necesidad de pruebas confirmatorias dentro de la estrategia serológica diagnóstica institucional.

La curva ROC no solo sirve para validar el punto de corte de un inmunoensayo del fabricante sino también se puede aplicar en poblaciones específicas para ver si el valor que propone el fabricante realmente se ajusta o si hay que modificarlo. El proceso general para establecer el punto de corte de un inmunoensayo se resume en la Figura 2.

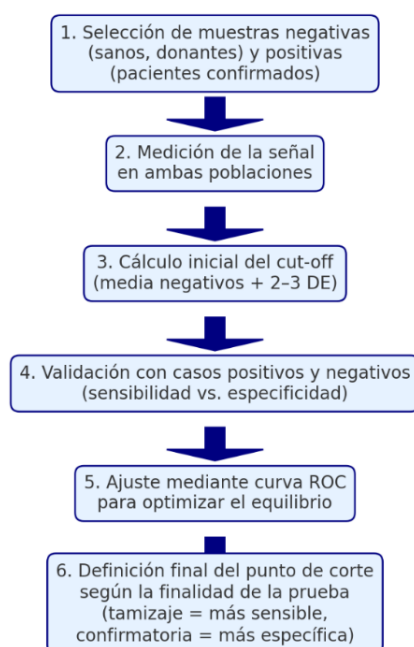


Figura 4. Esquema del proceso que sigue el fabricante para definir y ajustar el punto de corte de un inmunoensayo. Adaptado de Hassanzad & Hajian-Tilaki (2024)

El área bajo la curva (AUC) indica qué tan bien la prueba logra diferenciar entre personas con y sin la enfermedad. Un AUC cercano a 1 refleja una alta capacidad discriminativa para distinguir entre individuos con y sin la condición; mientras que un AUC cercano a 0,5 refleja que el ensayo no aporta información útil (*Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011; Hassanzad & Hajian-Tilaki, 2024*).

Además del AUC, se utiliza el índice de Youden (J), el cual permite identificar el punto de corte que ofrece el mejor equilibrio entre sensibilidad y especificidad (Xu et al., 2014):

$$J = \text{Sensibilidad} + \text{Especificidad} - 1$$

Este índice representa la capacidad máxima de una prueba para clasificar correctamente a los enfermos de los sanos. Un valor de J cercano a 0 sugiere poca capacidad discriminativa, mientras que un valor cercano a 1 refleja un rendimiento óptimo (Xu et al., 2014).

La combinación del análisis de la curva ROC con el índice de Youden permite tomar mejores decisiones sobre el punto de corte, especialmente cuando el desempeño del ensayo varía según la población en estudio. Esto es clave para saber si el punto de corte actual es el más adecuado, o si puede ajustarse para mejorar la exactitud diagnóstica (Hajian-Tilaki, 2013).

Concordancia diagnóstica

El índice Kappa de Cohen es una de las herramientas más utilizadas para evaluar la concordancia entre métodos diagnósticos que reportan resultados cualitativos, como reactivo o no reactivo. Este coeficiente estima el nivel de acuerdo entre dos pruebas, ajustando el resultado para no sobreestimar coincidencias debido al azar. Su valor varía entre -1 y 1 , donde 1 indica una concordancia perfecta y 0 representa que los resultados son independientes entre ellos (Lluís Carrasco & Jover, 2004). Su uso es especialmente útil cuando se comparan métodos diagnósticos distintos aplicados sobre la misma población, como ocurre con las pruebas de tamizajes y confirmatorias (Mazzilli et al., 2024).

Estado de la cuestión

En la literatura, numerosos estudios han utilizado herramientas estadísticas como las mencionadas en este capítulo para evaluar el desempeño de los inmunoensayo anti-VHC. En general, se ha observado que el punto de corte sugerido por el fabricante no siempre se ajusta bien a la realidad de cada laboratorio, sobre todo cuando se aplica en poblaciones con baja prevalencia, donde aumentan los falsos positivos y disminuye el VPP (Kirişci & Caliskan, 2019; Moretti et al., 2012; Sookoian & Castaño, 2002a; Zhang et al., 2015)

Un estudio realizado por Moretti et al. (2012) evaluó un inmunoensayo de quimioluminiscencia para la detección de anticuerpos totales anti VHC, utilizando un inmunoblot como prueba confirmatoria. A partir del análisis estadístico propusieron ajustar el punto de corte a 10,3 S/CO, ya que este es el más adecuado para mejorar su algoritmo diagnóstico de la infección por VHC sin necesidad de pruebas confirmatorias. De forma similar, Zhang et al. (2015) determinaron si dos inmunoensayos (Ortho VITROS anti-HCV y Monolisa Plus) podían ser usados por sí solos evitando el uso de otras pruebas confirmatorias, utilizando la detección de ARN viral de VHC como referencia. Su análisis de la curva ROC demostró que los valores por debajo de 3,00 S/CO de anticuerpos anti VHC no son confiables para descartar la necesidad de confirmación, y recomendaron ajustar el punto de corte para mejorar la utilidad clínica del ensayo (Zhang et al., 2015).

Otro estudio similar realizado por Kirişci y Caliskan (2019) evaluó el ensayo *Elecsys assay*, usando también el ARN viral como referencia. Su curva ROC determinó que el punto de corte de 12,27 S/CO es el más adecuado para obtener la máxima sensibilidad y especificidad del ensayo. De forma que, los valores por encima de este valor predicen con sensibilidad y especificidad elevadas la infección por VHC (Kirişci & Caliskan, 2019).

Por último, Sookoian y Castaño (2002) analizaron la capacidad de un inmunoensayo enzimático de micropartículas, para predecir viremia por VHC en personas con anticuerpos positivos. Encontraron que con un punto de corte de 26,0 S/CO se obtiene una sensibilidad de 99% y una especificidad de 96%. Por lo tanto, valores superiores a este punto de corte predicen mejor la viremia por VHC (Sookoian & Castaño, 2002b).

Estos resultados evidencian la utilidad de revisar el punto de corte en cada contexto, ya que adaptarlo a la realidad del laboratorio puede mejorar la exactitud diagnóstica del ensayo y evitar confirmaciones innecesarias.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la exactitud diagnóstica de la prueba de la determinación de anticuerpos VHC para predecir infección por VHC en condiciones de rutina en el Hospital San Juan de Dios durante el periodo noviembre 2022-abril 2024.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir la población de estudio mediante los parámetros demográficos (edad y sexo) y los parámetros serológicos (resultado Architect anti-HCV y resultado de HCV-IB).
2. Describir la seroprevalencia de anticuerpos totales anti VHC en la población de estudio, así como la seroprevalencia en un grupo de baja prevalencia (donantes) y otro de prevalencia incierta (no donantes).
3. Determinar la concordancia del ensayo Architect anti-HCV con respecto al ensayo HCV-IB en la población de individuos RR en las condiciones actuales.
4. Establecer el punto de corte óptimo de la prueba de detección de anticuerpos totales anti-HCV en las condiciones reales de uso del Hospital San Juan de Dios, para predecir un resultado positivo en la prueba confirmatoria HCV-IB.

METODOLOGÍA

1. Diseño del estudio

El estudio es de tipo observacional retrospectivo, basado en los registros institucionales obtenidos en condiciones de rutina y registrados en el sistema informático *Labcore*TM (LabcoreSoftTM, 2016), que consolida los resultados del inmunoensayo Architect anti HCV procesados en el Laboratorio de Inmunología del Hospital San Juan de Dios, durante el periodo de noviembre de 2022 a abril de 2024.

2. Participantes

Población de la investigación

Este estudio no requirió reclutamiento de participantes ni técnicas de muestreo. Se analizaron todos los datos de pacientes con resultado registrado en el sistema *Labcore*TM para la determinación de “anticuerpos totales anti VHC”, obtenidos mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia en el analizador ARCHITECT Plus de Abbott Diagnostics, durante el periodo comprendido entre noviembre 2022 y abril 2024, que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión. Las pruebas fueron realizadas en el Laboratorio Clínico del Hospital San Juan de Dios, Centro Nacional de Referencia para la confirmación serológica del VHC, que recibe muestras de todo el país.

Criterios de inclusión

Todos los datos de pacientes de cualquier sexo o edad, con un resultado reportado para la determinación de anticuerpos totales anti VHC.

Criterios de exclusión

a) Exclusión por motivos técnicos

- Pacientes menores de 18 meses, ya que no es posible asegurar que los anticuerpos detectados sean propios y no producto de la transferencia pasiva a través de la interfase materno-fetal.

- Pacientes con resultado negativo en la banda de control interno anti-IgG humana del HCV-IB, dado que podrían presentar una inmunodeficiencia humoral no confirmada.

b) Exclusión por información incompleta o errónea

- Pacientes con resultado repetidamente reactivo en el Architect anti-HCV que no cuenten con resultado del HCV-IB.
- Pacientes cuyo primer resultado de HCV-IB fue "negativo" o "indeterminado", sin una muestra de seguimiento posterior a los 60 días desde la toma inicial. Esto con el fin de permitir la posibilidad de seroconversión en casos captados en fase aguda.
- Registros con discrepancias atribuibles a errores de transcripción entre el registro físico y la base de datos del sistema *Labcore*TM.

c) Exclusión de datos repetidos

- Se excluyeron los datos repetidos confirmados de HCV-IB pertenecientes a un mismo paciente. En estos casos, se consideró únicamente la primera confirmación que cumpliera con los criterios establecidos, con el fin de evitar duplicación.

3. Estrategia metodológica

Architect anti-HCV (ensayo evaluado): La determinación de anticuerpos totales anti-HCV se realizó mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia utilizando el reactivo Architect anti-HCV de la casa comercial Abbott Diagnostics (referencia 6C37-38), procesado en el analizador ARCHITECT Plus. Los resultados se reportaron como índice S/CO, clasificando como: No reactivo: S/CO < 1,00; Reactivo: S/CO ≥ 1,00. Todas las pruebas fueron procesadas bajo condiciones de rutina en el Laboratorio de Inmunología del Hospital San Juan de Dios, con controles internos validados.

HCV Inmunoblot (ensayo de referencia): Las muestras reactivas fueron confirmadas con el HCV Blot 3.0 (MP Diagnostics). Los resultados se interpretaron según los lineamientos del fabricante como positivos, negativos o indeterminados, según el patrón de bandas observado.

4. Obtención de datos

La recolección de los datos se realizó a partir de la base de datos interna *LabcoreTM*. Se utilizó un filtro de búsqueda para obtener los datos de interés para el periodo noviembre 2022-abril 2024, para ambos ensayos y se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión indicados anteriormente.

Luego, se cotejó cada resultado del inmunoensayo con su respectivo resultado confirmatorio mediante HCV-IB, utilizando tanto la base de datos como los registros físicos del Laboratorio de Inmunología cuando fue necesario. En los casos confirmados, también se revisaron y registraron los patrones de reactividad de bandas observados en el HCV Inmunoblot, de acuerdo con la interpretación anotada en el registro físico del resultado. Cada caso incluido fue anonimizado mediante un código único (HCV-1, HCV-2, etc.), y la base final se almacenó en una ubicación segura.

5. Análisis estadístico

Usando como referencia los resultados obtenidos en el HCV-IB, los datos obtenidos en el Architect anti-HCV fueron clasificados como falsos positivos o verdaderos positivos para VHC. Se consideró verdadero positivo todo resultado reactivo en el Architect anti-HCV ($S/CO \geq 1,00$) confirmado como positivo en el HCV-IB, y falso positivo aquel resultado reactivo en el Architect anti-HCV que no fue confirmado por el HCV-IB, ya fuera negativo o indeterminado sin evidencia de seroconversión posterior a 60 días.

A partir de esta clasificación, se estimó el VPP y se construyó la curva ROC para determinar el punto de corte óptimo del ensayo Architect anti-HCV que mejor predice infección por VHC.

Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico GraphPad Prism Versión 9.4.1. (GraphPad Software, LLC, 2024), empleando los datos generados en el Laboratorio de Inmunología del Hospital San Juan de Dios.

El análisis estadístico se describe a continuación:

5.1 Variables estudiadas

1. Parámetros demográficos

- Edad (años)
- Sexo (masculino/femenino)

2. Parámetros serológicos

- Índice de reactividad anti-VHC (S/CO)
- Resultado del HCV-IB (positivo / negativo)

3. Seroprevalencia de anticuerpos totales anti-VHC

- Seroprevalencia global en la población de estudio (%)
- Seroprevalencia en donantes de sangre (%)
- Seroprevalencia en no donantes (%)
- Falsos positivos (FP)
- Especificidad (Esp)

4. Concordancia diagnóstica

- Índice Kappa de Cohen
- Valor predictivo positivo (VPP)

5. Punto de corte

- Área bajo la curva ROC (AUC)
- Índice de Youden
- Cocientes de verosimilitud positivo (LR^+)
- Sensibilidad
- Especificidad
- Valor predictivo negativo (VPN)
- Valor predictivo positivo (VPP)

5.2 Descripción de la población de estudio

Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se analizó el total de registros con una petición de “anticuerpos totales anti VHC” durante el periodo definido. La población de estudio se describió mediante parámetros demográficos (edad y sexo), utilizando medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (rango), así como la frecuencia relativa por sexo y edad.

En cuanto a los parámetros serológicos, se describió el comportamiento del inmunoensayo Architect anti-HCV (reactivo y no reactivo), presentando los valores del índice señal/punto de corte (S/CO) en cada grupo mediante la media y los percentiles 2,5 y 97,5, siguiendo el enfoque no paramétrico recomendado por el CLSI para variables con distribución asimétrica (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010). Los casos reactivos se clasificaron según el resultado del HCV-IB (positivo y negativo) para diferenciar los verdaderos positivos de los falsos positivos.

Previamente, se evaluó la normalidad de la distribución de los valores del índice S/CO mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (KS), la cual mostró una distribución no normal en ambos grupos ($p < 0.05$). Por esta razón, se realizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para comparar la distribuciones de los valores del índice S/CO entre los grupos verdaderos positivos y falsos positivos, con el fin de determinar si presentan diferencias estadísticamente significativas. Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$ (GraphPad Software, LLC, 2024).

5.3 Mecanismo para estimar la seroprevalencia de anticuerpos totales anti VHC

Se estimó la seroprevalencia de anticuerpos totales anti-VHC en la población de estudio correspondiente al área de adscripción del HSJD. Para este cálculo, se excluyeron las solicitudes provenientes de centros externos remitidas únicamente para confirmación diagnóstica, con el fin de evitar sesgos en la estimación y sobreestimar los valores de seroprevalencia.

Dentro de la población depurada, se estimó la seroprevalencia global y la de dos subgrupos definidos según el origen de la solicitud: donantes (grupo de baja prevalencia) y no donantes (grupo de prevalencia incierta) de la siguiente forma:

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{Casos confirmados positivos}}{\text{Total de población analizada}} \times 100$$

Adicionalmente, se estimó el número esperado de falsos positivo en esta cohorte aplicando la especificidad reportada por el fabricante a la cantidad de muestras negativas observadas.

La especificidad se define como:

$$\text{Esp} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Verdaderos negativos} + \text{Falsos positivos}}$$

A partir de esta relación, se obtuvo la fórmula para estimar el número teórico de falsos positivos en una población de individuos negativos:

$$\text{FP} = (1 - \text{Especificidad}) \times \text{N}^{\circ} \text{ de negativos}$$

Este cálculo se aplicó tanto a los dos subgrupos (donantes y no donantes) como a la totalidad de la población incluida en el estudio. Esta estimación se utilizó como un indicador del rendimiento teórico del inmunoensayo Architect anti-HCV, al comparar el número de falsos positivos esperados según la especificidad reportada por el fabricante con los falsos positivos observados en la cohorte del HSJD.

De forma complementaria, se estimó la especificidad observada en cada subgrupo utilizando el número de falsos positivos observados en los datos obtenidos en cada uno, mediante la fórmula: $\text{Especificidad} = 1 - (\text{FP} / \text{N})$, donde FP corresponde exclusivamente a los falsos positivos observados en cada subgrupo. Es importante aclarar que esta especificidad calculada no evalúa la prueba como tal, sino su comportamiento en las condiciones reales de uso del HSJD.

5.4 Plan de análisis para determinar la concordancia diagnóstica entre Architect anti-HCV y HCV-IB

Los casos repetidamente reactivos (RR) por Architect anti-HCV se clasificaron en falsos positivos y verdaderos positivos según el resultado confirmatorio obtenido mediante HCV-IB, registrando en cada grupo el valor del índice de reactividad (S/CO). A partir de esta clasificación se calculó el VPP observado y se estimó la concordancia diagnóstica entre ambos ensayos mediante el coeficiente Kappa de Cohen, en las condiciones reales del estudio.

Cabe señalar que, en este y en el siguiente objetivo, se excluyeron dos casos clasificados como verdaderos positivos que presentaban resultado “reactivo” en el Architect anti-HCV sin valor numérico de S/CO registrado. Por lo tanto, estos casos no se incluyeron en los análisis que requerían el índice de reactividad (S/CO), quedando 72 verdaderos positivos disponibles para dichas comparaciones. Sin embargo, ambos casos sí se consideraron en el cálculo del VPP.

La fórmula para el cálculo del VPP es la siguiente:

$$VPP = \frac{\textit{Verdaderos positivos}}{\textit{Verdaderos positivos} + \textit{Falsos positivos}}$$

El coeficiente Kappa de Cohen se calculó según la siguiente fórmula (McHugh, 2012):

$$\kappa = \frac{P0 - Pe}{1 - Pe}$$

Donde, P0 es la Proporción de acuerdos observados

$$P0 = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

Y Pe es la Proporción de acuerdos esperados por azar

$$Pe = \frac{(a+b)(a+c)+(c+d)(b+d)}{(a+b+c+d)^2}$$

Donde,

a: Número de casos donde ambos ensayos (A y B) son positivos,

b: Número de casos donde el ensayo A es positivo y ensayo B es negativo,

c: Número de casos donde el ensayo A es negativo y ensayo B es positivo,

d: Número de casos donde ambos ensayos son negativos.

La interpretación del coeficiente Kappa fue la siguiente:

$\kappa \leq 0$: no hay concordancia entre ambos ensayos

$\kappa = 0,01-0,20$ concordancia entre ambos ensayos es baja

$\kappa = 0,21-0,40$ concordancia entre ambos ensayos es regular

$\kappa = 0,41-0,60$ concordancia entre ambos ensayos es moderada

$\kappa = 0,61-0,80$ concordancia entre ambos ensayos es buena

$\kappa = 0,81-1,00$ concordancia entre ambos ensayos es alta

5.5 Metodología empleada para establecer el punto de corte óptimo de la prueba de detección de anticuerpos totales anti HCV para predecir infección por VHC.

Se utilizó el análisis de la curva ROC para determinar el punto de corte óptimo del inmunoensayo que predijera con mayor exactitud los casos verdaderos positivos. En este análisis se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. En el contexto institucional del HSJD, la confirmación de infección por VHC se establece mediante la prueba HCV-IB, de acuerdo con el protocolo de rutina para tamizaje y confirmación. Por lo tanto, la positividad en HCV-IB se consideró como prueba de referencia diagnóstica de infección por VHC.

El programa GraphPad Prism estimó la sensibilidad y especificidad en los distintos puntos de corte del índice S/CO. Para definir el umbral óptimo se empleó el índice de Youden (J), que

identifica el punto de corte con el mejor equilibrio entre sensibilidad y especificidad. Asimismo, se calculó el cociente de verosimilitud positivo (LR+), como medida complementaria que indica cuánto aumenta la probabilidad de infección por VHC cuando el inmunoensayo resulta positivo (Hajian-Tilaki, 2013).

Para entender cómo se comportaría realmente el inmunoensayo en la población del HSJD, se calcularon los valores predictivos usando el teorema de Bayes, únicamente para los dos puntos de corte evaluados (1,0 y 9,5 S/CO), usando la prevalencia observada en el HSJD, tomando como referencia la prevalencia observada en nuestra población adscrita

Para el punto de corte recomendado por el fabricante (S/CO = 1,0), el VPP se estimó utilizando la especificidad calculada en condiciones reales en el objetivo anterior, derivada de la proporción de falsos positivos identificados en la cohorte total. Esta especificidad describe el comportamiento del inmunoensayo en el HSJD y permitió obtener un VPP teórico ajustado al uso real del ensayo.

Para el punto de corte óptimo identificado mediante el análisis ROC, el VPP y el valor predictivo negativo (VPN) se estimaron utilizando la sensibilidad y especificidad obtenidas directamente del análisis ROC para este umbral, con el fin de evaluar el desempeño diagnóstico que se alcanzaría si dicho punto de corte se implementara en la práctica clínica.

Las fórmulas empleadas para el cálculo fueron (Hajian-Tilaki, 2013):

$$\text{VPP} = \frac{p \times \text{Sen}}{p \times \text{Sen} + (1-p) \times (1-\text{Esp})} \times 100$$

$$\text{VPN} = \frac{(1-p) \times \text{Esp}}{p \times (1-\text{Sen}) + (1-p) \times \text{Esp}} \times 100$$

donde p corresponde a la prevalencia de infección en la población, Sen a la sensibilidad y Esp a la especificidad de la prueba en el punto de corte evaluado.

6. Consideraciones éticas y confidencialidad

Este estudio fue observacional y retrospectivo, y no implicó contacto directo con los pacientes ni intervenciones adicionales a los procedimientos habituales del laboratorio. Por esta razón, se solicitó la exención del consentimiento informado, de acuerdo con la normativa nacional vigente y mediante el formulario establecido por el Centro de Desarrollo Estratégico e Información en Salud y Seguridad Social (CENDEISS) de la CCSS.

Los datos utilizados provienen exclusivamente de la base de datos institucional del sistema *LabcoreTM* y de los registros físicos del Laboratorio de Inmunología del HSJD. Todos los registros fueron anonimizados mediante un sistema de codificación, asignando a cada caso un identificador con el prefijo “VHC” seguido de un número consecutivo (por ejemplo, VHC-1, VHC-2, etc.), sin conservar información personal identificable. La base de datos fue almacenada en una única computadora de uso exclusivo de la investigadora principal, protegida por contraseña.

Dado que los datos fueron anonimizados y no incluían información sociodemográfica, no fue posible ni necesario identificar si algún paciente pertenecía a una población vulnerable. Los datos serán resguardados durante 30 años, conforme a la legislación costarricense, y estarán disponibles únicamente en caso de auditoría por parte de las autoridades competentes.

El protocolo fue aprobado por el Comité Ético Científico del HSJD (CEC-HSJD), bajo el Protocolo de investigación N.º 13-2024, cumpliendo con los requisitos documentales exigidos para estudios con datos de archivo.

Durante toda la ejecución se respetaron los principios éticos fundamentales:

- **Autonomía:** no hubo contacto con los participantes ni se realizaron intervenciones adicionales; se respetó su privacidad y los datos fueron tratados bajo condiciones institucionales habituales.
- **Beneficencia:** el estudio buscó generar conocimiento útil sobre el desempeño diagnóstico del ensayo utilizado, lo que podría mejorar futuras estrategias de detección de VHC en el país.

- **No maleficencia:** al no intervenir directamente sobre los pacientes y al proteger la confidencialidad, se minimizó el riesgo de daño.
- **Justicia:** se analizaron todos los datos disponibles que cumplieran con los criterios definidos, asegurando representatividad y equidad. Además, se buscó superar el sesgo de utilizar datos generados en otros contextos.
- **No discriminación:** no se excluyó a ningún participante por razones personales, sociales ni clínicas. Las exclusiones aplicadas fueron estrictamente técnicas.
- **Ausencia de coacción:** no existió posibilidad de coacción, ya que no hubo interacción con los participantes y se solicitó la exención del consentimiento informado.

El estudio representó un riesgo mínimo. El único riesgo identificado fue la posible pérdida de confidencialidad, la cual fue controlada con las medidas de protección ya descritas. No se entregaron resultados individuales a los participantes ni se otorgaron compensaciones económicas a estos, porque no hubo contacto ni intervención directa con ningún paciente.

RESULTADOS

Selección de la población de estudio

Durante la revisión de los registros internos del laboratorio clínico en la base de datos *LabcoreTM* se determinó que entre noviembre de 2022 y abril de 2024 se procesaron 38 730 determinaciones serológicas para anticuerpos totales anti VHC. De estas, 332 (0,86%) fueron inicialmente reactivas en el Architect anti-HCV y 38 398 (99,14%) no reactivas.

Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se incluyeron 32,814 casos en el análisis: 147 resultados repetidamente reactivos (RR) y 32 667 no reactivos. Entre los RR, 74 se confirmaron como verdaderos positivos (VP) y 73 como falsos positivos (FP) según la prueba HCV-IB. El proceso de depuración y selección de casos se muestra en el diagrama de flujo (Figura 3), elaborado de acuerdo con la guía STARD (Cohen et al., 2016).

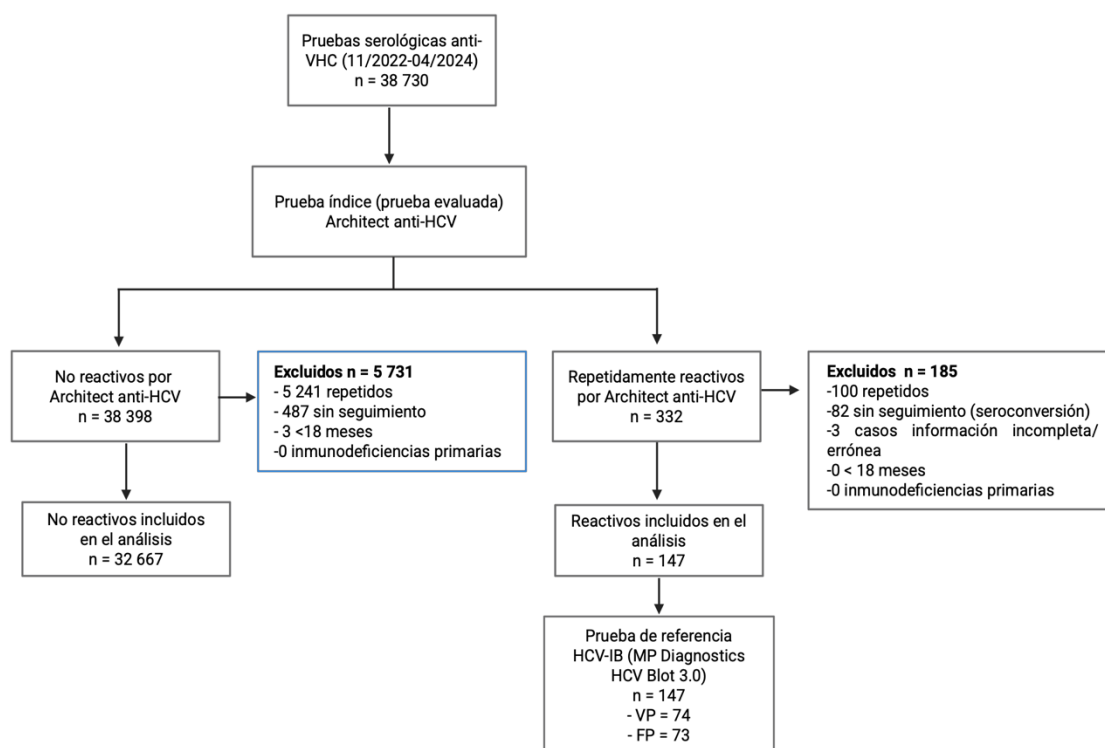


Figura 7. Diagrama de flujo del proceso de selección de casos, adaptado de la guía STARD (elaboración propia con BioRender).

Descripción de los parámetros demográficos

La población de estudio final quedó conformada por 32 814 datos. De estos, 147 correspondieron a resultados repetidamente reactivos (RR) en el Architect anti-HCV y 32 667 a resultados no reactivos.

Los casos reactivos presentaron una edad promedio de 52 años (rango: 16–89), con predominio masculino (83 hombres frente a 64 mujeres). Al subdividir este grupo, los VP mostraron una edad promedio mayor (57 años) en comparación con los FP (46 años).

En los no reactivos predominó el sexo femenino (17 554 mujeres frente a 15113 hombres), y una edad promedio menor (42 años; rango: 2–102), como se detalla en la Tabla I.

Tabla I. Características demográficas de la población estudiada según resultado serológico

Grupo	n	Mujeres	Hombres	Edad promedio (años)
No reactivos	32 667	17 554	15 113	42
Reactivos (total)	147	64	83	52
VP	74	33	41	57
FP	73	31	42	46

Descripción de parámetros serológicos

Los valores del índice señal/punto de corte (S/CO) del Architect anti-HCV se describen con la media y los percentiles 2,5 y 97,5, como se indicó en la metodología. En los casos no reactivos, la media del índice de reactividad fue de 0,10 S/CO, con un percentil 2,5 de 0,05 y un percentil 97,5 de 0,26 (Figura 4). Entre los casos reactivos, los VP presentaron una media de 13,8 S/CO, con valores de percentil 2,5 de 1,16 y percentil 97,5 de 22,9 S/CO (Figura 5). En los FP, la media fue de 2,43 S/CO, y los percentiles 2,5 y 97,5 fueron 1,01 y 8,04 S/CO, respectivamente (Figura 4).

Los parámetros serológicos del índice S/CO para cada grupo se resumen en la Tabla II.

Tabla II. Parámetros serológicos del índice señal/corte (S/CO) del Architect anti-HCV

Grupo		Media S/CO	Percentil 2,5	Percentil 97,5
No reactivos		0,10	0,05	0,26
Reactivos	VP	13,80	1,16	22,9
	FP	2,43	1,01	8,04

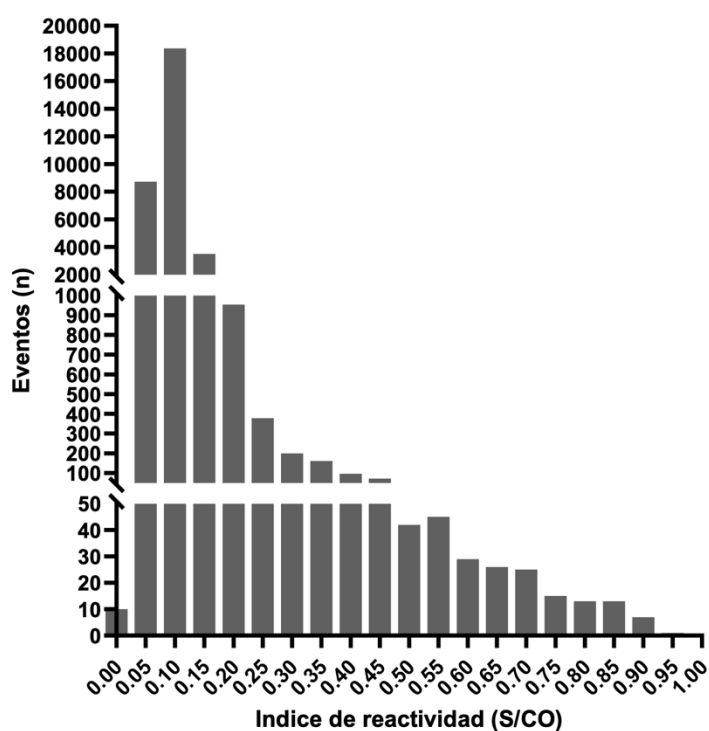


Figura 10. Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los casos no reactivos del Architect anti-HCV

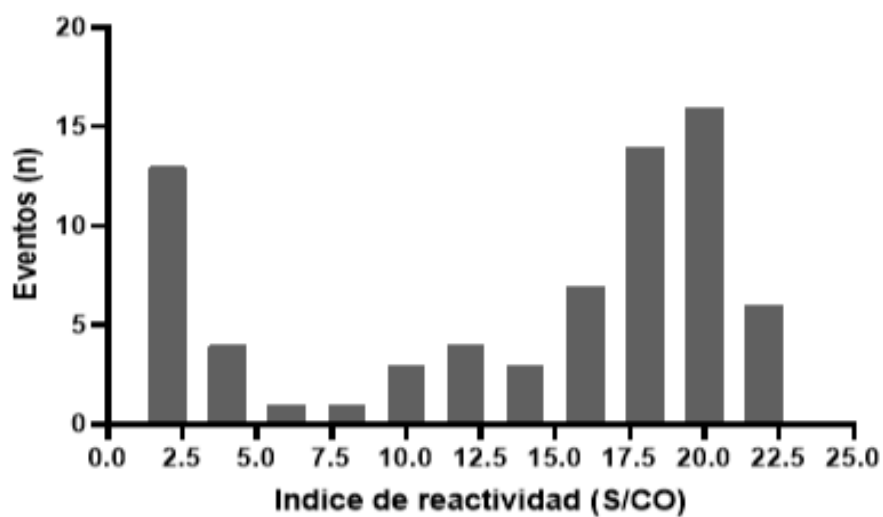


Figura 13. Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los verdaderos positivos (VP) Architect anti-HCV.

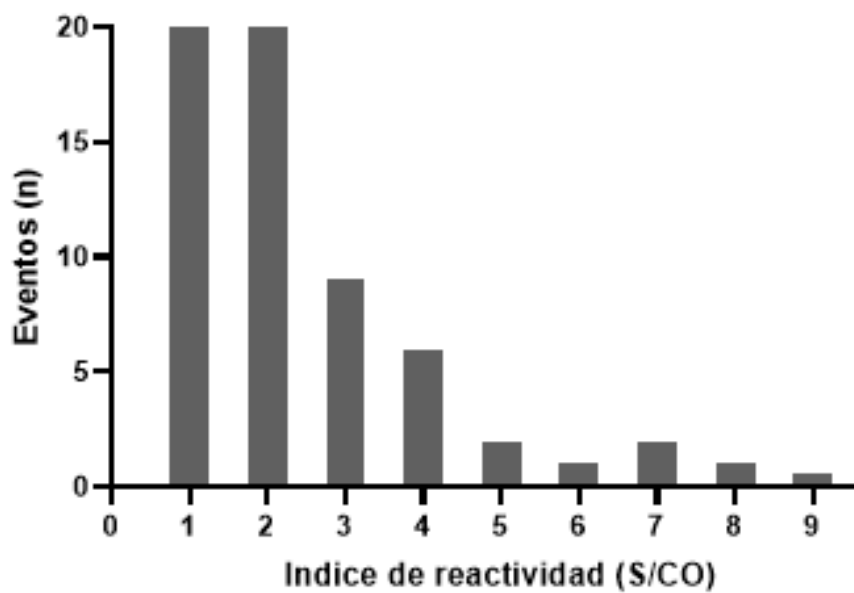


Figura 16. Distribución del índice de reactividad (S/CO) en los casos falsos positivos (FP) del Architect anti-HCV.

La prueba de Kolmogorov–Smirnov mostró que la distribución de los valores del índice S/CO no seguía una distribución normal en ningún grupo analizado, con $KS = 0,2036$ ($p < 0,0001$) para los verdaderos positivos y $KS = 0,2041$ ($p < 0,0001$) para los falsos positivos. Por esta razón, se utilizó la prueba no paramétrica de Mann–Whitney para comparar las distribuciones del índice S/CO entre ambos grupos.

Al comparar los índices de reactividad S/CO entre los resultados clasificados como FP y VP según el HCV-IB, se observó que los FP ($n=73$) presentaron una mediana de 1,83 S/CO, mientras que los VP ($n=72$) mostraron una mediana de 17,07 S/CO. La diferencia entre medianas fue de 15,24, con un estimador de Hodges-Lehmann de 14,26. La prueba de Mann-Whitney confirmó que esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,0001$). En el gráfico de dispersión (Figura 7) se muestran los valores individuales del índice de reactividad (S/CO) para los casos FP y VP clasificados por HCV-IB. Se observa que los FP se concentran en valores cercanos al punto de corte, mientras que los VP muestran valores más elevados.

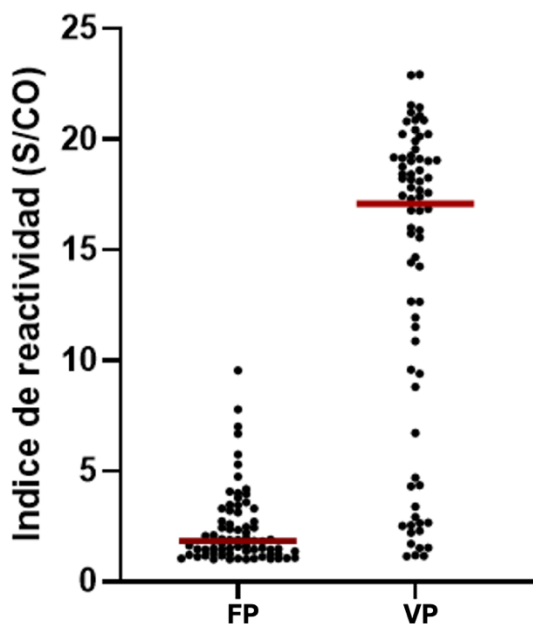


Figura 19. Dispersión de los valores del índice de reactividad (S/CO) obtenidos por el Architect anti-HCV en los casos falsos positivos (FP) y verdaderos positivos (VP) según la clasificación del HCV-IB. La línea roja indica la mediana.

Descripción de la seroprevalencia de anticuerpos totales anti HCV en la población de estudio

Seroprevalencia total en la población de estudio

Para estimar la seroprevalencia de anticuerpos anti HCV se utilizó la base de datos depurada que contenía 32 814 datos. Una parte de estos correspondía a solicitudes provenientes de centros externos al HSJD, remitidas únicamente para confirmación, por lo tanto no pertenecían al área de adscripción del hospital. Debido a que su inclusión podía introducir sesgos y sobrestimar tanto los casos negativos como los positivos, dichos registros fueron excluidos del análisis de seroprevalencia.

Después de la depuración, se incluyeron en el análisis 30 774 casos no reactivos, 54 VP y 55 FP, para un total de 30 883 casos analizados. La seroprevalencia estimada total de anticuerpos anti-VHC fue de 0,17%.

Seroprevalencia en un grupo de baja probabilidad de positividad (donantes)

En el grupo de donantes de sangre, población considerada de baja probabilidad *pre-test* de positividad se incluyeron 6 517 casos no reactivos, 2 VP y 21 FP, para un total de 6 540 casos analizados. La seroprevalencia en donantes fue de 0,03%

Seroprevalencia en grupo de prevalencia incierta (no donantes)

El grupo de no donantes, definido de prevalencia es incierta, estuvo compuesto por 24 343 casos, distribuidos en 24 257 no reactivos, 34 FP y 52 VP. La seroprevalencia en este grupo fue de 0,21%.

Comparación de la especificidad en condiciones reales con la especificidad reportada por el fabricante para el inmunoensayo Architect anti HCV en condiciones controladas

De acuerdo con la especificidad reportada por el fabricante del inmunoensayo Architect anti-HCV (100% en donantes de sangre y 99,4% en pacientes hospitalizados) (Abbott Diagnostics, 2021), el número esperado de FP en esta cohorte correspondía a 0 casos en donantes y aproximadamente 145 casos en no donantes. En contraste, los resultados observados en este estudio fueron de 21 FP en donantes y 34 FP en no donantes (Tabla III).

Tabla III. Comparación entre el número de FP esperados según la especificidad reportada por el fabricante y los observados en la cohorte del HSJD

Grupo	Especificidad fabricante	FP esperados	FP observados
Donantes	100%	0	21
No donantes	99,4%	145	34

Con base en los falsos positivos observados, la especificidad estimada en condiciones reales fue de 99,68% en donantes (21 FP en 6 540 muestras) y de 99,86% en el grupo de prevalencia incierta (34 FP en 24 343 muestras).

En la población total analizada en el HSJD (30 883 casos, con 55 FP y una seroprevalencia de infección por VHC de 0,17%), la especificidad estimada fue de 99,82%.

Concordancia diagnóstica del ensayo ARCHITECT Anti-HCV con respecto al ensayo HCV-IB en la población de individuos RR en las condiciones actuales.

Los casos repetidamente reactivos (RR) en el Architect anti-HCV se clasificaron como VP y FP según el resultado confirmatorio obtenido por HCV-IB. Dentro de la cohorte de casos RR, se confirmaron 74 VP y 73 FP, para un total de 147 casos analizados. Con estos datos, el VPP observado fue de 50,3%.

En cuanto a la concordancia diagnóstica entre ambos ensayos, el índice Kappa de Cohen fue de $\kappa = 0$, pues solo existió acuerdo en 50,34% de las observaciones.

Punto de corte óptimo de la prueba de detección de anticuerpos totales anti HCV para predecir infección por HCV.

Para determinar el punto de corte óptimo del inmunoensayo Architect anti-HCV en la predicción de un resultado positivo en la prueba confirmatoria HCV-IB, se construyó la curva ROC. El área bajo la curva (AUC) fue de 0,90 (EE = 0,026; IC95%: 0,85–0,96; $p < 0,001$). La figura 8 ilustra la capacidad del inmunoensayo para diferenciar verdaderos positivos y falsos positivos dentro de los casos repetidamente reactivos. La curva se utilizó para calcular el área bajo la curva (AUC) y estimar el punto de corte óptimo usando el índice de Youden.

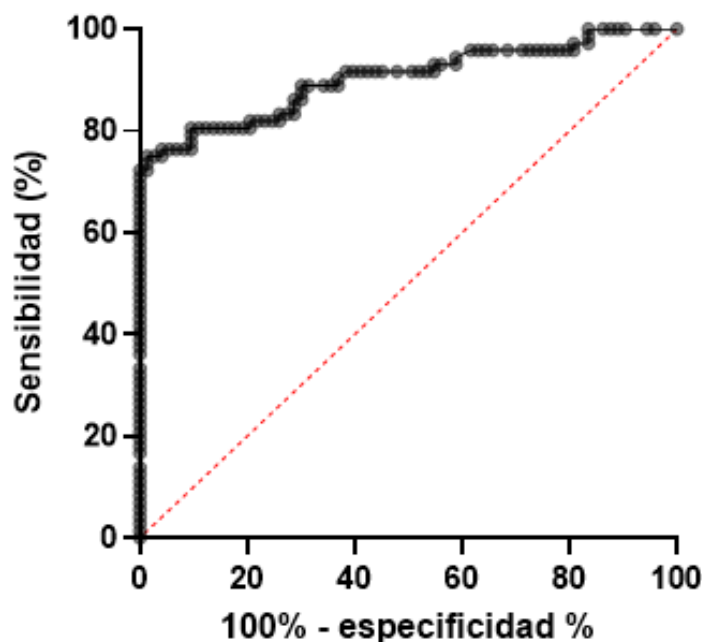


Figura 22. Curva ROC del inmunoensayo Architect Anti-HCV utilizando el inmunoensayo HCV-IB como referencia. El área bajo la curva (AUC) fue de 0,90 (EE = 0,026; IC95%: 0,85–0,96; $p < 0,001$).

Con el umbral recomendado por el fabricante (1,0 S/CO) el VPP estimado mediante el teorema de Bayes, utilizando la prevalencia observada y la especificidad calculada en condiciones reales, fue de 48,60%. Por el diseño de la investigación el VPN no se pudo estimar directamente; sin embargo, al no haberse documentado falsos negativos en esta cohorte y dada la alta sensibilidad del inmunoensayo, se asume que el VPN se mantiene cercano a 100%.

Al aplicar el punto de corte óptimo según el índice de Youden (9,5 S/CO), la especificidad fue de 100% y el VPP a 98%, con un cociente de verosimilitud positivo (LR+) de 53. En contraste, el VPN disminuyó a 78,3%, reflejando el efecto del incremento en la especificidad sobre la sensibilidad. La Tabla IV resume el desempeño del Architect anti-HCV en el punto de corte óptimo (9,5 S/CO).

Tabla IV. Desempeño diagnóstico del inmunoensayo Architect anti-HCV en el punto de corte óptimo (9,5 S/CO)

Punto de corte (S/CO)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	LR+	Índice de Youden (J)	VPP poblacional (%)	VPN poblacional (%)
9,5 (óptimo)	72,2	100	53	0,71	98	78,3

DISCUSIÓN

Este estudio evaluó la exactitud diagnóstica del ensayo Architect anti-HCV en condiciones reales de uso, las cuales pueden diferir de los escenarios controlados en los que el fabricante realiza su validación. En la práctica clínica del HSJD, la solicitud de anti-VHC forma parte de pruebas de tamizaje de rutina o perfiles institucionales y, en muchos casos se indica sin que exista una probabilidad *pre-test* definida. Este contexto de tamizaje amplio en una población heterogénea condiciona el comportamiento del inmunoensayo y su valor predictivo positivo.

En escenarios de baja prevalencia, como el observado en este estudio, el punto de corte recomendado por el fabricante ($S/CO \geq 1,0$) no refleja necesariamente la realidad diagnóstica de la nuestra población. Por lo tanto, es esperable observar la aparición de reactividades no confirmadas y esto no debe interpretarse como un fallo técnico del inmunoensayo, sino como una consecuencia esperable del uso de pruebas altamente sensibles en poblaciones con baja probabilidad *pre-test*.

Los resultados obtenidos permiten evidenciar con datos locales las limitaciones de la estrategia diagnóstica actual, así como establecer una base para mejorar la utilidad clínica del Architect anti-HCV y promover un uso más eficiente de los recursos institucionales. La diversidad de motivos de solicitud de la prueba anti-VHC y la calidad variable de los registros en el sistema *Labcore*TM fueron limitaciones esperables de un estudio retrospectivo; sin embargo, estas condiciones reflejan verdaderamente la realidad del trabajo rutinario del laboratorio y el contexto en el que se aplica la secuencia serológica diagnóstica actual.

Desde el punto de vista demográfico, en los casos clasificados como repetidamente reactivos (RR) se observó que, entre los verdaderos positivos, predominó el sexo masculino y una mayor edad promedio en comparación con los falsos positivos, que fueron más frecuentes en personas más jóvenes. Este comportamiento concuerda con lo descrito en la literatura, donde la edad avanzada y el sexo masculino se asocian con mayor probabilidad de desarrollar infección crónica y progresión (Liu & Kao, 2023; Vélez-Moller, 2017). En la cohorte no reactiva se observó una distribución por sexo más equilibrada, con ligera mayoría femenina, lo que refleja la composición general de la población atendida en el hospital.

En cuanto a los parámetros serológicos, el grupo no reactivo mostró valores de S/CO bajos, lo que confirma la ausencia de reactividad en este grupo y respalda la capacidad del Architect anti-HCV para clasificar correctamente a las personas sin anticuerpos. En contraste, los verdaderos positivos presentaron valores de S/CO mayores, lo que coincide con una respuesta inmunológica robusta y sostenida frente al virus. Por el contrario, los falsos positivos se agruparon cerca del punto de corte, con un promedio de 2,43 S/CO, lo que sugiere una reactividad débil característica de las señales inespecíficas observadas en los inmunoensayos de tamizaje. Estas reactividades se mantienen cercanas al punto de corte, sin alcanzar los niveles elevados observados en los verdaderos positivos. Este comportamiento muestra que el inmunoensayo tiene capacidad discriminativa suficiente para diferenciar entre infección verdadera y reactividad inespecífica, aunque el punto de corte actual hace que algunos resultados de baja reactividad se reporten como reactivos. Este patrón coincide con lo descrito por Moretti et al. (2012) y Santini et al. (2020), quienes reportaron que la mayoría de las reactividades inespecíficas se concentran alrededor del punto de corte recomendado por el fabricante.

En este estudio, la seroprevalencia global de anticuerpos anti-VHC fue de 0,17% (54 casos confirmados en 30 883 pruebas). Este dato representa únicamente a la población atendida en el HSJD y no pretende extrapolarse a la prevalencia a nivel nacional; sin embargo, refuerza la evidencia disponible que indica que la seroprevalencia de VHC en Costa Rica es baja (Corrales-Rodríguez et al., 2022). Esta baja seroprevalencia condiciona de forma el valor predictivo positivo del tamizaje, independientemente del buen desempeño analítico del ensayo.

La seroprevalencia observada entre donantes (0,03%) y no donantes (0,21%) refleja la heterogeneidad entre ambos subgrupos y cómo varía la probabilidad *pre-test* según el contexto clínico. Esto se refleja directamente en el valor predictivo positivo: disminuye en donantes y aumenta en no donantes, afectando la utilidad diagnóstica del resultado reactivo según el contexto clínico en que se aplique la prueba.

En la cohorte de casos RR, el VPP fue 50,3%, lo que significa que solo la mitad de los resultados reactivos en el Architect anti-HCV, se confirmaron como verdaderos positivos en el HCV-IB. Este comportamiento del VPP es coherente con lo que ocurre en poblaciones de baja prevalencia, donde la probabilidad *pre-test* limita la capacidad del inmunoensayo para distinguir verdadera infección de reactividad inespecífica (Santini et al., 2020; WHO, 2022). Analizar el VPP específicamente dentro del subgrupo RR permitió entender mejor cómo se desempeña el inmunoensayo en el escenario hospitalario y complementa lo observado al analizar la cohorte global de muestras reactivas. Este rendimiento limitado del VPP no es un hallazgo meramente estadístico, sino que tiene repercusiones clínicas y emocionales para el paciente, además de implicaciones económicas para la institución. Las pruebas confirmatorias son costosas, requieren personal especializado y no ofrecen resultados inmediatos. En este contexto, el registro de un resultado reactivo en el expediente clínico puede generar incertidumbre y preocupación en el paciente hasta completar la confirmación diagnóstica.

Nótese que, en este estudio, la prevalencia observada dentro del análisis ROC es mucho mayor que la seroprevalencia real de la población atendida en el HSJD. Esto se debe a que la curva se construyó únicamente a partir de un subgrupo muy limitado de casos RR, seleccionados por tener un resultado previo positivo en el inmunoensayo Architect anti-HCV y contar con confirmación mediante HCV-IB. Esta selección introduce un sesgo de selección importante y limita la interpretación del desempeño del ensayo únicamente a este grupo de casos, por lo que los valores obtenidos en la curva ROC no reflejan el comportamiento global del inmunoensayo en la población atendida en el HSJD.

Dicho esto, dentro de este subgrupo de casos RR incluidos en el análisis ROC, el VPP para un punto de corte de 9,5 S/CO alcanza el 100%, ya que en esta cohorte todos los casos con valores iguales o superiores a 9,5 S/CO correspondieron a verdaderos positivos. Este hallazgo describe el comportamiento del inmunoensayo dentro de este subgrupo específico de casos RR y no debe interpretarse como representativo del desempeño poblacional del inmunoensayo en el HSJD.

La concordancia global entre el Architect anti-HCV y el HCV-IB fue baja, con un índice κ de 0, lo que equivale a una concordancia similar a la esperada por el azar. Esto no implica un problema técnico del ensayo, sino que refleja la aplicación de un punto de corte que no se ajusta al perfil de seroprevalencia de la población, generando un exceso de falsos positivos. Esta observación ha sido descrita en otros contextos de baja prevalencia por Zhang et al. (2015) y Kirisci & Caliskan (2019), donde la falta de ajuste del punto de corte disminuye la concordancia diagnóstica y aumentan innecesariamente la cantidad de confirmaciones requeridas.

En un estudio similar, Mahajan et al. (2019) observaron que los falsos positivos del Architect anti-HCV se concentraban en valores menores a 6,0 S/CO y se asociaban a interferencias inmunológicas como anticuerpos heterófilos, factores reumatoides o autoanticuerpos, o reactividad cruzada con otros flavivirus. Estas interferencias, ampliamente descritas en inmunoensayos tipo sándwich (Datta, 2008; Santini et al., 2020), explican por qué la presencia de falsos positivos no depende únicamente del punto de corte, sino también de limitaciones inherentes a la tecnología del ensayo.

Al comparar los resultados de este estudio con las especificaciones del fabricante, se evidenciaron discrepancias importantes. Abbott reporta una especificidad de 100% en donantes y 99,4% en pacientes hospitalizados (Abbott Diagnostics, 2021) , lo que implicaría prácticamente ausencia de falsos positivos. En este estudio se registraron 21 falsos positivos en donantes y 34 en no donantes, confirmando que en condiciones reales de uso el desempeño del inmunoensayo no reproduce exactamente el escenario de validación.

Con el objetivo de establecer el punto de corte óptimo del índice de reactividad (S/CO) del inmunoensayo Architect anti-HCV para definir positividad en la prueba confirmatoria HCV-IB, se construyó una curva ROC utilizando el HCV-IB como prueba de referencia. El área bajo la curva de 0,90 evidencia una buena capacidad del inmunoensayo para discriminar entre verdaderos positivos y falsos positivos dentro de los casos repetidamente reactivos.

El problema identificado en este estudio no está en la sensibilidad del inmunoensayo Architect anti-HCV, que es adecuada para el tamizaje, sino en la pérdida de especificidad y del valor

predictivo positivo al aplicar el punto de corte recomendado por el fabricante en un contexto de muy baja prevalencia.

Desde el punto de vista del desempeño diagnóstico, al utilizar el punto de corte de 1,0 S/CO la sensibilidad y el valor predictivo negativo del inmunoensayo son prácticamente del 100%. Sin embargo, esto se acompaña de una disminución de la especificidad y del valor predictivo positivo, lo que genera la aparición de resultados falsos positivos, tal como se evidenció en este trabajo. Esta limitación se compensa con la realización de pruebas confirmatorias adicionales, lo que incrementa el costo, el tiempo de respuesta y la carga operativa del laboratorio. Adicionalmente, es importante mencionar que, aun considerando un periodo razonable de seroconversión 60 días, aproximadamente la mitad de los casos inicialmente reactivos permanecieron sin confirmar, lo que indica que la estrategia diagnóstica actual tiene potencial de mejora desde la perspectiva del manejo de los resultados falsos positivos.

A partir de estos hallazgos, se determinó que ajustar el punto de corte a 9,5 S/CO permite conservar una sensibilidad aceptable (72,2%) y aumentar la especificidad a 100%, con un VPP poblacional estimado de 98% al considerar las seroprevalencias observadas. Este ajuste se acompañó de un aumento de la razón de verosimilitud positiva (LR+) de 1,1 a 53, que indica que un resultado igual o mayor a 9,5 S/CO hace 53 veces más probable la presencia de infección real por VHC en comparación con un resultado negativo. El índice de Youden de 0,71 refleja un equilibrio razonable entre sensibilidad y especificidad bajo este umbral.

Un aspecto importante en la interpretación de estos resultados es diferenciar entre el VPP observado en la cohorte de casos RR (50,3%) y el VPP poblacional estimado mediante el teorema de Bayes, usando la seroprevalencia del HSJD. El VPP observado en los RR describe exclusivamente lo que ocurre en los casos que ya fueron clasificados como RR en el tamizaje y confirmados por HCV-IB. Por lo tanto, este valor no representa el desempeño del inmunoensayo en la población hospitalaria, donde la mayoría de las muestras resultan no reactivas desde el inicio y no avanzan a etapas confirmatorias.

En contraste, el VPP poblacional representa la utilidad real del inmunoensayo al aplicarlo a toda la población atendida en el HSJD, incluyendo los casos que no se confirman. Bajo este

enfoque, el VPP estimado para el punto de corte de 1,0 S/CO es de 48,6%, mientras que al ajustar el punto de corte a 9,5 S/CO la especificidad aumentó de forma marcada y el VPP poblacional aumenta hasta 98%.

En la práctica, esto significa que un resultado de tamizaje igual o superior a 9,5 S/CO se convierte en una evidencia mucho más confiable de infección real por VHC. Sin embargo, para el tamizaje poblacional, el punto de corte de 1,0 S/CO continúa siendo la estrategia más segura. Una vez identificado un resultado inicialmente reactivo, el índice de reactividad permite predecir la confirmación del resultado sin necesidad de realizar un HCV-IB, mientras que, paralelamente se puede ejecutar el antígeno *core* o la determinación de carga viral, cuyo propósito es definir el estadio de la infección y aportar información relevante para el seguimiento del paciente.

Adicionalmente, durante la revisión de los resultados del HCV-IB se identificaron patrones de reactividad que, aunque no formaba parte de los objetivos del estudio, aportan información relevante. Los casos clasificados como falsos positivos mostraron ausencia de bandas o perfiles muy limitados, con una o ninguna banda detectable y con intensidades débiles. En estos, las reactividades aisladas se observaron con mayor frecuencia frente al antígeno NS3-2, seguidas por NS3-1, NS4 y, finalmente, por reactividad aislada frente al antígeno Core. No se identificaron perfiles con múltiples bandas en los falsos positivos. Este comportamiento sugiere que estas reactividades podrían estar asociadas con interferencias analíticas o reacciones cruzadas, y evidencia la necesidad de investigar el origen de estas reactividades para optimizar su abordaje diagnóstico.

En contraste, los verdaderos positivos mostraron un comportamiento serológico distinto y coherente con infección activa, caracterizado por perfiles de bandas más amplios e intensos en el HCV-IB. Además, se observó que aproximadamente el 60% de estos casos contaban con evidencia de prueba directa positiva, ya fuera mediante detección de antígeno *core* o carga viral, lo que constituye un indicador de replicación viral. Aunque este hallazgo tampoco era un objetivo del estudio, aporta información relevante para la interpretación de los resultados

ya que los valores altos de reactividad en el inmunoensayo de tamizaje se asociaron con una mayor probabilidad de infección real.

En este contexto, las observaciones sobre los patrones de reactividad no evidencian una falla del HCV-IB como método, sino una limitación de la estrategia diagnóstica actual. Aunque el HCV-IB sigue siendo la prueba confirmatoria en la CCSS y fue utilizado como referencia en este estudio, su capacidad para aclarar ciertos perfiles de reactividad es limitada, particularmente en escenarios de baja prevalencia. En la práctica, el HCV-IB es una técnica costosa, de procesamiento lento y que no siempre permite discriminar entre reactividad inespecífica e infección verdadera.

En este estudio, ninguno de los pacientes inicialmente reactivos con resultados negativos o indeterminados en el HCV-IB mostró seroconversión a los 60 días, lo que reafirma que esta estrategia tiene una capacidad limitada para resolver estos casos. La persistencia de diagnósticos no resueltos favorece la recurrencia de falsos positivos, incrementa la demanda de pruebas confirmatorias y los costos asociados, sin aportar ningún beneficio clínico para los pacientes, cuyo estado serológico permanece indefinido si no se ajusta la estrategia diagnóstica actual.

Una de las principales fortalezas de este estudio es que se analizaron todos los datos disponibles del periodo en condiciones reales de trabajo, siguiendo la estrategia serológica diagnóstica vigente en la CCSS, lo que permite que los resultados reflejen la práctica rutinaria del laboratorio clínico. El tamaño de la cohorte y la depuración rigurosa de los datos fortalecen la solidez de los resultados. Además, se aplicaron herramientas estadísticas complementarias (ROC, índice de Youden, LR+, Kappa, estimación Bayesiana del VPP poblacional y análisis de patrones de reactividad del HCV-IB), lo que permitió evaluar la exactitud diagnóstica del inmunoensayo desde diferentes perspectivas.

Las limitaciones del estudio deben interpretarse en el contexto institucional del HSJD ya que, en la práctica clínica, únicamente los casos repetidamente reactivos avanzan a confirmación, mientras que los resultados no reactivos se asumen como negativos y no se verifican mediante pruebas adicionales. Por esta razón, la estimación de sensibilidad y especificidad se encuentra

condicionada por este diseño y la curva ROC se construyó exclusivamente con los casos RR, lo que limita la extrapolación de los resultados al total de la población hospitalaria.

Adicionalmente, la baja seroprevalencia observada en la población del HSJD (0,17%) implica que un diseño prospectivo con confirmación sistemática de todos los casos reactivos y no reactivos sería metodológicamente inviable y económicamente costo-prohibitivo. Para obtener 100 casos verdaderos positivos habría sido necesario procesar al menos 58 800 individuos. Esto supera la capacidad real del hospital y los recursos económicos disponibles, ya que cada confirmación mediante HCV-IB tiene un costo elevado. Esto justifica el enfoque retrospectivo usado y reafirma que los resultados deben interpretarse en el contexto local.

Otras limitaciones incluyen la calidad variable de los registros en el sistema *Labcore*TM, con heterogeneidad en el reporte de resultados, ausencia de valores de S/CO en muestras enviadas y duplicaciones asociadas a reprocesamientos innecesarios. Asimismo, no fue posible ampliar el periodo de análisis debido al cambio de proveedor del HCV-IB, lo que habría añadido una variabilidad metodológica adicional.

En relación con los falsos positivos, no fue posible identificar las causas que los ocasionan, ya que este análisis no formaba parte de los objetivos del estudio. No obstante, la literatura describe múltiples interferencias capaces de inducir reactividad inespecífica en inmunoensayos de tamizaje como los anticuerpos heterófilos, anticuerpos anti-animal (HAMA), factores reumatoides, autoanticuerpos o condiciones preanalíticas de la muestra (hemólisis, lipemia, ictericia), así como reactividad cruzada con antígenos virales relacionados, pueden inducir reactividad inespecífica en los inmunoensayos (Myler et al., 2023). Este tipo de interferencias tiende a concentrarse en valores bajos o intermedios de S/CO, tal como se observó en los falsos positivos de este estudio.

La persistencia de estas señales al repetir la prueba en el mismo sistema analítico confirma que el reprocesamiento no resuelve este tipo de interferencias y que la reactividad puede estar asociada al diseño específico del inmunoensayo. Esto coincide con lo descrito por Kesli et al. (2009), quienes demostraron que la magnitud y el tipo de interferencia dependen del diseño de cada inmunoensayo. Kesli et al. (2009) compararon tres plataformas de tamizaje anti-VHC

(Architect, Cobas y Ortho) y encontraron que los inmunoensayos no son equivalentes entre sí y que cada sistema emplea combinaciones diferentes de antígenos, anticuerpos y configuraciones técnicas, lo que puede explicar discrepancias en la reactividad y en los puntos de corte utilizados.

Esta situación evidencia una vulnerabilidad metodológica real: en la práctica, el laboratorio no tiene forma directa de distinguir si una reactividad débil corresponde a una infección verdadera o a una interferencia. Por eso, distintos autores proponen el uso de estrategias complementarias para investigar sospecha de interferentes, incluyendo el reprocesamiento en plataformas equivalentes de otro fabricante como herramienta de comparación (W. Liu et al., 2024).

Además, la literatura describen técnicas para disminuir o neutralizar interferencias como el uso de tubos de bloqueo de anticuerpos heterófilos (HBT), adsorción con anticuerpos anti-animal, neutralización de factores reumatoides, o diluciones seriadas (W. Liu et al., 2024). Incluso desde el diseño del propio inmunoensayo se han propuesto recursos para disminuir falsos positivos asociados a estas interferencias (Abbott Laboratories, 2021). Sin embargo, ninguna de estas estrategias forma parte de la secuencia serológica diagnóstica actual en la CCSS, por lo que actualmente no existen herramientas implementadas para resolver de manera sistemática estos casos.

En conjunto, los resultados demuestran que la principal limitación en el diagnóstico de la infección por VHC en el HSJD no está en la validez analítica del inmunoensayo Architect anti-HCV, cuya sensibilidad es adecuada para el tamizaje, sino en la estrategia utilizada para el manejo de los resultados inicialmente reactivos en un contexto de baja prevalencia. El uso del punto de corte recomendado por el fabricante (1,0 S/CO) maximiza la sensibilidad, pero compromete la especificidad y el valor predictivo positivo, generando un número considerable de resultados falsos positivos y una carga innecesaria de confirmaciones.

El ajuste del punto de corte a 9,5 S/CO permite un equilibrio más razonable entre sensibilidad y especificidad, con un incremento importante del VPP poblacional y de la razón de

verosimilitud positiva, lo que convierte a los resultados con valores altos de reactividad en una evidencia mucho más mayor de infección real.

A partir de estos hallazgos, se propone una propuesta conceptual en la que el índice de reactividad (S/CO) cumple un rol orientativo en la interpretación diagnóstica, sin modificar el punto de corte de tamizaje recomendado (1,0 S/CO). En los casos con valores inferiores a 9,5 S/CO, considerados una zona de mayor heterogeneidad, el HCV-IB se mantiene como prueba confirmatoria; cuando los resultados negativos o indeterminados persisten tras un periodo de al menos 60 días, considerar la presencia de interferencias analíticas o el procesamiento en una plataforma alternativa. Por el contrario, los resultados con valores iguales o superiores a 9,5 S/CO, que en este estudio se asociaron a una alta probabilidad de verdadero positivo, sugieren el uso de métodos directos, como la detección de ARN del VHC, para confirmar infección activa. Este enfoque busca optimizar la interpretación diagnóstica y apoyar la toma de decisiones clínicas, sin sustituir la estrategia actual, pero aportando información adicional basada en la magnitud de la señal serológica.

A pesar de que esta propuesta plantea mejorar la interpretación de los resultados dentro de las condiciones reales del HSJD, es claro que el abordaje diagnóstico ideal para la infección por VHC debería incorporar la detección de ARN viral como método confirmatorio de referencia, tal como lo establecen las recomendaciones internacionales. Esto permitiría resolver con mayor claridad los casos repetidamente reactivos y avanzar hacia un diagnóstico más confiable, sin depender de una técnica como el HCV-IB, una técnica que, en la práctica resulta lenta, costosa y muchas veces insuficiente para confirmar la infección.

Los resultados de este estudio también ponen en evidencia áreas para investigaciones futuras, como el impacto clínico y económico de las confirmaciones innecesarias, la caracterización de los falsos positivos mediante el uso de plataformas equivalentes o protocolos de neutralización, y la mejora en la calidad del registro de la información en el sistema *Labcore*TM.

En síntesis, los hallazgos de este estudio muestran que la exactitud diagnóstica del Architect anti-HCV en el HSJD no se ve limitada por su sensibilidad para el tamizaje, sino por la

estrategia empleada para el manejo de los resultados inicialmente reactivos en un escenario de muy baja prevalencia. La magnitud del índice S/CO aporta información relevante para la interpretación diagnóstica, ya que las reactividades bajas concentran la mayoría de los resultados no confirmados, mientras que valores elevados se asocian a una alta probabilidad de verdadero positivo.

CONCLUSIONES

1. En las condiciones reales del HSJD, la proporción de casos verdaderamente positivos fue baja y esto se reflejó directamente en el rendimiento del Architect anti-HCV, especialmente en un valor predictivo positivo limitado. Este comportamiento era esperable en un escenario donde la probabilidad *pre-test* es reducida y la prueba se indica de manera amplia.
2. Dentro del grupo de casos repetidamente reactivos, solo la mitad se confirmó como infección por VHC. Esto evidencia una concordancia limitada entre el Architect Anti-HCV y el HCV-IB dentro de este subgrupo y evidencia la frecuencia esperada de falsos positivos en poblaciones con baja probabilidad *pre-test*.
3. El índice S/CO permitió diferenciar mejor a los verdaderos positivos dentro del grupo de casos repetidamente reactivos, ya que los valores más altos se asociaron a mayor probabilidad de confirmación.
4. Los resultados muestran la necesidad de contar con lineamientos institucionales claros sobre cuándo indicar el estudio de anticuerpos anti-HCV. El uso indiscriminado de la prueba en poblaciones sin factores de riesgo conocidos aumenta los falsos positivos y tiene implicaciones clínicas, emocionales y económicas para el paciente y para el HSJD.
5. Se evidenció que el HCV-IB tiene una utilidad limitada para resolver los casos discordantes y que en la práctica aporta poca información adicional para reclasificarlos. En estos pacientes es necesario considerar otras alternativas que aporten información más clara, como un inmunoensayo equivalente de otro fabricante o la realización de pruebas directas de ARN del VHC en situaciones puntuales.
6. Este trabajo aporta evidencia local obtenida en condiciones reales. Los hallazgos ayudan a reconocer sus limitaciones y plantear oportunidades de mejora en el proceso de tamizaje y confirmación del VHC en nuestro contexto hospitalario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott Diagnostics. (2021). *ARCHITECT Anti-HCV—Inserto de uso* (Inserto técnico Nos. 6C37-28 / 6C37-38 / 6C37-33). Abbott Diagnostics.
- Abbott Laboratories. (2021). *Métodos de inmunoensayo mejorados* (Abbott Laboratories Patent No. ES2820877T3). <https://patents.google.com/patent/ES2820877T3/es>
- Barboza Porras, S. (2015). *Caracterización clínica y epidemiológica de pacientes con hepatitis C crónica no respondedores a tratamiento doble con Peginterferón y Ribarina, período de enero del 2008 a julio 2014 en el Hospital Calderón Guardia, Hospital San Juan Dios y Hospital México* [Universidad de Costa Rica]. <https://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr/server/api/core/bitstreams/3005799d-c72e-44b1-a87e-74b2f8b5989b/content>
- Busch, M. P., Glynn, S. A., Stramer, S. L., Strong, D. M., Caglioti, S., Wright, D. J., Pappalardo, B., Kleinman, S. H., & NHLBI-REDS NAT Study Group. (2005). A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion*, 45(2), 254–264. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2004.04215.x>
- Carboni, L., Rodríguez, M., Greenwood, G., Marten, A., & Solano, J. (1995). Prevalencia de anticuerpos para hepatitis C en donadores de sangre, Hospital México. *Revista costarricense de Ciencias Médicas*, 16(3), 64–67.
- CDC. (2003). *Guidelines for Laboratory Testing and Result Reporting of Antibody to Hepatitis C Virus* (No. Vol. 52 / No. RR-3; MMWR Recommendations and Reports). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5203a1.htm?utm_source=

CDC. (2025, febrero 21). *Hepatitis C Prevention and Control*. Hepatitis C.

<https://www.cdc.gov/hepatitis-c/prevention/index.html>

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2010). *EP28-A3c: Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory* (No. CLSI EP28-A3c).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

<https://clsi.org/shop/standards/ep28/>

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2011). *EP24-A2: Assessment of the diagnostic accuracy of laboratory tests using receiver operating characteristic curves; approved guideline—Second edition* (No. CLSI EP24-A2). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 16 de abril de 2025.

<https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep24/>

Coalition for Global Hepatitis Elimination (CGHE). Country Data Profile: Costa Rica.

(2022). CGHE. <https://www.globalhep.org/data-profiles/countries/costa-rica>

Cohen, J. F., Korevaar, D. A., Altman, D. G., Bruns, D. E., Gatsonis, C. A., Hooft, L., Irwig, L., Levine, D., Reitsma, J. B., de Vet, H. C. W., & Bossuyt, P. M. M. (2016).

STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: Explanation and elaboration. *BMJ Open*, 6(11), e012799. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-012799>

Corrales-Rodríguez, L. A., Soto-Rodríguez, A., Echeverri-McCandless, A., Porras-

Peñaranda, J., Alfaro-Alcocer, Eduardo, Sauma-Rodríguez, J., & Sanabria-Castro, A.

(2022). CARCINOMA HEPATOCELULAR EN COSTA RICA: INCIDENCIA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE PACIENTES DIAGNOSTICADOS EN LOS HOSPITALES DE TERCER NIVEL DE ATENCIÓN DE LA SEGURIDAD

SOCIAL. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*, 16(1), 1–14.

<https://doi.org/10.15517/rmucr.v16i1.50834>

- Datta, P. (2008). Interference of Heterophilic and Other Antibodies in Measurement of Therapeutic Drugs by Immunoassays. En A. Dasgupta (Ed.), *Handbook of Drug Monitoring Methods* (pp. 225–233). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-031-7_12
- Di Stasio, D., Guida, A., Romano, A., Petruzzi, M., Marrone, A., Fiori, F., & Lucchese, A. (2024). Hepatitis C Virus (HCV) Infection: Pathogenesis, Oral Manifestations, and the Role of Direct-Acting Antiviral Therapy: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, 13(14), 4012. <https://doi.org/10.3390/jcm13144012>
- Echevarria-Lima, J., & Moles, R. (2024). Monocyte and Macrophage Functions in Oncogenic Viral Infections. *Viruses*, 16(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/v16101612>
- Global hepatitis report 2024: Action for access in low- and middle-income countries*. (2024, abril 9). World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240091672>
- Goonawardane, N., Yin, C., Roberts, G. C., Zothner, C., & Harris, M. (2025). A key role for hepatitis C virus NS5A serine 225 phosphorylation revealed by super-resolution microscopy. *Scientific Reports*, 15(1), 9567. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-93812-w>
- GraphPad Software, LLC. (2024). *GraphPad Prism* (Versión 9.4.1) [Software]. GraphPad Software, LLC.

- Hajian-Tilaki, K. (2013). Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 4(2), 627–635.
- Hartlage, A. S., & Kapoor, A. (2021). Hepatitis C Virus Vaccine Research: Time to Put Up or Shut Up. *Viruses*, 13(8), 1596. <https://doi.org/10.3390/v13081596>
- Hassanzad, M., & Hajian-Tilaki, K. (2024). Methods of determining optimal cut-point of diagnostic biomarkers with application of clinical data in ROC analysis: An update review. *BMC Medical Research Methodology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12874-024-02198-2>
- Izumida, K., & Morita, E. (2024). The roles of HCV core protein and its binding host factor in virus assembly and release. *Frontiers in Virology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fviro.2024.1383261>
- Jiang, X., Chang, L., Yan, Y., Ji, H., Sun, H., Guo, F., & Wang, L. (2021). A study based on four immunoassays: Hepatitis C virus antibody against different antigens may have unequal contributions to detection. *Virology Journal*, 18. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01608-x>
- Kesli, R., Ozdemir, M., Kurtoglu, M., Baykan, M., & Baysal, B. (2009). Evaluation and Comparison of Three Different Anti-Hepatitis C Virus Antibody Tests based on Chemiluminescence and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Methods used in the Diagnosis of Hepatitis C Infections in Turkey. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1420–1429. <https://doi.org/10.1177/147323000903700516>

- Kirişçi, Ö., & Caliskan, A. (2019). Threshold value of the anti-HCV test in the diagnosis of HCV infection. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *13*(10), 914–919.
<https://doi.org/10.3855/jidc.11657>
- LabcoreSoft™. (2016). *Labcore™* [Sistema informático de laboratorio (LIS)].
<https://www.labcoresoft.com>
- Laurido, M. (2018). *Hepatitis virales: Revisión clínica y epidemiológica*. Ediciones Journal.
<https://bookshelf.vitalsource.com/reader/books/9789873954863/pageid/28>
- Le, D. H. H., Kanokudom, S., Nguyen, H. M., Yorsaeng, R., Honsawek, S., Vongpunsawad, S., & Poovorawan, Y. (2024). Hepatitis C Virus—Core Antigen: Implications in Diagnostic, Treatment Monitoring and Clinical Outcomes. *Viruses*, *16*(12), 1863.
<https://doi.org/10.3390/v16121863>
- Leiva-Hidalgo, J., Madrigal-Méndez, A., & Salas-Segura, D. (2013). Seroprevalencia de hepatitis B, C y VIH en indigentes en Costa Rica. *Revista Costarricense de Salud Pública*, *22*(2), 113–118.
- Li, H.-C., Yang, C.-H., & Lo, S.-Y. (2021). Cellular factors involved in the hepatitis C virus life cycle. *World Journal of Gastroenterology*, *27*(28), 4555–4581.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i28.4555>
- Liu, C.-H., & Kao, J.-H. (2023). Acute hepatitis C virus infection: Clinical update and remaining challenges. *Clinical and Molecular Hepatology*, *29*(3), 623–642.
<https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0349>
- Liu, W., Long, X., Chen, L., & Yang, K. (2024). Attention should be paid to false-positive results due to heterophilic antibodies interfering with Abbott high-sensitivity cardiac

troponin I assay. *Journal of Laboratory Medicine*, 48(3), 137–140.

<https://doi.org/10.1515/labmed-2023-0131>

Lluís Carrasco, J., & Jover, L. (2004). Métodos estadísticos para evaluar la concordancia.

Medicina Clínica, 122(Supl.1), 28–34. <https://doi.org/10.1157/13057543>

Mahajan, S., Agarwal, R., Rawat, V., Kumar, G., Sharma, M. K., & Gupta, E. (2019).

Comparative evaluation of three rapid immunochromatographic test assays with chemiluminescent microparticle immunoassay for the detection of hepatitis C virus antibody. *VirusDisease*, 30(3), 373–379. <https://doi.org/10.1007/s13337-019-00542-5>

Martineau, C.-A., Rivard, N., & Bisailon, M. (2024). From viruses to cancer: Exploring the

role of the hepatitis C virus NS3 protein in carcinogenesis. *Infectious Agents and Cancer*, 19, 40. <https://doi.org/10.1186/s13027-024-00606-2>

Martinez, M. A., & Franco, S. (2021). Therapy Implications of Hepatitis C Virus Genetic

Diversity. *Viruses*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/v13010041>

Mazzilli, S., Aslam, M. K., Akhtar, J., Miazek, M., Wailly, Y., Hamid, S., Shilton, S.,

Donchuk, D., De Glanville, W. A., & Isaakidis, P. (2024). Usability and acceptability of self-testing for hepatitis C virus exposure in a high-prevalence urban informal settlement in Karachi, Pakistan. *BMC Infectious Diseases*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09925-6>

McHugh, M. L. (2012). Interrater reliability: The kappa statistic. *Biochemia Medica*, 22(3),

276–282.

Méndez-Sánchez, N., Coronel-Castillo, C. E., & Ramírez-Mejía, M. M. (2024). Chronic

Hepatitis C Virus Infection, Extrahepatic Disease and the Impact of New Direct-

Acting Antivirals. *Pathogens*, 13(4), 339.

<https://doi.org/10.3390/pathogens13040339>

Metcalf, M. C., Janus, B. M., Yin, R., Wang, R., Guest, J. D., Pozharski, E., Law, M., Mariuzza, R. A., Toth, E. A., Pierce, B. G., Fuerst, T. R., & Ofek, G. (2023).

Structure of engineered hepatitis C virus E1E2 ectodomain in complex with neutralizing antibodies. *Nature Communications*, 14(1), 3980.

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-39659-z>

Moretti, M., Pieretti, B., Masucci, A., Sisti, D., Rocchi, M., & Delprete, E. (2012). Role of Signal-to-Cutoff Ratios in Hepatitis C Virus Antibody Detection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(8), 1329–1331. <https://doi.org/10.1128/cvi.00175-12>

MP Biomedicals. (2019). *HCV Blot 3.0 Assay Manual* (No. DX092019).

<https://www.mpbio.com/media/document/file/manual/dest/d/x/0/9/2/DX092019-ES-HCV-Blot-3.0-CE-0711130-Manual.pdf>

MP Diagnostics. (2016). *HCV BLOT 3.0: Instrucciones de uso* (Nos. DX092019-ES-HCV-Blot-3.0-CE-0711130). MP Biomedicals.

Njiomegnie, G. F., Read, S. A., Fewings, N., George, J., McKay, F., & Ahlenstiel, G. (2020). Immunomodulation of the Natural Killer Cell Phenotype and Response during HCV Infection. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4), 1030.

<https://doi.org/10.3390/jcm9041030>

Panagiotakopoulos, L. (2023). CDC Recommendations for Hepatitis C Testing Among Perinatally Exposed Infants and Children—United States, 2023. *MMWR. Recommendations and Reports*, 72. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr7204a1>

- Petruzzello, A., Marigliano, S., Loquercio, G., Cozzolino, A., & Cacciapuoti, C. (2016). Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology*, 22(34), 7824–7840. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i34.7824>
- Pondé, R. A. D. A. (2025). Detection of anti-HCV antibodies in the clinical classification and epidemiological surveillance of HCV infection. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 730. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10827-2>
- Roy-García, I. A., Paredes-Manjarrez, C., Moreno-Palacios, J., Rivas-Ruiz, R., & Flores-Pulido, A. A. (2023). Curvas ROC: Características generales y su uso en la práctica clínica. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 61(Suppl 3), S497–S502. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8319791>
- Sanchez Orozco, L., Jesus García Bañuelos, Armendáriz Borunda, J., & Fernández Galindo, D. (2016). Bases moleculares de la hepatitis C. En *Biología molecular: Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud* (2.^a edición, pp. 243–248). McGraw-Hill Interamericana.
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=124156877&bookid=1803>
- Santini, A., & Eaton, K. (2022). *An Introduction to Clinical Research for Health and Social Care Professionals*. Estados Unidos: AuthorHouse UK. AuthorHouse UK.
- Santini, A., Man, A., & Voidăzan, S. (2020). Accuracy of Diagnostic Tests. *The Journal of Critical Care Medicine*, 7(3), 241–248. <https://doi.org/10.2478/jccm-2021-0022>

- Sookoian, S., & Castaño, G. (2002a). Evaluation of a third generation anti-HCV assay in predicting viremia in patients with positive HCV antibodies. *Annals of Hepatology*, *1*(4), 179–182. [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)32163-5](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)32163-5)
- Sookoian, S., & Castaño, G. (2002b). Evaluation of a third generation anti-HCV assay in predicting viremia in patients with positive HCV antibodies. *Annals of Hepatology*, *1*(4), 179–182. [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)32163-5](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)32163-5)
- Velez-Moller, P. (2017). Estado actual de la epidemiología, diagnóstico, tratamiento y control de la hepatitis C. *Ciencia, Tecnología y Salud*, *4*(1), Article 1. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i1.251>
- Walker, M. R., Leung, P., Keoshkerian, E., Pirozyan, M. R., Lloyd, A. R., Luciani, F., & Bull, R. A. (2025). *Temporal dynamics of viral fitness and the adaptive immune response in HCV infection*. <https://doi.org/10.7554/eLife.102232.2>
- Warkad, S. D., Song, K.-S., Pal, D., & Nimse, S. B. (2019). Developments in the HCV Screening Technologies Based on the Detection of Antigens and Antibodies. *Sensors*, *19*(19), 4257. <https://doi.org/10.3390/s19194257>
- Woo, J., & Choi, Y. (2024). Biomarkers in Detection of Hepatitis C Virus Infection. *Pathogens*, *13*(4), 331. <https://doi.org/10.3390/pathogens13040331>
- World Health Organization. (2019). *Immunoassays to detect HCV antibody and/or antigen*. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/327936>
- World Health Organization. (2022). *Policy Brief: Updated Recommendations on HCV Simplified Service Delivery and HCV Diagnostics*. World Health Organization. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/357086/9789240052697-eng.pdf?sequence=1>

- World Health Organization. (2025, julio 25). *Hepatitis C*. World Health Organization.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
- Xu, T., Wang, J., & Fang, Y. (2014). A model-free estimation for the covariate-adjusted Youden index and its associated cut-point. *Statistics in Medicine*, 33(28), 4963–4974. <https://doi.org/10.1002/sim.6290>
- Zhang, K., Wang, L., Lin, G., & Li, J. (2015). Is Anti-Hepatitis C Virus Antibody Level an Appropriate Marker to Preclude the Need for Supplemental Testing? *Intervirology*, 58(5), 310–317. <https://doi.org/10.1159/000441474>
- Zilouchian, H., Faqah, O., Kabir, M. A., Gross, D., Pan, R., Shaifman, S., Younas, M. A., Haseeb, M. A., Thomas, E., & Asghar, W. (2025). Current and Future Diagnostics for Hepatitis C Virus Infection. *Chemosensors*, 13(2), 31.
<https://doi.org/10.3390/chemosensors13020031>