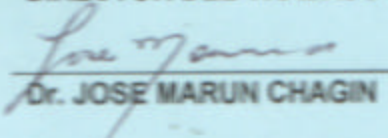
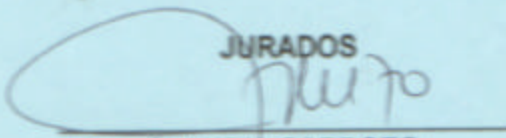
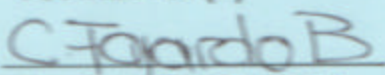
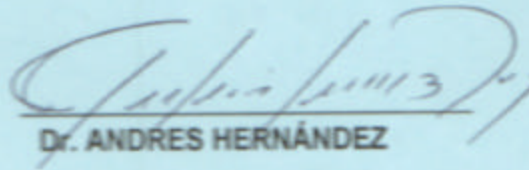
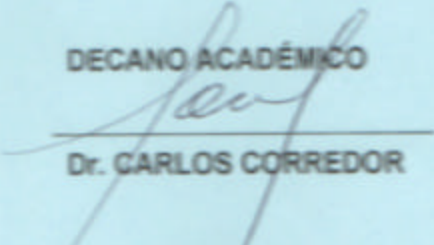
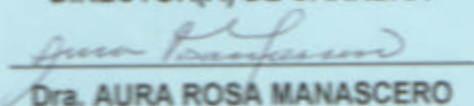


DETERMINACIÓN DEL ANTICUERPO CONTRA EL ANTÍGENO CORE DE TIPO IgM EN SUEROS INCONCLUYENTES Y REACTIVOS PARA CORE TOTAL DEL VHB TOMADOS DE LA SEROTECA DEL BANCO DE SANGRE DE LA CRUZ ROJA COLOMBIANA SEDE NACIONAL .

**AUTOR (ES): JACKELINE GARCIA
PAOLA MARTINEZ**

APROBADO:

DIRECTOR DEL TRABAJO  Dr. JOSE MARUN CHAGIN	JURADOS  Dra. CLAUDIA CARDOZO
CODIRECTOR(A)  Dra. CLAUDIA FAJARDO	 Dr. ANDRÉS HERNÁNDEZ
DECANO ACADÉMICO  Dr. CARLOS CORREDOR	DIRECTOR(A) DE CARRERA  Dra. AURA ROSA MANASCERO

**DETERMINACION DEL ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO CORE DE
TIPO IgM EN SUEROS INCONCLUYENTES Y REACTIVOS PARA CORE
TOTAL DEL VHB TOMADOS DE LA SEROTECA DEL BANCO DE
SANGRE DE LA CRUZ ROJA COLOMBIANA SEDE NACIONAL.**

**PRESENTADO POR: JACKELINE GARCIA
PAOLA MARTÍNEZ**

**DIRECTOR: Dr. JOSE MARUN CHAGIN
CODIRECTOR: Dra. CLAUDIA FAJARDO**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS. BACTERIOLOGIA
SANTA FE DE BOGOTA**

**DETERMINACIÓN DEL ANTICUERPO CONTRA EL ANTÍGENO CORE DE
TIPO IgM EN SUEROS INCONCLUYENTES Y REACTIVOS PARA CORE
TOTAL DEL VHB TOMADOS DE LA SEROTECA DEL BANCO DE
SANGRE DE LA CRUZ ROJA COLOMBIANA SEDE NACIONAL .**

**AUTOR (ES): JACKELINE GARCIA
PAOLA MARTINEZ**

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar el título de
BACTERIÓLOGA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS. BACTERIOLOGIA
SANTA FE DE BOGOTA**

NOTA DE ADVERTENCIA

**ARTICULO 23 DE LA RESOLUCIÓN No 13 DE JULIO DE 1964:
“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por
sus alumnos en sus trabajos de grado”**

RESUMEN

Con este estudio queremos determinar la infectividad para el virus de la hepatitis B (HVB) en unidades de sangre. Se realizó un estudio descriptivo (estudio y reporte de casos), que incluyó 92 muestras de donantes altruistas del Banco de sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional, recolectados en período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio de 2000 en forma aleatoria cuyos resultados para las pruebas de HBsAg fueran negativos y para el anti-HBc total fueran reactivos o inconcluyentes.

Además de esto se tuvo en cuenta que los mismos fueran negativos para las restantes pruebas de rutina como sífilis, chagas, HIV tipo 1 y 2 y HVC. (20)

Todas los sueros se recolectaron y manejaron con extremado cuidado para evitar contaminación durante todo el proceso. Todos los sueros fueron probados para HBsAg y anti-HBc total por el laboratorio Organon Teknika en el Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional. Posteriormente fueron almacenados a -37 grados en el Banco de Sangre hasta su procesamiento. El procesamiento de las muestras se realizó teniendo en cuenta las variables que ayudarían a cumplir con los objetivos del estudio. Los sueros se sacaron de -37 grados y se llevaron a la nevera para ser atemperados a 7 grados y posteriormente llevados a temperatura ambiente luego se centrifugaron y se probaron para anti-HBc IgM empleando dos casas comerciales: Laboratorio A y Laboratorio B encontrándose resultados reproducibles sólo por el laboratorio A donde se encontraron dos sueros reactivos y uno inconcluyente para el marcador anti-HBc IgM, con una prevalencia del 3.2% que representa la posibilidad de transmitir el virus de cada 100 unidades transfundidas, donde el 98% se cura y el 2% se cronifica y se vuelve cirrosis o cáncer hepático, y ochenta y nueve sueros con resultados negativos para éste marcador, con una prevalencia de 96.7% Esto indica un mayor porcentaje de sueros que no se encuentran en

infección aguda, es decir, que son serológicamente infectantes de ésta forma se mejora la calidad de la medicina transfusional y se evita el contagio y propagación de la enfermedad.

El presente estudio confirma y ofrece hallazgos importantes en el significado que tiene el core total en los bancos de sangre en Colombia y el impacto que tiene desde el punto de vista epidemiológico para tomar medidas en el País, empezando por establecer esta prueba como obligatoria mediante el decreto 1571 de 1993 ya que estamos en zona endémica para el VHB, VHD y VIH.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	
1. GENERALIDADES DE LAS HEPATITIS VIRALES	7
1.1 HISTORIA DE LA HEPATITIS	7
1.1.2 HEPATITIS VIRAL A	9
1.1.3 HEPATITIS VIRAL D	10
1.1.4 HEPATITIS VIRAL C	11
1.1.5 HEPATITIS VIRAL E	12
1.2 EPIDEMIOLOGÍA DEL HBV	15
1.2.1 DESCRIPCIÓN DEL EVENTO	15
1.2.2 CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA	16
1.2.3 GENERALIDADES	16
1.2.4 MODO DE TRANSMISIÓN	17
1.2.5 DEFINICIONES OPERATIVAS	19
1.2.5.1 CASO PROBABLE	19
1.2.5.2 CASO CONFIRMADO	19
1.2.5.3 PORTADOR	19
1.2.5.4 HEPATITIS B CRÓNICA	19
1.2.5.5 CASO COMPATIBLE	19
1.2.6 FUENTES DE INFORMACIÓN	19
1.2.7 INTERVENCIONES	20
1.2.7.1 INDIVIDUAL	20
1.2.7.2 COLECTIVA	23
1.2.8 INDICADORES	25
1.3 HEPATITIS VIRAL B	26
1.3.1 DESCUBRIMIENTO Y NATURALEZA DE FORMAS	26

VIRALES EN LA SANGRE	26
1.3.2 AGENTE ETIOLÓGICO	27
1.3.3 ESTRUCTURA DEL VIRUS	28
1.3.3.1 ANTIGENO DE SUPERFICIE (HBsAg)	28
1.3.3.2 CORE	29
1.3.3.3 ANTIGENO E	29
1.3.3.4 DNA VIRAL	29
1.3.4 ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA	30
1.3.4.1 GEN S	31
1.3.4.2 REGION S (REGION GENETICA MAYOR)	31
1.3.4.3 REGION PRE- S1	32
1.3.4.4 REGION PRE- S2	32
1.3.4.5 REGION C (MARCO DE LECTURA ABIERTO)	32
1.3.4.6 REGION P (MARCO DE LECTURA ABIERTO MAYOR)	33
1.3.4.7 REGIÓN X (MARCO DE LECTURA ABIERTO MÁS PEQUEÑO)	33
1.3.5 CICLO VITAL.	34
1.3.6 EXPRESION GENETICA DE VHB	35
1.3.6.1 ELEMENTOS REGULADORES QUE ACTUAN EN FORMA CIS	35
1.3.6.2 PROTEINA VIRAL QUE ACTUA EN FORMA TRANS	35
1.3.6.3 REPLICACIÓN DEL GENOMA DEL VHB	35
1.3.6.4 SINTESIS DEL DNA DEL VHB	36
1.3.7 PATOGÉNESIS E INMUNIDAD	38
1.3.7.1 CURSO CLINICO Y SEROLÓGICO	40
1.4 PATRONES SEROLÓGICOS HEPATITIS AGUDA Y CRÓNICA	41
1.4.1 INFECCIÓN SUBCLÍNICA Y CLÍNICA AUTOLIMITADA.	41
1.4.2 PATRON SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA	42
1.4.2.1 INDICACIONES DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS	43

1.4.2.2	PERFILES DE DIAGNOSTICO	44
1.4.2.3	INFECCIÓN AGUDA	44
1.4.2.4	ESTADO INMUNITARIO	44
1.4.2.5	ESTADO INFECTIVO	44
1.4.2.6	REPLICACIÓN VIRAL	44
1.4.2.7	ESTUDIOS DE EVOLUCIÓN	45
1.4.3	HEPATITIS B AGUDA	45
1.4.3.1	HEPATITIS INAPARENTE O ASINTOMÁTICA	45
1.4.3.2	HEPATITIS ANICTÉRICA	45
1.4.3.3	HEPATITIS ICTÉRICA	45
1.4.3.4	HEPATITIS COLESTÁSICA	46
1.4.3.5	HEPATITIS SUBAGUDA	46
1.4.3.6	HEPATITIS FULMINANTE	46
1.5	HEPATITIS CRÓNICA B	47
1.5.1	FASES	48
1.5.1.1	FASE REPLICATIVA	48
1.5.1.2	FASE NO REPLICATIVA	48
1.5.2	CARACTERÍSTICAS DE LA HBV CRÓNICA	49
1.5.3	ESTUDIO DE LA INFECCIÓN POR HBV	50
1.5.4	INTERPRETACIÓN DE LOS MARCADORES SEROLÓGICO DE HVB	50
2.	DISEÑO EXPERIMENTAL	54
2.1	TIPO DE ESTUDIO	54
2.2	POBLACIÓN	54
2.3	TIPO DE MUESTRA.	54
2.3.1	RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	55
2.4	DETERMINACIÓN DEL MARCADOR ANTI-HBc IgM PARA VHB.	55
2.5	ELISA	56

2.5.1	ELISAS USADAS EN EL ESTUDIO	56
2.5.1.1	LABORATORIOS B	56
2.5.1.2	LABORATORIOS A	57
2.6	CUTOFF (PUNTO DE CORTE O LÍMITE DE REACTIVIDAD)	57
2.7	CATEGORIAS	59
2.8	PLAN DE ANÁLISIS	59
3.	RESULTADOS	60
3.1	PREVALENCIA DEL MARCADOR anti- HBc IgM	60
3.1.1.	Anti –HBc IgM	65
4.	DISCUSIÓN	67
5.	CONCLUSIONES	70
6.	RECOMENDACIONES	73
	BIBLIOGRAFÍA	

LISTA DE TABLAS

	Pág
TABLA #1 Virus Humanos Causantes de Hepatitis.	8
TABLA #2 Características de las hepatitis virales .	14
TABLA # 3 Interpretación de los marcadores serológicos del VHB para la clasificación de caso.	22
TABLA # 4 Marcadores serológicos del VHB.	39
TABLA # 5. Características de la hepatitis B aguda.	47
TABLA #6 Características de la hepatitis B crónica.	49
TABLA # 7 Estudio de la unidad de sangre para el VHB.	53
TABLA # 8 Confirmación y reporte de la prueba de Anti- core de donantes de sangre .	53
TABLA # 9 Prevalencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio A y B.	60
TABLA# 10 Frecuencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio A.	62
TABLA # 11 Frecuencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio B.	64
TABLA # 12 Distribución porcentual para el patrón serológico por las dos casa comerciales.	65
TABLA # 13 Reactividad según sexo y laboratorio empleado.	66

LISTA DE FIGURAS

	Pág
FIGURA # 1 Evolución de los marcadores serológicos de la infección por el VHB.	23
FIGURA #2 Representación esquemática del VHB.	28
FIGURA # 3 Esquema genético del VHB.	30
FIGURA # 4 Ciclo vital del VHB.	34
FIGURA # 5 Síntesis del DNA del VHB.	37
FIGURA # 6 Curso clínico del VHB.	40
FIGURA # 7 Curso serológico de la infección aguda.	41
FIGURA # 8 Curso serológico de la infección crónica	42
FIGURA # 9 Infección crónica patrones serológicos.	43
FIGURA # 10 Fases del VHB.	49
FIGURA # 11 Prevalencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio A y B.	Anexo 1
FIGURA # 12 Frecuencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio A	62
FIGURA # 13 Frecuencia para el marcador Anti- HBc IgM laboratorio A.	65
FIGURA # 14 Distribución porcentual para el patrón serológico por las dos casas comerciales.	Anexo 2
FIGURA # 15 Reactividad según sexo y laboratorio empleado	Anexo 3

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales efectos adversos en las transfusiones, es la transmisión de infecciones, el riesgo de adquirirlas varía de acuerdo a la prevalencia en la población donadora. Para tal fin se han establecido pruebas de laboratorio obligatorias a realizar en toda unidad de sangre, las cuales son mencionadas en decreto 1571 de 1993 y corresponden a: Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y 2 (HIV 1-2), Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (AgSHB), Virus de la hepatitis C (HVC) y Sífilis. Por otro lado, según la prevalencia regional, deben ser realizadas pruebas adicionales a las citadas anteriormente, con el fin de ser ajustados a las necesidades de cada zona; es por esto que la resolución No. 001738 del 30 de mayo de 1995, decreta la realización de la prueba para *Tripanosoma cruzi* (Chagas). (20)

En donantes de sangre manifiestamente sanos de diferentes partes del mundo se han encontrado grandes variaciones de la prevalencia del antígeno de la hepatitis B. La prevalencia varía también con factores tales como la posición social y económica y el sexo del donante, que la donación sea voluntaria o remunerada y que el donante viva en su casa o en una institución. El antígeno se ha detectado más frecuentemente en varones de los grupos más jóvenes. (21)

Con este estudio queremos determinar la infectividad para el virus de la hepatitis B (HVB) en unidades de sangre. Se realizó un estudio descriptivo (estudio y reporte de casos), que incluyó 92 muestras de donantes del Banco de sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional, cuyas características fueron ser reactivos o inconcluyentes para Anti HBc y negativos para el AgSHB; las cuales fueron probadas para Anti HBc IgM, empleando dos

laboratorios diferentes con el fin de ver aquellas muestras que representan un alto riesgo transfusional y aquellas que no son serológicamente infectantes.

OBJETIVO GENERAL

Determinar por medio del anticuerpo contra el antígeno Core de tipo IgM el grado de infectividad, cuando el HBsAg es no reactivo y el anticuerpo contra el antígeno Core total es reactivo o inconcluyente, teniendo en cuenta que los mismos fueran negativos para las demás pruebas de tamizaje como sífilis, chagas, VIH tipo 1 y 2, y HVC en 92 sueros tomadas de la Seroteca del Banco de Sangre de la Cruz Roja Sede Nacional, en un período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio del 2000 analizando los resultados para una segunda entrada de posibles donantes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Determinar a las 92 muestras el anticuerpo contra el antígeno core de tipo IgM mediante una técnica de Elisa usando dos casas comerciales.

-Obtener el porcentaje de muestras que representan un alto riesgo transfusional y aquellas que no son serológicamente infectantes.

-Analizar el anticuerpo contra el antígeno core de tipo IgM en aquellas posibles muestras que representan una reacción no específica en el estudio, es decir, las muestras que no están dentro de los valores del cut off.

-Establecer la importancia que tiene el uso del anti-HBc total en todos los Bancos de Sangre en Colombia, dado que éste es un país endémico para el VHB e implementarlo como prueba obligatoria mediante el decreto 1571 de 1993.

ANTECEDENTES

ANTECEDENTE NACIONAL

Presencia de Anti-HBc en donantes de sangre en zonas con alta endemicidad para Hepatitis B: González Vargas Yohanna María. Santa fe de Bogotá. D. C. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 1998. El objeto de este estudio fue determinar la infectividad para HB en unidades de sangre con único marcador reactivo para anticuerpo contra antígeno central del HBV (Anti HBc). Se realizó un estudio descriptivo transversal, que incluyó un total de 138 sueros correspondientes a la población de donantes del Banco de Sangre Cruz Roja sede del Cesar, en el período entre septiembre y octubre de 1997; caracterizados por la presencia de Anti-HBc en ausencia de HBsAg. Estos fueron probados para cinco marcadores de HBV (anti-HBc, AgHBe, anti-HBcIgM, anti-HBe, anti-HBs) mediante dos laboratorios; encontrándose 130 sueros reactivos para cualquiera de los marcadores del HBV, con una prevalencia de 94.2% y 8 sueros con resultados negativos para cualquiera de los marcadores del HBV, con una prevalencia de 5.79%. No se encontraron resultados discrepantes. La totalidad de la población muestra una alta prevalencia para los marcadores serológicos de HBV (93.48%). Los resultados muestran que la mayoría de los donantes fueron positivos para anti - HBc, seguido por anti-HBs (en altos títulos), anti-HBe y en una mínima proporción anti - HBc IgM, en ausencia de HBsAg y HBeAg. Los patrones observados en la investigación, excepto los cuatro casos positivos para anti-HBcIgM, corresponden a donantes serológicamente no infecciosos y por tanto no representan riesgo alguno en términos transfusionales.

ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Desarrollo de un ensayo enzimático para la determinación de anticuerpos IgM anti- cápside del HBV. Uzcátegui Natalie, Flores José, Liprandi Ferdinando. Investigación clínica. Venezuela 1998. La determinación antiHBc IgM del HBV es de gran utilidad para la identificación de infecciones agudas por este virus. El objeto de éste estudio fue el de desarrollar un sistema inmunodiagnóstico para la detección de anticuerpos IgM Anti-AgchB. Para la realización del ensayo fue necesaria la producción del AgchB recombinante expresado en Escherichia coli. Una vez obtenido y purificado el antígeno se procedió a estandarizar y evaluar el ensayo. Un Elisa sándwich de captura resultó ser el óptimo para la detección de anticuerpos anti- HBcIgM. Se realizó entonces la evaluación de 110 sueros humanos a través de dos ensayos inmunodiagnósticos, el inmunoensayo diagnóstico desarrollado y un estuche comercial. El inmunoensayo desarrollado arrojó una alta sensibilidad (99%) y especificidad (93%) al compararlo con el estuche comercial. Los resultados obtenidos permitieron evidenciar la utilidad del sistema de determinación de anticuerpos IgM anti-HBcAg como marcador serológico de una infección causada por el HBV, en particular en áreas de Sur América.

1. GENERALIDADES DE LAS HEPATITIS VIRALES

1.1 HISTORIA DE LA HEPATITIS

La Hepatitis viral es una de las enfermedades más antiguamente reconocidas. El descubrimiento de Blumberg Et del antígeno Australia y su posterior asociación con la hepatitis vírica B; la pasada década trajo consigo el desarrollo de una nueva era en la investigación de la Hepatitis vírica. Este avance permitió el desarrollo de múltiples técnicas serológicas y de inmunomicroscopía electrónica que no solo han ayudado a definir la epidemiología de la Hepatitis tipo A y tipo B, sino que han revelado la existencia de otros virus. (1)

Históricamente la ictericia fue descrita unos 500 años a.c. en la civilización babilónica y en los escritos hipocráticos, 400 años a.c., se registraron epidemias de ictericia que sin embargo no se consideraron como infecciosas. (2)

La difusión de la idea que la necrosis hepatocelular y la ictericia eran producidos por una infección y no por una obstrucción de los conductos biliares, se produjo en el siglo XX y se estableció en forma clara hasta la segunda guerra mundial con los estudios en voluntarios humanos. A demás, aunque numerosas epidemias de hepatitis aparecían tras inyecciones administradas a pacientes con enfermedades venéreas o en clínicas para diabéticos o tras la vacunación contra viruela, sarampión o fiebre amarilla, las jeringas y agujas contaminadas no fueron implicadas como una fuente de infección hasta 1943. Durante la segunda guerra mundial, observaciones epidemiológicas establecieron la diferencia en el periodo de incubación y existencia de inmunidad heteróloga entre la Hepatitis vírica e infecciosa.(1)

El descubrimiento de un marcador serológico par la Hepatitis de larga duración (hepatitis B) fue un hallazgo casual en 1963, mientras se

estudiaban sueros de pacientes politransfundidos para determinarse si se desarrollaban anticuerpos contra proteínas séricas polifórmicas.

Hoy en día se reconocen siete (7) tipos de virus bien caracterizados los cuales pueden causar hepatitis de forma primaria, virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis D (VHD), virus de la hepatitis E (VHE), virus de la hepatitis G (VHG) y virus de la hepatitis TT(VHTT) (3).

TABLA # 1 VIRUS HUMANOS CAUSANTES DE HEPATITIS

	VHA	VHB	VHC	VHD	VHE	VHG	VHTT
GENOMA	RNA	DNA	RNA	RNA	RNA	RNA	DNA
ESTRUCTURA GENOMICA	s. LINEAL	d. CIRCULAR	s. LINEAL	s. CIRCULAR	S. LINEAL	C.S	C.S
TAMAÑO	7.5 kb	3.2 kb	10 kb	1.8 kb	7.5 kb	9.4 kb	3.9 kb
POLARIDAD	positiva	Positiva / Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Positiva/ Negativa	-----
ORIGEN	Poliproteína precursora	Transcritos subgenómicos	Poliproteína precursora	m RNA antígenómico	m RNAS poliproteína precursora	-----	-----
N° PROTEINAS	11	4	7	2	?	9500 nucleotidos	
CLASIFICACION	Picornavirus	Hepadnavirus	Flavivirus	(Satélite)	(calcivirus)	flavivirus	
S: CADENA SENCILLA							
D: CADENA DOBLE							

En 1990 se describieron 10 casos de hepatitis, los cuales fueron denominadas hepatitis G. Esta variante fue seguida por hepatitis crónica y cirrosis en una proporción significativa de casos, presuntamente asociados a una viremia persistente.(3)

Por otro lado se encuentran virus que producen una hepatitis secundaria y entre los cuales se encuentran varios herpesviridae (citomegalovirus, herpes hominis, Epstein Barr). Varios miembros de la familia picornaviridae, arnavirus (fiebre de caxa) virus de narbuos, virus Ebda y agente de la fiebre del valle del rift o hepatitis enzoótica. (4)

1.1.2 HEPATITIS VIRAL A

El virus de la hepatitis A , es un agente perteneciente a la familia picornaviridae, genero hepadnavirus. Se caracteriza por un genoma de tipo RNA de cadena sencilla, cápside, proteínica de simetría icosaédrica y ausencia de envoltura lipídica, Esto último le da la resistencia a condiciones ambientales adversas como los solventes orgánicos, el pH ácido y la desecación. El virus puede permanecer inféctante durante meses en agua o alimentos contaminados. (5)

La infección se trasmite por una vía oro-fecal de persona a persona por aguas o alimentos contaminados con heces de personas infectadas.

Otras formas de transmisión un poco infrecuentes son la transfusional y la sexual. (6)

La distribución de la hepatitis A es mundial, es la más frecuente de las hepatitis en todos los grupos de edad, puede presentarse en brotes epidémicos o en forma esporádica. En los países en vía de desarrollo donde las condiciones son deficientes la infección más frecuente y la mayor parte de la población la adquiere en la infancia, En Colombia el 97% de los adultos sanos tienen evidencia serológica de contacto anterior con el virus.

En los países con mejores condiciones sanitarias la circulación viral es menor y la infección tiende a presentarse a mayor edad.(5)

Las pruebas de laboratorio detectan elevación de las aminotransferasas por encima de 10 veces del valor normal, disminuyendo de nuevo a las 5 semanas, los IgM anti HAV se elevan y sirven de base al diagnóstico.(7)

El virus se encuentra en mínimas cantidades en sangre, heces, requiriendo métodos especiales para su detección. El diagnóstico se hace detectando los anticuerpos neutralizantes que la infección viral desencadena en el sujeto. Los primeros anticuerpos que aparecen son de tipo IgM coincidiendo su aparición con el comienzo de los síntomas que la elevación de las transaminasas en sangre, se detectan de 3 a 6 meses. Algo más tarde aparecen los tipos de IgG y permanecen positivos muchos años por eso el diagnóstico debe realizarse, determinando los IgM específicos. Si la evolución es favorable, la recuperación completa suele ocurrir a las cuatro (4) semanas y nunca se cronifica.(7)

1.1.3 HEPATITIS VIRAL D

El virus de la hepatitis D es un virus defectuoso o incompleto, solo puede infectar aquellas personas que están agudas o crónicamente infectadas por el HBV. Tiene un genoma tipo RNA de cadena única circular (HDV - RNA). Este genoma codifica una única proteína que constituye el antígeno específico del virus (HDAg), el cual se une al HDV - RNA formando la nucleocápside como envoltura, el HDV adopta el HBsAg que circula en exceso en los pacientes infectados por HVB.(5)

El HDV se transmite por las mismas rutas que el HVB. Existen dos patrones de transmisión: en países de baja prevalencia es más frecuente la transmisión parenteral en hemofílicos y consumidores de drogas intravenosas. En regiones con alta prevalencia, predomina la transmisión por contacto directo persona a persona, como contacto sexual.

El HDV puede infectar al hombre en dos formas que difieren en su curso clínico y serológico. La coinfección que es la infección simultánea por HVB y HDV. La sobreinfección es la infección por HDV en un periodo portador, crónico de HVB. Existen tres (3) marcadores detectables por pruebas serológicas HDAg, IgM anti HDV, y anti HDV total. La presencia de cualquiera de ellos confirma el diagnóstico de hepatitis D. (5)

1.1.4 HEPATITIS VIRAL C

El virus de la hepatitis C es un virus reciente, el genoma HVC - RNA consiste en un RNA de cadena única y los componentes de estructura viral distintos al genoma no se conocen, pero se pueden predecir por la secuencia del RNA y por analogías del virus similares. Se cree que el HVC tiene una proteína de nucleocápside y dos (2) glicoproteínas de envoltura (E1 y E2). La mayor parte del genoma codifica péptidos no estructurales. El HVC presenta gran diversidad genética y antigénica. Tiene al menos 6 tipos (genotipos) cada uno de ellos con varios subtipos. (5)

Los mecanismos de contagio descubiertos hasta ahora para el HVC son similares a los de la HVB, pero en la hepatitis C la exposición percutánea con sangre y sus derivados el modo de transmisión más reconocido.

La transmisión sexual ocurre pero con menor eficiencia que para la hepatitis B, también se ha demostrado la transmisión madre a hijo pero es infrecuente (6)

La infección por el HVC tiene distribución mundial. La prevalencia en donantes de sangre en distintas partes del mundo oscila entre 0.3 y 1.6%. En Colombia es inferior al 1%.

Los principales grupos de riesgo para hepatitis C son consumidores de drogas intravenosas, hemofílico, multitransfundidos, hemodializados, contacto sexual con portadores del HVC y personas con promiscuidad sexual. (5)

En las pruebas de laboratorio hay aumento de la concentración de transaminasas pero suelen ser inferiores a los causados por los demás virus, y es muy característico un patrón fluctuante del valor de transaminasas alterándose periodos elevados con otras cifras normales.(7)

La infección por HVC se puede demostrar por detección de anticuerpos (anti - HVC) del genoma viral (HVC - RNA). El anti - HVC suele no estar presente al comienzo de la enfermedad aguda. El momento de su aparición varía entre 4 y 12 semanas por esto es importante repetir el estudio unas semanas después.

La detección del HVC -RNA permite demostrar directamente la existencia de infección actual. Aparece varias semanas antes de la fase aguda y persistente durante todo el curso de la infección, pero puede desaparecer intermitentemente en la fase crónica. (5)

1.1.5 HEPATITIS VIRAL E

El virus de la hepatitis E (HVE) es un agente pequeño no envuelto con un genoma tipo RNA y cápside icosaédrica, tiene un diámetro aproximado de 27 a 34 nm y parece ser más lábil a las condiciones ambientales que el virus de la hepatitis A.(5)

La única forma de transmisión conocida es la oro-fecal. La contaminación de aguas de consumo humano ha sido fuente común de contagio en varios brotes de hepatitis E. Se puede presentar en forma epidémica o esporádica, atacando personas de todas las edades. Es más común en países en vía de desarrollo por sus deficientes condiciones sanitarias. (6)

La mayoría de las infecciones son anictéricas. En los casos sintomáticos el periodo de incubación oscila entre 8 y 9 semanas con promedio de 5. Se manifiesta clínicamente igual a las otras hepatitis.

La evolución es la de una hepatitis aguda sin casos conocidos de cronicidad. Se desconoce si la inmunidad es definitiva o si puede haber reinfección.(5)

El diagnóstico se hace por la detección de virus en materia fecal o por aparición de anticuerpos en el suero, en ambos casos utilizando microscopia inmunoelectrónica.

Más recientemente se han desarrollado pruebas tipo ELISA que permiten determinar la presencia de Anticuerpos IgM o IgG, pero su uso no es todavía generalizado. (7)

En general estos tipos de hepatitis son principalmente hepatotrópicas y el cuadro clínico inicial es similar, pero difieren en su etiología y algunas características epidemiológicas, inmunológicas y patológicas.

El hecho de que todos los agentes etiológicos, anteriormente mencionados, pueden producir hepatitis primaria, clínicamente son indistinguibles una de otra, por lo que el diagnóstico de laboratorio se hace indispensable (tabla2)

Tabla # 2 CARACTERISTAS DE LAS HEPATITIS VIRALES

	HVA	HVB	HVC	HVD	HVE
FORMA DE TRANSMISION	Oro - fecal Parenteral	Parenteral Vertical Horizontal Sexual	Percutánea Sexual	Percutánea	Oro-fecal
PERIODO DE INCUBACIÓN	15 a 50 días	60 a 110 días	35 a 70 días	Comparable con HVB	10 a 56 días
RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN Ag -Ac EN SUERO	IgM en fase temprana e IgG en convalecencia	HBsAg y aparece tempranamente y persiste en portadores	Anti - HVC aparecen a los seis meses	Anti - HVD aparecen tempranamente y duran muy poco	Desconocido
INMUNIDAD	45% de población posee anticuerpos contra VHA	5 -10% de población posee anticuerpos contra HVB	Desconocido	Las personas inmunes contra HVB también lo son para HVD	Desconocida
FRECUENCIA	En adultos y niños. Estacional Estación lluviosa en trópico	En Colombia del 1 - 10.5%	Igual que HVB	80 - 90% de hepatitis postransfusional y 12 -25% de las esporádicas	Rara en Colombia epidérmica en Asia
EVOLUCION	Cronicidad no descrita	5 -10% desarrollan cronicidad	50% desarrollan cronicidad	Variable	No evoluciona a hepatopatía crónica
MORTALIDAD	0 -0.2%	6 - 36%	Desconocida	2 - 25% para la hepatitis icterica	1 - 2% y en embarazadas del 10 -15%

* Límites máximos. Basado en JARAMILLO C. Enfermedades virales del tracto gastrointestinal y sus órganos relacionados. Medellín: CIB, 1996 Pág 556b BOT control de enfermedades transmisibles. Decimosexta edición . Washington D.C.: OPS,1997. Pág 234 - 235.

1.2 EPIDEMIOLOGÍA DEL HBV

1.2.1 DESCRIPCIÓN DEL EVENTO

El término hepatitis describe una inflamación del hígado que puede ser de origen reciente o no y tener varias causas, siendo la más frecuente la infección viral causada por lo menos por siete virus bien caracterizados que le dan el nombre al evento.

Dentro de estos está la hepatitis B, la cual se caracteriza por un amplio espectro de manifestaciones que varían desde formas asintomáticas que pasan desapercibidas, enfermedad subaguda con síntomas inespecíficos (anorexia, molestias abdominales vagas, náuseas, vómito) o síntomas extrahepáticos (artralgias, artritis o erupciones maculares), hepatitis clínica o aguda con ictericia y hepatitis crónica y fulminante. En los cuadros agudos los valores de las aminotransferasas y las bilirrubinas se incrementan hasta en tres veces, presentándose ictericia severa y coluria.

La hepatitis crónica ocurre en un 2 a 10% de los casos de infección y puede cursar con permanencia de antígeno viral de superficie, sin signos ni síntomas de daño hepático (portador sano) o desarrollar hepatopatías crónicas (permanencia del antígeno E replicativo).

La hepatitis fulminante generalmente se produce por la coinfección o sobreinfección con el virus delta, generándose una respuesta inmune simultánea contra los dos virus y una lesión hepática más severa, con una letalidad cercana al 70%.

1.2.2 CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

La infección por el virus de la hepatitis B es un problema de salud pública en Colombia y en el mundo. Se calcula que existen alrededor de dos mil millones que poseen marcadores serológicos positivos para el virus de la hepatitis B; más de 350 millones son portadores crónicos del virus, en especial en los países en desarrollo, donde residen el 90% de los portadores de la enfermedad, sobresaliendo los países asiáticos como China, Taiwán y Japón (22)

1.2.3 GENERALIDADES

Según la prevalencia de la infección y de portadores de antígeno de superficie, las zonas geográficas se clasifican en: **1.** alta endemia, donde la mayoría de las personas se infectan durante el período perinatal o en la infancia y se presentan prevalencias de infección mayor del 55% y tasas de portadores mayores del 7% **2.** mediana endemia, con prevalencias de infección del 20 al 55% y de portadores de 2 a 7%; tienen como mecanismos de transmisión más importantes la vía percutánea y sexual; **3.** baja endemia, con prevalencia de infección y de portadores menor del 20% y 2%, respectivamente; en este grupo la mayoría de las infecciones ocurren en el adulto por transmisión sexual, exposición ocupacional a la sangre y percutánea por uso de drogas intravenosas. (23)

La probabilidad de ser portador crónico se encuentra en relación inversa con la edad en que se adquiere la infección, entre los adultos un 5 a 10% y entre los lactantes un 80% a 90%. Los portadores pueden evolucionar a hepatitis crónica activa pueden desarrollar hepatocarcinoma.

En Colombia se ha estimado que existen alrededor de seis millones de infectados de los cuáles aproximadamente un millón son portadores crónicos.

La prevalencia varía de una zona a otra, por ejemplo, en algunas áreas geográficas donde se ubican comunidades indígenas y en las ciudades pequeñas e intermedias, cercanas a ellas se ha identificado alta y mediana endemia, siendo las áreas más afectadas el pie de monte de la Sierra Nevada de Santa Marta, la Serranía del Perijá, la Amazonia y el Urabá chocoano y antioqueño. Las grandes ciudades en su mayoría presentan baja prevalencia en población general, pero intermedia en grupos de alto riesgo como homosexuales y heterosexuales con múltiples compañeros, multitransfundidos y hemodializados, población reclusa e instituciones para discapacitados mentales. (6)

En Bogotá, aunque las tasas de incidencia han venido incrementándose paulatinamente de 1.6 por cien mil habitantes en 1991, a 5.8 por cien mil habitantes en 1996, la ciudad se considera de baja prevalencia y los mecanismos de transmisión prioritarios son los descritos para este tipo de zonas. (22)

Agente: virus de la hepatitis B (VHB); es un virus de DNA de la familia Hepadnaviridae

1.2.4 MODO DE TRANSMISIÓN

-Transmisión perinatal (madre a hijo): es una de las formas más eficientes de transmisión. Ocurre cuando la madre se infecta durante el último trimestre de embarazo, en el posparto inmediato o cuando es portadora del virus (HBsAg positivo). Las madres con antígeno replicativo positivo (HBeAg) transmiten la infección más eficientemente.

-Transmisión sexual: por contacto directo con secreciones genitales (semen o líquidos vaginales) de una persona infectada o portadora.

-Transmisión percutánea: (intravenosa, intramuscular, subcutánea) a través de transfusiones de sangre o hemoderivados, por reutilización de agujas y

jeringas, accidentes con agujas usadas e instrumental médico y odontológico, por reutilización de elementos para realizar tatuajes y similares, acupuntura y por compartir cuchillas de afeitar y cepillos de dientes provenientes de personas infectadas o portadoras.

-Transmisión horizontal: por contacto intradomiciliario prolongado con un portador, sin estar claro la forma como ocurre la transmisión; sin embargo, en la literatura se han documentado algunos factores de riesgo como el contacto de lesiones de piel (impétigo, escabiosis y laceraciones) con sangre de un infectado o portador.

Reservorio: el hombre.

Periodo de incubación: por lo general de 45 a 180 días, con promedio de 60 – 90 días.

Periodo de transmisibilidad: va desde varias semanas antes del inicio de los primeros signos y síntomas, durante todo el curso clínico de la enfermedad y mientras se detecte el HBsAg circulando en sangre; es decir, la persona con infección crónica es infectante durante el tiempo que persistan positivos el antígeno de superficie o el replicativo. (22)

1.2.5 DEFINICIONES OPERATIVAS

1.2.5.1 CASO PROBABLE: persona con coluria, astenia, adinamia, náuseas, ictericia; o donante de sangre u órganos que resulta positivo a las pruebas de tamizaje para hepatitis B.

1.2.5.2 CASO CONFIRMADO: caso probable que presenta:

-Marcadores serológicos de infección por el virus de la hepatitis B (antígeno de superficie o anti - HBcIgM) o histopatología compatible.

-Asociación epidemiológica: antecedentes de exposición o contacto de riesgo con caso confirmado o con un portador.

1.2.5.3 PORTADOR: caso asintomático y sin signos de alteración hepática por el laboratorio, con HBsAg positivo después de 6 meses de adquirida la infección.

1.2.5.4 HEPATITIS B CRÓNICA: caso asintomático o no, con signos de alteración hepática por laboratorio y con HBsAg positivo después de 6 meses de adquirida la infección.

1.2.5.5 CASO COMPATIBLE: Caso probable sin estudios por laboratorio ni asociación epidemiológica demostrada.

1.2.6 FUENTES DE INFORMACIÓN.

Además de las fuentes de información ordinarias, se debe tener en cuenta los bancos de sangre, órganos y semen.

1.2.7 INTERVENCIONES

1.2.7.1 INDIVIDUAL

A partir de la clasificación de un caso como probable se hará:

-Notificación inmediata e individual, al responsable de epidemiología.

Cuando el caso procede de un donante de sangre, órganos o semen de una institución independiente, se debe informar al responsable de vigilancia epidemiológica de la institución: Al SAA del nivel central se notifican los casos confirmados. (24)

Estudio por laboratorio

-Estudio serológico: Antígeno de superficie (HBsAg) y anticuerpos contra el antígeno central o Core tipo IgM (anti-HBcIgM), especificando que es para diagnóstico. La muestra de sangre tomada idealmente en ayunas, debe permitir obtener 4 a 5 ml de suero no hemolizado que se usará además para la determinación de aminotransferasas; en los casos fulminantes se utiliza sangre obtenida por punción cardíaca. (24)

-Pruebas de función hepática: aminotransferasas, bilirrubinas y fosfata alcalina, las cuales suelen estar elevadas.

-Estudio patológico posmortem: Tomar muestra de hígado de 2x1 cm preferiblemente en las primeras 12 horas después de ocurrida la muerte. Transportar en frasco de boca ancha con formol salino al 10% (90 cc de solución salina más 10 cc de formol), si no se dispone de formol salino, emplear alcohol comercial, aguardiente o ron.

-Tratamiento: manejo hospitalario o ambulatorio según la necesidad, tomando las medidas de protección universales para el manejo de sangre y líquidos corporales, hasta que se corrobore la desaparición del HBsAg y la

aparición del antiHBs. Debe hacerse desinfección terminal de utensilios domésticos o material hospitalario contaminado.

-Seguimiento del caso confirmado: control clínico de acuerdo con la evolución y control serológico (marcadores de HB y pruebas de función hepática) a los tres y seis meses; dependiendo de los resultados se harán controles posteriores. La interpretación de los marcadores permite identificar el estado de la infección y la clasificación del paciente como portador o como paciente con infección resuelta.

-A los pacientes que después de seis meses no se les ha negativizado el HBsAg se les debe realizar evaluación clínica y serológica (HBsAg, bilirrubinas, aminotransferasas y fosfatasa alcalina) cada seis meses.

-Educación al paciente y sus contactos. (24)

TABLA #3 INTERPRETACIÓN DE MARCADORES SEROLÓGICOS DE HEPATITIS B PARA LA CLASIFICACIÓN DEL CASO

CLASIFICACIÓN	MARCADORES				
	HBsAg (1)	Anti-HBc IgM (2)	Anti-HBc IgG (3)	Anti- HBs (4)	HBeAg (5)
INFECCIÓN AGUDA EN FASE RECIENTE	+	+	+	-	+
INFECCIÓN AGUDA EN FASE TARDÍA	+	-	+	-	+ ó -
INFECCIÓN AGUDA (VENTANA INMUNOLÓGICA)	-	+	+	-	+ ó -
INFECCIÓN CRÓNICA	+	-	+	-	+
ESTADO DE PORTADOR	+	-	+	-	+ ó -
INFECCIÓN RESUELTA CURACIÓN	-	+ ó -	+	+	-
INMUNIDAD POR VACUNACIÓN	-	-	-	+	-
SUSCEPTIBLES	-	-	-	-	-

(1) **HBsAg**: Antígeno de superficie de la hepatitis B

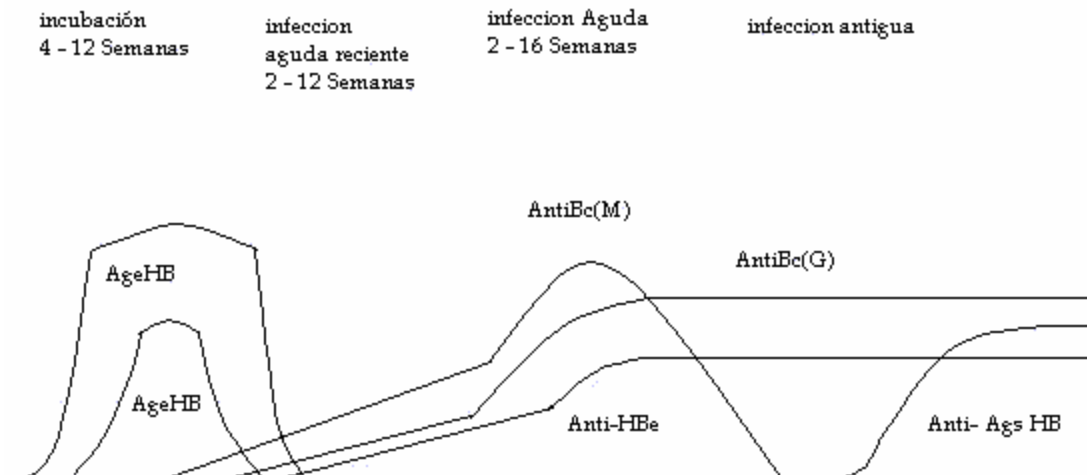
(2) **Anti-HBc IgM**: Anticuerpo Inmunoglobulina M, contra el antígeno central (Core)

(3) **Anti HBc IgG**: Anticuerpo Inmunoglobulina G, contra el antígeno central (Core)

(4) **Anti-HBsAg**: Anticuerpo contra el antígeno de superficie

(5) **HBeAg**: Antígeno E (replicativo).

FIGURA 1. EVOLUCIÓN DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS DE INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS B EN CASO TÍPICO QUE SE RECUPERA.



Tomado de Enfermedades Infecciosas Fundamentos de medicina corporación de investigaciones biológicas. Cuarta edición 1991.

1.2.7.2 COLECTIVA

Ante la presencia de un caso confirmado deberá realizarse:

- Investigación epidemiológica de campo, para:

. Búsqueda y estudio de contactos: la cual debe iniciarse por el médico que conoce el caso. Son contactos de alto riesgo los compañeros sexuales, hijos y convivientes a los cuales se les debe realizar estudios serológicos y educación sobre las medidas preventivas para evitar la transmisión sexual como uso separado por el enfermo de los utensilios domésticos y desinfección de sanitarios, después de ser usados por el enfermo. (24)

. Profilaxis post-exposición: Se pueden presentar situaciones diversas que requieren la aplicación de vacuna. En Colombia se encuentran varios tipos de vacuna. El ministerio de salud provee la vacuna Herberbiovac HB producida por el centro de ingeniería genética y biotecnología de la Habana Cuba que contiene 20 ug de una proteína antigénica de la superficie del virus de la Hepatitis B producida por recombinación de ADN en una levadura.

-Recién nacido hijo de madre positiva al HBsAg: Administrar una dosis de 0.5 ml/Kg. peso, o según instrucción del fabricante de gammaglobulina específica o estándar vía intramuscular en las primeras 12 horas de vida. Aplicar la primera dosis intramuscular de 10 ug de vacuna a los siete días, segunda dosis del mes y tercera dosis a los 2 meses de la primera dosis.

-Contacto conviviente menor de 5 años: Tomar muestra de sangre para pruebas serológicas e iniciar el siguiente esquema de vacunación:

*Primera dosis de 10 ug.

*Segunda dosis al mes

*Tercera dosis a los dos meses de la primera dosis.

*Si las pruebas serológicas resultan positivas se suspenderá la vacunación y se realizará un seguimiento clínico y serológico del caso.

-Contactos sexuales: Si el último contacto con la persona infectada fue en los últimos 15 días, aplicar intramuscular una dosis de gammaglobulina específica a razón de 0,06 ml / kg peso. Debe fraccionarse la dosis para no aplicar en el mismo sitio más de 5 ml.

Inmediatamente después de la toma para el estudio serológico, iniciar esquema de vacunación con una dosis de 20 ug. Si algún marcador serológico de la infección aguda resulta positivo suspender la vacunación. En caso contrario continuar con la segunda dosis al mes y con la tercera dosis a los seis meses de la primera. Lo mismo debe hacerse con la mujer embarazada o el paciente inmunosuprimido.

- Exposición a sangre o líquidos corporales: el procedimiento a seguir depende de los antecedentes vacunales del expuesto y del conocimiento del estado de infección de la persona de la cual provienen los líquidos corporales. (22)

*Contacto con sangre o líquidos corporales de persona con HBsAg positivo:

Si el afectado no ha sido vacunado previamente debe procederse a aplicar la gammaglobulina en las primeras 24 horas de ocurrido el accidente como se indicó en el punto anterior e iniciar después de siete días el esquema 0,1,2 de vacunación.

Si el afectado tiene antecedentes vacunales, deberá determinársele los títulos de anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti-HBsAg), que de resultar negativos o menor a 10 U.I./L ameritan la aplicación de un refuerzo con una dosis de vacuna y posterior seguimiento. En caso de no poder obtenerse oportunamente la determinación de anti-HBsAg, debe aplicarse el refuerzo inmediatamente.

*Contacto con sangre de fuente desconocida: Si la persona no ha sido vacunada, se procede en igual forma a la descrita en contacto con sangre o secreción de pacientes HBsAg positivo.

-Casos detectados en los Bancos de sangre, semen u órganos: deben ser notificados a los coordinadores de epidemiología institucionales o de la localidad respectiva para que este pueda coordinar el estudio confirmatorio en el donante y la investigación de contactos respectiva. Las unidades de sangre, semen u órganos provenientes de estos donantes deberán ser incineradas.

1.2.8 INDICADORES

La vigilancia de la Hepatitis B en Bogotá tiene como objetivo principal, identificar los grupos de mayor riesgo de adquirir la infección por el HBV y eliminar la hepatitis transmitida transfusionalmente o por trasplante. Por

tanto, además de los indicadores epidemiológicos básicos es necesario evaluar la utilidad del sistema de vigilancia para el cumplimiento de estos objetivos a través de los siguientes indicadores:

*Proporción de donantes con HBsAg captados en el Banco de sangre, semen u órganos que sean estudiados para confirmación.

*Proporción de casos de Hepatitis B postrasfusional, postrasplante. (22)

1.3 HEPATITIS VIRAL B

1.3.1 DESCUBRIMIENTO Y NATURALEZA DE FORMAS VIRALES EN LA SANGRE.

Los virones de hepatitis B en la sangre de pacientes infectos, fueron identificados y caracterizados después del descubrimiento del antígeno en la superficie de estas formas particuladas. El HBsAg fue descubierto en 1965 por Blumerg y Col. (8)

El antígeno se halló por primera vez en el suero de un aborigen australiano cuando se formó una línea de precipitinas en difusión en agar gel entre ese suero y el suero de un paciente con hemofilia que había sido politransfundida. Así el antígeno primero fue denominado "Antígeno Australiano".

No se reconoció de inmediato como un antígeno viral, pasaron varios años de investigación hasta que su eventual asociación con la hepatitis B aguda, entonces se denominó antígeno asociado con hepatitis (HVA) y más tarde recibió su nombre actual, antígeno de superficie de hepatitis B.

Pequeñas partículas esféricas de aspecto y tamaños heterogéneos y partículas filamentosas, o con forma de bastón fueron las primeras formas particuladas de HBsAg, observadas en micrografías electrónicas por Bayer

y Col en 1968. (8). En 1970 Dane y Col descubrieron una proteína portadora de HBsAg más grande y compleja. Fuertes evidencias indican que esta partícula es el virón de hepatitis B completo. (9)

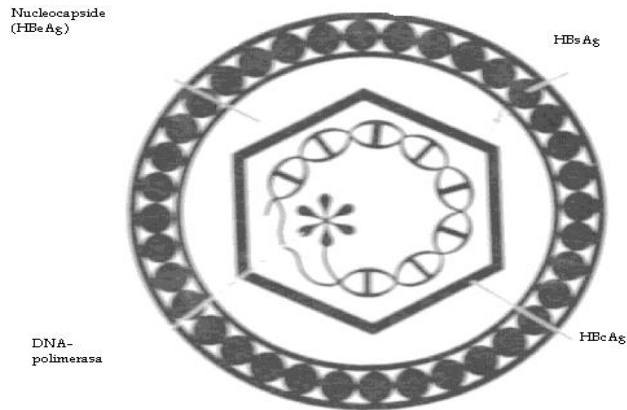
1.3.2 AGENTE ETIOLÓGICO.

El virus de la hepatitis B pertenece a la familia Hepadnaviridae cuyos miembros infectan aves y mamíferos, siendo el reservorio en el hombre se caracteriza por tener un tropismo especial por el tejido hepático. Posee uno de los genomas más pequeños formado por un DNA circular cuyas bases se aparecen parcialmente formando una doble cadena en forma incompleta.

El virus completo, también llamado partícula Dane, es esférico y tiene un componente externo y uno interno. El externo o envoltura viral incluye una proteína conocida como Antígeno de superficie del virus HBsAg . El componente interno o core lo integra el antígeno core (HBcAg), el genoma viral y una enzima conocida como DNA polimerasa. El antígeno e (HBeAg) es un fragmento del HBcAg que no hace parte de la estructura final del virus, pero puede detectarse circulando en el plasma en algunas etapas de la infección.

El genoma viral (HVB -DNA) es pequeño, circular y parcialmente de doble cadena, tiene cuatro (4) genes algunos de ellos superpuestos que codifican los antígenos virales y la DNA polimerasa (10)

FIGURA # 2. REPRESENTACION ESQUEMÁTICA DEL VHB



1.3.3 ESTRUCTURA DEL VIRUS

Posee uno de los genomas más pequeños formado por un DNA circular cuyas bases se aparean parcialmente formando una doble cadena en forma incompleta.

El microscopio electrónico ha permitido observar 3 partículas víricas las primeras corresponden a formas esféricas heterogéneas de 20nm de diámetro y otras tubulares de igual diámetro y longitud variable la tercera forma corresponde a la partícula DANE con un diámetro de 42nm , la cual representa el viron intacto (10).

1.3.3.1 ANTIGENO DE SUPERFICIE (HBsAg)

Es el principal componente esta formado por proteínas, lípidos y carbohidratos. Se conoce la existencia de por lo menos 5 especificidades antigénicas en partículas de HBsAg un determinante específico es el grupo (a) y se han demostrado dos pares de determinantes de subtipos (d,y y w,r). También se ha descrito heterogeneidad antigénica de los determinantes w,y

Determinantes adicionales como q y x o g se han identificado 8 subtipos de HBsAg ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, y adr. (9)

1.3.3.2 CORE

Contiene el HBcAg se halla en sangre solo como componente interno del viron contiene un único polipéptido predominante con un peso aparente de aproximadamente 19.000 Daltons codificado por el gen viral C (12) .

1.3.3.3 ANTIGENO E

Posee un peso molecular de 16.000 Daltons y esta contenido en un polipéptido estructural de la nucleocápside y así es codificado por el mismo gen viral (gen C). Es una proteína termolábil que puede ser detectada en suero. Su presencia indica replicación viral y alta infectividad. (11)

1.3.3.4 DNA VIRAL.

Corresponde a un DNA circular que es parcialmente bicatenario , con una cadena larga o L(-) lineal con una longitud fija de mas o menos 3.200 nucleótidos y una cadena corta o s(+) de longitud variable con mas o menos 2.600 nucleótidos . La actividad de la DNA polimerasa en el viron repara la región monocatenaria del DNA viral para elaborar moléculas bicatenarias de aproximadamente 3.200 pares de bases. La síntesis de DNA es iniciada para esta reacción en el extremo 3' de la cadena corta y acaba cuando llega al extremo 5' de la cadena corta . La cadena larga no es un circulo cerrado sino que tiene una muesca en un sitio único aproximadamente a 300 pb del extremo 5' de la cadena corta (+). Un polipéptido esta unido en forma covalente al extremo 5' de la cadena larga del DNA aislado de virones. Esta proteína parece actuar como modelo para la síntesis de la cadena menor del DNA viral durante la replicación del mismo (13).

ESQUEMA GENETICO DEL VHB.

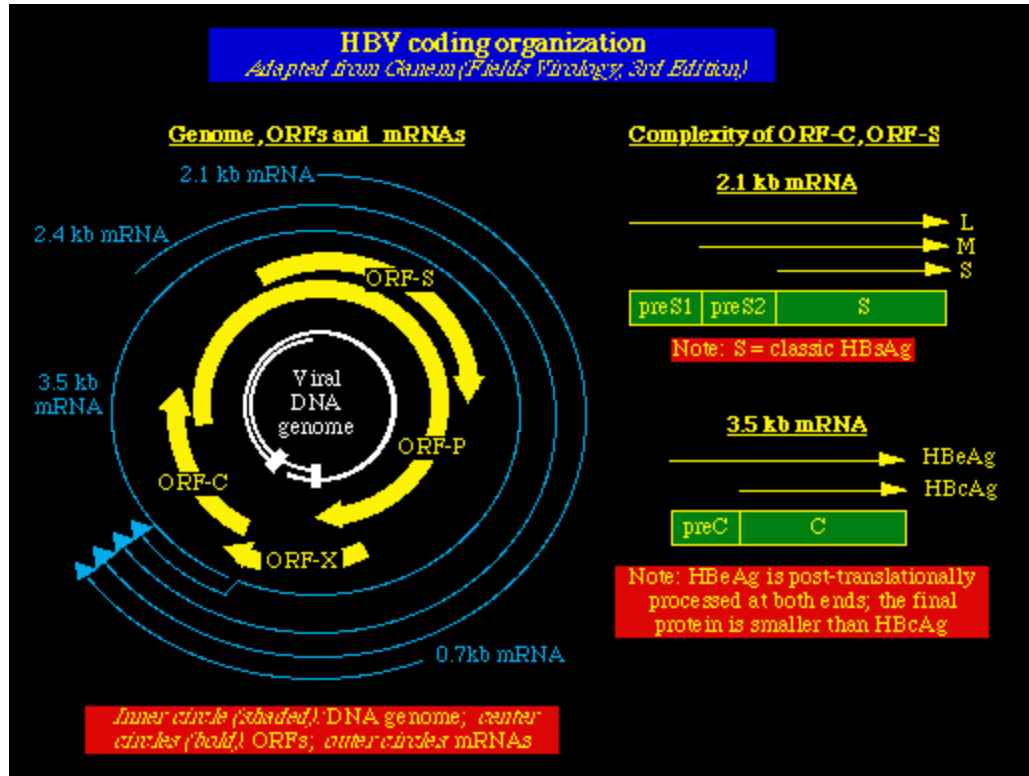


FIGURA # 3

Tomada de <http://www.medynet.com/usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.htm>.

1.3.4 ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA

El genoma del virus está formado por una molécula de DNA circular, pequeña y parcialmente de doble hélice. La cadena larga, denominada L(-), tiene un tamaño de aproximadamente, 3.2kb con los extremos 3' y 5' fijos, formando un círculo casi continuo. La cadena corta, o s (+) tiene una

longitud variable pudiendo ser un 50% más corta que la L (-) con un extremo 5' fijo y un extremo 3' libre y variable. (14)

La estructura circular del genoma esta asegurada por las regiones de cohesión (220 nucleótidos) , situadas en los extremos 5' de cada cadena . En esta región existe una secuencia de 11 nucleótidos que se repone directamente en el otro extremo de la región de cohesión Estas secuencias repetidas , denominadas DR1 para la situada en la cadena L (-) , y DR2 para s(+) , se encuentran implicadas en la replicación e integración del genoma del virus de los hepatocitos. En la cadena L (-) se han identificado 4 regiones abiertas de transcripción (ORF), conservadas entre los diferentes subtipos del VHB, que representan genes codificantes . El virus incrementa su capacidad codificante al existir un solapamiento importante entre los distintos ORF. Así la totalidad del genoma que codifica a pre-S1, pre-S2, y al gen S se solapa con la región P , que a su vez, solapa parcialmente la región X y al gen C . pre-C. (14)

1.3.4.1 GEN S

Marco de lectura abierto contiene la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido reactivo principal del antígeno de superficie. (9)

Esta compuesta de 3 zonas de codificación: pre-S1 , pre-S2 y S cada una codifica un polipéptido antígenicamente específico que al ensamblarse transfiere la capacidad antigénica a la proteína de la envoltura denominada HBsAg . (13)

1.3.4.2 REGION S (REGION GENETICA MAYOR)

El gen S codifica la proteína pequeña SHBS del HBsAg de uno 25 kd , que representa el componente mayoritario en las envolturas vacías del virus (14). Codifica el polipéptido más pequeño con un peso de 24.000 daltons y 226 aminoácidos que forman partículas esféricas y tubulares de 22nm que se encuentran circulantes en la sangre en la fase aguda y crónica de la

enfermedad , hallándose en circulación por un período de tiempo variable dependiendo de la evolución clínica (13)

1.3.4.3 REGION PRE- S1

Codifica la proteína mayor LHBS del HBsAg (p39 , Gp42) . (14) Parece participar en el ensamblaje del virus , codifica para un polipéptido de 39000 daltons con una cantidad de 108 a 119 aminoácidos. (13)

1.3.4.4 REGION PRE- S2

Codifica la proteína mediana MHBS del HBsAg (Gp 36 / 36) la cual juega un papel importante en la unión del virus al receptor hepático siendo un buen marcador de replicación del virus. Es una proteína muy inmunógena creando una respuesta de anticuerpos neutralizantes capaces de inhibir la unión del virus al hepatocito . (14)

1.3.4.5 REGION C (MARCO DE LECTURA ABIERTO)

Contiene la secuencias de nucleótidos que codifica al principal polipéptido de la nucleocápside (HBcAg) y del antígeno e (HBeAg) (9). La región C codifica la proteína de la nucleocápside vírica o core cuyo tamaño molecular es de 22kd , se encuentra unida al retículo endoplasmático del hepatocito sin ser secretado a la sangre (14). Se detecta en la sangre solo cuando circulan virones completos y tienen un poder antigénico muy potente con capacidad de estimular respuesta inmune de carácter protector (13)

La transcripción de la región pre-C y C codifica la síntesis del antígeno e (HBeAg) de 15kd originándose en un primer paso un péptido precursor de unos 25kd que por acción de proteasas celulares, se escinde para dar la proteína HBeAg que penetra en el retículo endoplasmático celular y es el secretado a sangre. (14)

1.3.4.6 REGION P (MARCO DE LECTURA ABIERTO MAYOR)

Se superpone con el gen S, parece codificar a la DNA polimerasa viral (9). Enzima básica de 92kd situada en el interior de la nucleocápside, con actividad de polimerasa dependiente de RNA y DNA . La DNA polimerasa del VHB presenta en su secuencia de aminoácidos una homología parcial con la transcriptasa inversa de varios retrovirus oncógenos . Esta involucrada en varios mecanismos de trascrición inversa del VHB y de encapsidación del RNA pregenómico. (14)

1.3.4.7 REGIÓN X (MARCO DE LECTURA ABIERTO MÁS PEQUEÑO)

Codifica una proteína que puede transactivar ciertas secuencias de control transcripcional celular y viral heterólogas. (9) Codifica una proteína X (HBxAg) de 145 aminoácidos que contiene el promotor del gen C, aunque su función no es bien definida se sabe que interviene en la regulación de la expresión del genoma del VHB y por tanto regula los mecanismos de transcripción y de replicación del virus. El péptido X (HBxAg) es inmunógeno y se detectan anticuerpos frente al mismo en pacientes con hepatitis aguda , crónica o carcinoma hepatocelular aún en ausencia de otros marcadores de infección por VHB. (14)

Estas regiones son importantes dado que el VHB presenta una elevada variabilidad genética y se han descrito mutaciones en todas sus regiones genéticas (pre-X, pre-C, pre-S) que afectan el curso clínico de la enfermedad y traen como consecuencia patrones serológicos atípicos favoreciendo la enfermedad fulminante. En estos casos la determinación del AgHBs sérico se vuelve menos útil como marcador de la infección porque se disminuye su expresión haciendo que por el laboratorio sea no reactivo. Desde el punto de vista epidemiológico puede haber transmisión vertical y horizontal de las variantes del VHB porque no se sabe como se comporta el virus después de sus mutaciones en Colombia.

1.3.5 CICLO VITAL

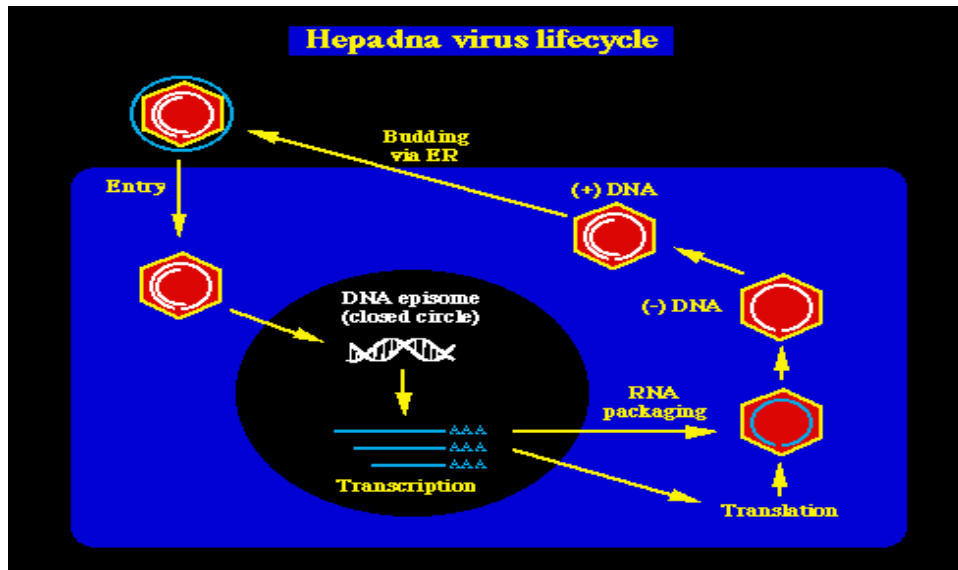


FIGURA #4

Tomada de <http://www.medynet.com/usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.html>.

Los eventos iniciales de adhesión y entrada no están muy claros. Después de la entrada del viron, la partícula del núcleo viral es trasladada a la célula, el ADN viral es reparado y madurado, dando lugar a un ADN circular, cerrado por enlaces covalentes (ADNccc covalently closed circular DNA cccDNA). El DNAccc sirve como plantilla a la polimerasa II del ARN de la célula y esto da lugar a la producción de RNAm viral. Sirviendo la más grande de éstas últimas moléculas como RNAm y como RNA pre-genómico (ARNpg). El RNAppg es de mayor tamaño que el geonómico y esta almacenado en partículas virales. (16)

1.3.6 EXPRESION GENETICA DE VHB

1.3.6.1 ELEMENTOS REGULADORES QUE ACTUAN EN FORMA CIS

Hay cuatro copias principales las cuales no están entrelazadas y terminan a la vez en un sitio común : poli-A cada copia es controlada por un regulador específico y a los cuatro reguladores geonómicos virales se les conoce como pre-S1, S y X. Además hay dos amplificadores que contribuyen a que los reguladores geonómicos (En II) y X (En I) se expresen de modo específico en el hígado. (13)

1.3.6.2 PROTEINA VIRAL QUE ACTUA EN FORMA TRANS

La proteína X del VHB es un activador Trans muy potente de muchos genes virales pero no afecta al ADN, por lo que tiene que hacer la copia indirectamente. (13)

1.3.6.3 REPLICACIÓN DEL GENOMA DEL VHB

El DNA del virus copia directamente su genoma con enzimas llamadas polimerasas .(13) La ORF P (open reading frames) codifica la polimerasa viral, la cual tiene la transcriptasa inversa y posee funciones RNasa H, como el producto genético, pol retroviral . La proteína P actúa por sí misma como el catalizador para la cadena minus de la síntesis de DNA .(16)

Las polimerasas usan la cadena de DNA original como molde para el ensamblaje de nuevas cadenas complementarias.(14) El virus usa un mecanismo indirecto involucrando un RNA como intermediario de la siguiente forma: después de que el genoma del virus penetra la célula este migra al núcleo donde la polimerasa celular lo transcribe dentro de una molécula de RNA, se llama pre-genoma. El pre-genoma y el DNA viral son empaquetados dentro de una nueva cápside formada y pasan a través del

citoplasma celular, allí la polimerasa actúa por medio de una transcriptasa reversa del pre-genoma dentro de una nueva cadena menor de DNA. Pronto el pre-genoma es destruido por enzimas: La DNA polimerasa allí constituye la cadena mayor usando la menor como molde, la cápside y el DNA viral son finalmente encerrados en una nueva envoltura . (13)

1.3.6.4 SINTESIS DEL DNA DEL VHB .

El siguiente paso del ciclo vital del VHB es la síntesis del ADN :

1 La síntesis del ADN empieza después de que la polimerasa viral se une al stem- loop En el ARN geonómico .

2 La síntesis del DNA de la cadena minus empieza ahora: primero la polimerasa actúa como un catalizador y activa la transcriptasa inversa, se produce entonces un oligoelemento pequeño de DNA (4 bases) el cual permanece unido a la polimerasa.

3 El oligomero de DNA es idéntico a la secuencia del terminal del repetidor directo 1 (DR1). Así el complejo ADN – polimerasa puede ser transferido al elemento 3'-DR1 (transferencia a cadena (-)).

4 Se produce la elongación de la cadena según como la polimerasa copia de la plantilla ARN al DNA . Cuando el nuevo DNA está hecho se produce la activación de la parte RNasaH de la polimerasa, que comienza a destruir la plantilla de RNA .

5 Una vez que se ha completado la síntesis de la cadena minus, un oligomero pequeño de RNA queda sin destruir .

6 Este oligomero corresponde al 5'- terminal del repetidor directo 1 del genoma RNA viral y como resultado puede ser transferido al elemento DR2 en el 5'-terminal de la cadena minus del DNA viral . Esto significa el inicio de la síntesis de la cadena plus del DNA .

7 El crecimiento de la cadena plus del DNA rápidamente alcanza el final de la plantilla de la cadena minus del DNA . Para que la síntesis pueda continuar debe ocurrir una transferencia de la cadena plus y esto ocurre porque los dos terminales de la plantilla de la cadena minus son idénticos así la parte en crecimiento de la cadena plus es capaz de encadenarse a la porción terminal 3' de la cadena minus. El resultado es que el genoma gira o circula de modo que la cadena plus se continúe fabricando. De pronto la síntesis se detiene , no está claro por qué, con el resultado de una cadena plus sin terminar, y así se llega a la doble cadena incompleta del DNA virón.

SINTESIS DEL DNA

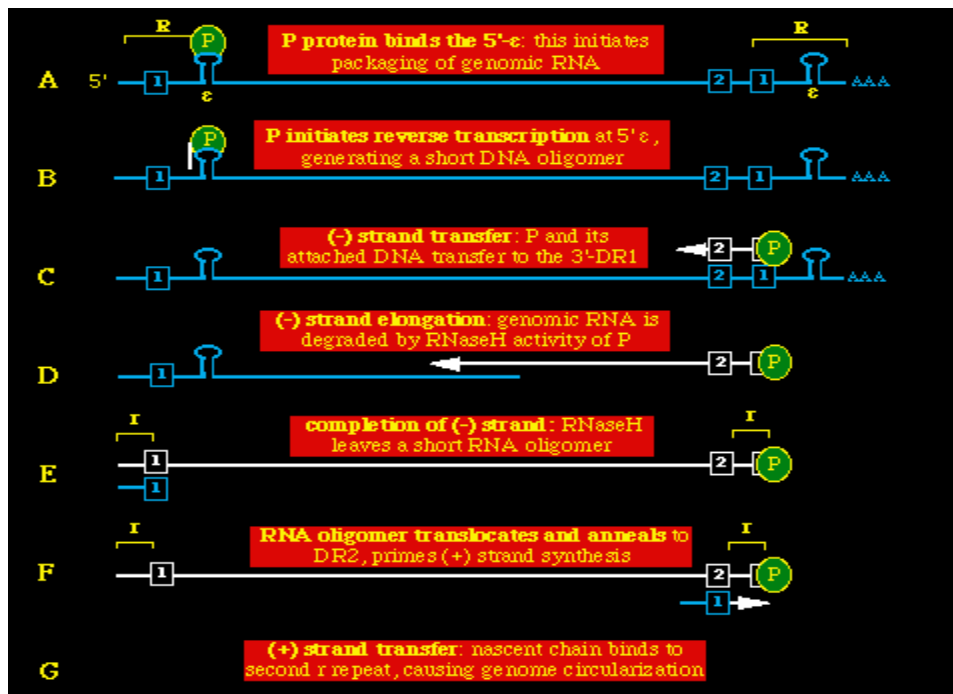


FIGURA #5

Tomada de <http://www.medynet.com/usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.html>

1.3.7 PATOGÉNESIS E INMUNIDAD

En la hepatitis B primaria existe una respuesta inmune humoral específica a los componentes antigénicos del VHB y se producen anticuerpos contra el AgHBs , AgHBe , AgHBc. (1)

Las infecciones secundarias se caracterizan por una elevación rápida e inmediata de los anti-HBs lo que confiere protección contra la reinfección celular contra el VHB. Los linfocitos T sensibilizados al AgsHB elaboran factores solubles linfoquinas , es índice de una buena inmunidad celular contra el AgsHB .(1)

El virus de la hepatitis B por si solo no tiene efecto destructivo sobre las células hepáticas. El daño se produce por la respuesta inmune del individuo sin embargo la inmunidad es fundamental en la resolución de la infección siendo de mayor importancia la inmunidad celular en la eliminación del virus. (18) La inmunidad humoral es más fácilmente demostrada y es de gran importancia en el diagnostico y pronostico de la enfermedad (19). Los antígenos del virus inducen su propia respuesta dando origen a 4 anticuerpos diferenciados mediante procedimientos serológicos como se demuestra en la siguiente tabla.

SIGLA	NOMBRE	DESCRIPCIÓN
HBsAg	Anfígeno de superficie del VHB	-Primer marcador detectado en suero. -Si esta presente junto a AntiHBc IgM indica infección aguda. -Si se mantiene positivo más de 6 meses indica infección crónica. -Se negativiza cuando se resuelve la HB .
HBeAg	Antígeno e del VHB	-Se detecta en fase aguda e infección crónica. -Indica replicación viral activa. -Asociado con alta infectividad. -Reactivo por más de 6 meses indica infección crónica.
Anti HBs	Anticuerpos contra el antígeno de superficie del VHB	-Detectable de 1-3 meses después de la vacunación: valores mayores a 10 UI/L seroprotegido valores menores a 10 UI/L no protegido valores mayores a 100 UI/L Hiperrespuesta -Es el ultimo marcador que aparece en suero e indica recuperación . Indica inmunidad al VHB.
Anti- HBe	Anticuerpos contra el anfígeno e del VHB	-Aparece cuando el HbeAg ya no es detectable. -Su presencia indica un pronóstico favorable.
AntiHBc IgM	Anticuerpos contra el core del VHB	-Primera clase de anticuerpos detectables en un paciente infectado. -Indica infección reciente. -Puede permanecer reactivo hasta por seis meses.
Anti HBc IgG	Anticuerpos contra el core del VHB	-Se mantiene reactivo durante años. -Indica una infección pasada o crónica. -No es inducido por la vacunación . -No indica inmunidad. -Puede ser el único marcador detectable en periodo de ventana cuando el HbsAg es negativo y el AntiHBs no aparece todavía.
ADN VHB bDNA	Acido deoxiribonucleico del VHB cuantitativo	-Permite cuantificar carga viral. -Permite determinar inicio de terapia antiviral. -indispensable para monitoreo de la terapia antiviral. - seguimiento y pronóstico de inf.

TABLA # 4

MARCADORES SEROLOGICOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

1.3.7.1 CURSO CLINICO Y SEROLOGICO

El periodo de incubación puede variar entre 25-160 día, siendo en la mayoría de los casos entre 60–110 días los cuadros clínicos son múltiples

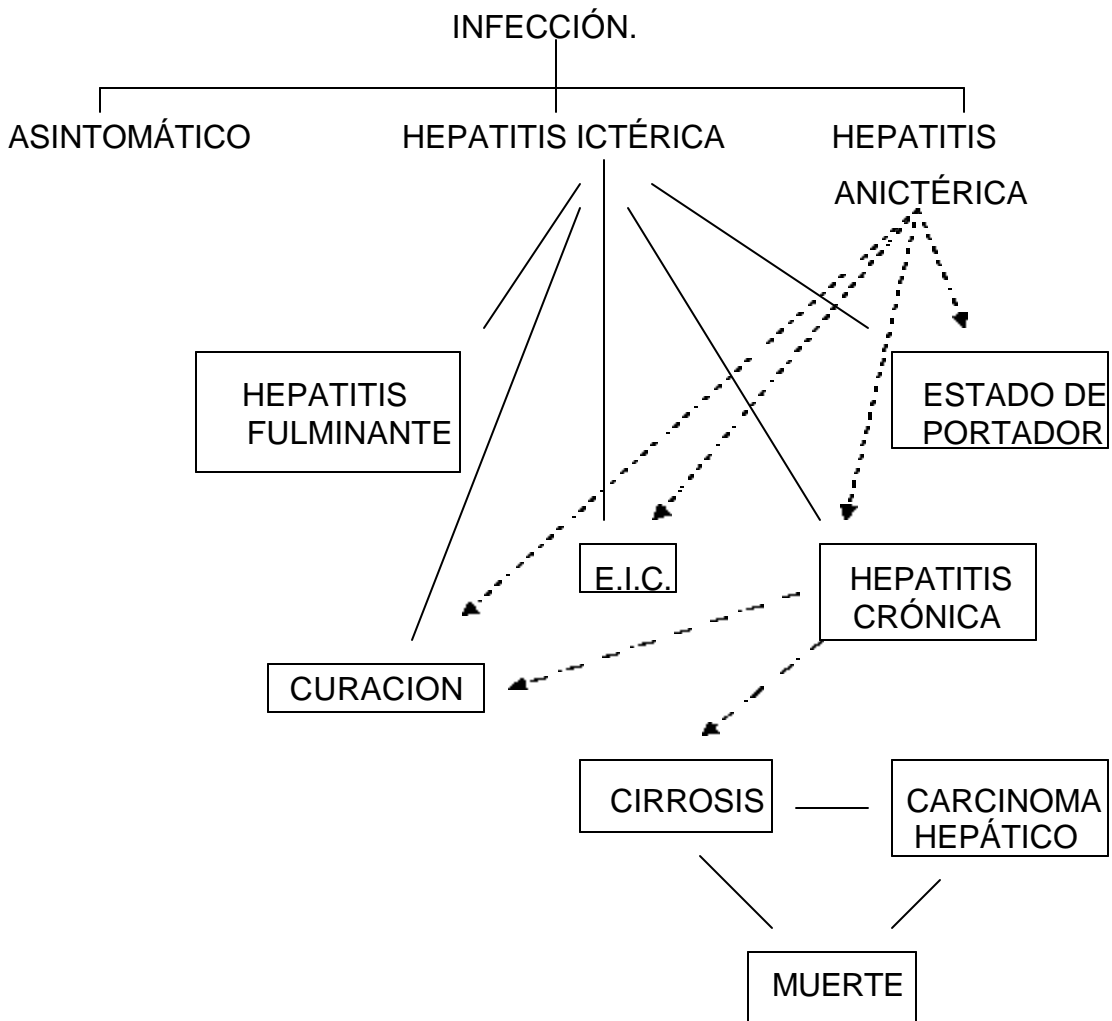


FIGURA #6 CURSO CLINICO DE VHB: Tomado de Pumarola et al . Microbiología y parasitología médica. Segunda edición, salvat . p 709.EIC: Enfermedad de complejos inmunes.

1.4 PATRONES SEROLÓGICOS HEPATITIS AGUDA Y CRÓNICA

1.4.1 INFECCIÓN SUBCLÍNICA Y CLÍNICA AUTOLIMITADA.

El HBsAg y el HBeAg son los primeros marcadores que se aparecen (3-4 semanas antes del comienzo de los síntomas). El HBsAg alcanza la máxima concentración en el comienzo de la clínica y persiste de 1 a 5 meses. El HBeAg desaparece antes que el HBsAg, dando lugar a la formación de Anti-HBe. (25)

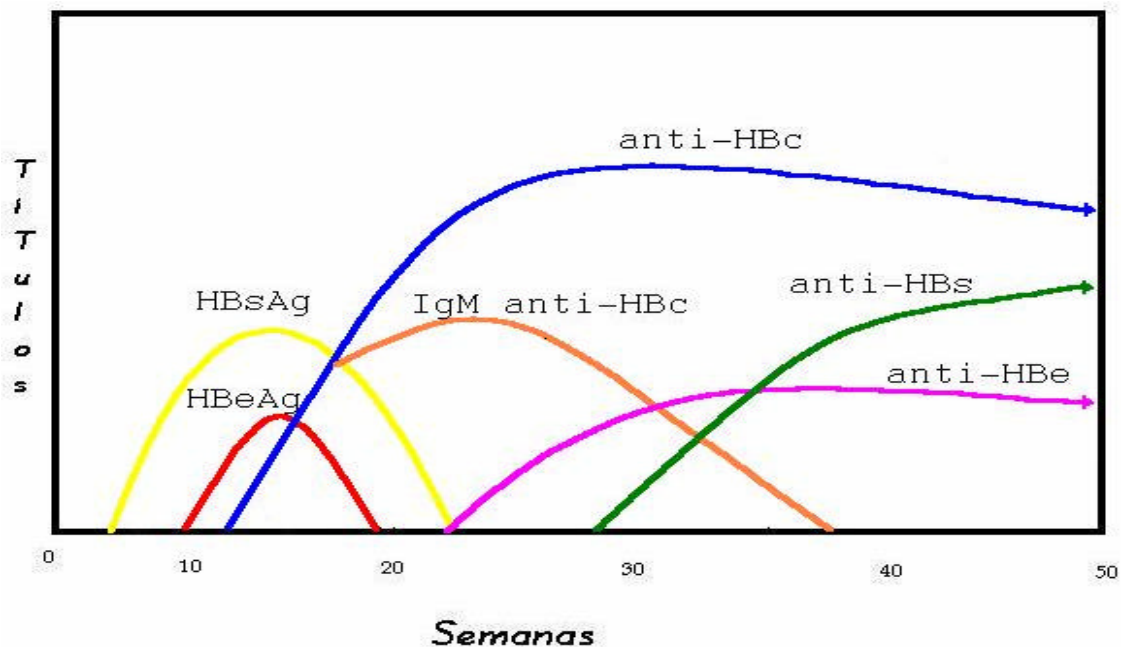


FIGURA #7 Curso serológico de la infección aguda

El Anti- HBc aparece simultáneamente con los síntomas o poco después y alcanza rápidamente títulos altos; es el marcador más útil de la infección por virus B; durante el período de ventana si se retrasa la aparición de Anti- HBs es el único marcador positivo (a títulos elevados Anti- HBc IgM).

El polipéptido Pre-S2 tiende a desaparecer en el primer mes.

El último anticuerpo en aparecer es el Anti- HBs. El intervalo entre la desaparición del HBsAg y la detección de su anticuerpo puede ser hasta de seis meses. (26)

1.4.2 PATRON SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA.

Aproximadamente un diez por ciento de los infectados siguen produciendo HBsAg después de seis meses del contagio, persistiendo durante años e incluso toda la vida.

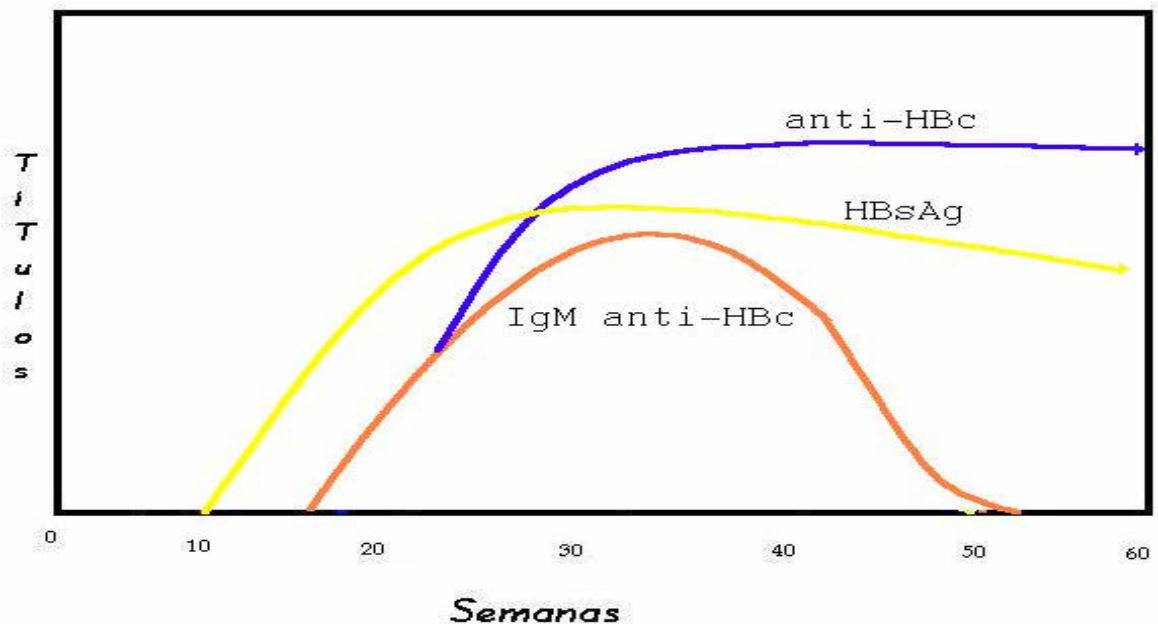


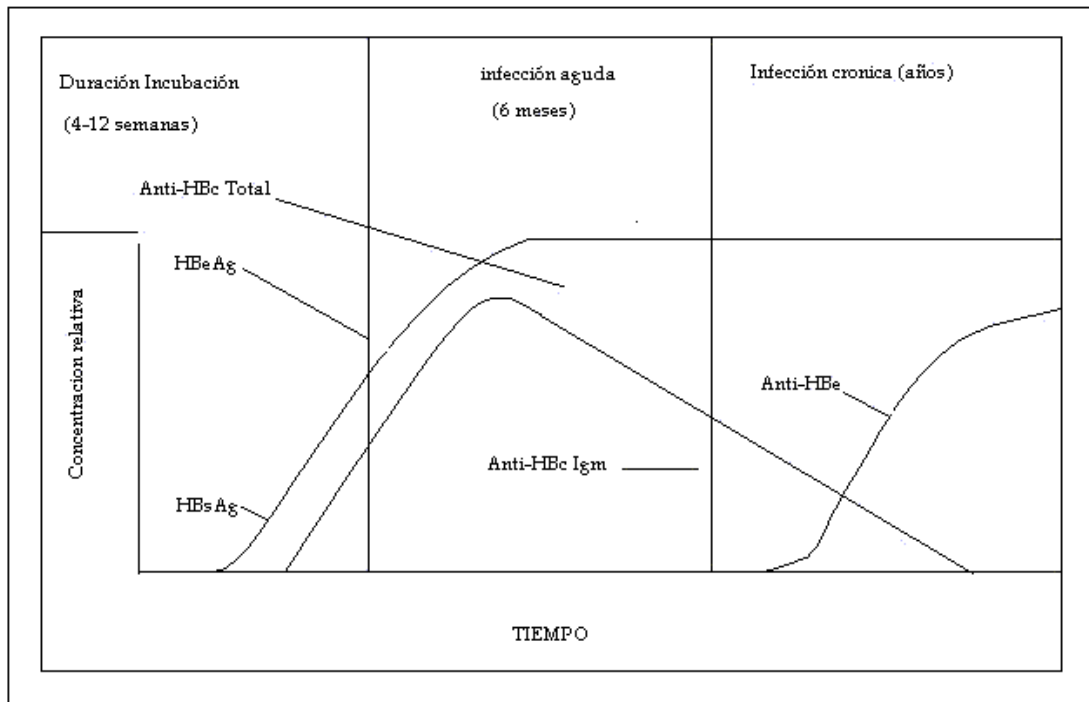
FIGURA # 8 Curso serológico de la infección crónica

En los casos crónicos de la Hepatitis B no se suelen detectar Anti-HBs, los Anti-HBc son sólo de clase IgG, aunque en algunos casos se pueden detectar también IgM a títulos bajos o moderados. (34)

El HBeAg puede detectarse durante mucho tiempo o bien negativizarse y aparecer Anti- HBe.

El antígeno de superficie tiene un alto contenido de Pre-S2. Los pacientes crónicos pueden no presentar síntomas, y es más frecuente el desarrollo de formas crónicas tras hepatitis subclínicas que después de enfermedad aguda sintomática. (25)

FIGURA # 9



1.4.2.1 INDICACIONES DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS

1. Establecer la etiología de una hepatitis aguda o crónica, y establecer su estado evolutivo.
2. Detectar las gestantes portadoras del virus

3. Determinar el estado inmune previo a la vacunación de individuos con riesgo de infectarse.

4. Estudios epidemiológicos

5. Detectar enfermedad crónica asintomática en niños de madres portadoras del virus B. (26)

1.4.2.2 PERFILES DE DIAGNOSTICO

1.4.2.3 INFECCIÓN AGUDA

Determinar el HBsAg, que es el primero en detectarse. En la fase ventana el Anti- HBcAg IgM es el único marcador positivo.

1.4.2.4 ESTADO INMUNITARIO

Determinar el Anti- HBs. Se puede asumir que a títulos detectables su acción es protectora.

1.4.2.5 ESTADO INFECTIVO

En embarazadas, para valorar el riesgo de infección del feto, se detecta el HBeAg.

1.4.2.6 REPLICACIÓN VIRAL

Determinar el HBV- DNA, único marcador de replicación. Otros marcadores que suelen estar asociados a replicación viral son el HBeAg y la DNA polimerasa. (27)

1.4.2.7 ESTUDIOS DE EVOLUCIÓN

Determinar el HBeAg, Pre-S2 y complejos HBsAg IgM (éste último es utilizado por algunos investigadores como valor predictivo de evolución a la cronicidad).

1.4.3 HEPATITIS B AGUDA

El período de incubación oscila entre 2 y 6 meses, siendo lo más habitual 3 meses, dependiendo de la dosis de inoculación. Suele ser asintomático, aunque en un 15% hay clínica inmunológica por inmunocomplejos circulantes (fiebre, exantema, artralgias...). En niños puede aparecer una erupción generalizada denominada acrodermatitis papular de Gianoti-Crosti. También pueden tener glomerulonefritis y vasculitis, incluyendo panarteritis nodosa y crioglobulinemia mixta. (27)

Hay varias formas de Hepatitis aguda:

1.4.3.1 HEPATITIS INAPARENTE O ASINTOMÁTICA

Es la más frecuente, como se refleja en la serología de estudios epidemiológicos, que muestran hasta un 20% de positividad Anti- HBc y/o Anti- HBs en la población adulta española sin antecedente clínico de hepatitis.

1.4.3.2 HEPATITIS ANICTÉRICA

Es similar a la forma clásica excepto que cursa sin ictericia. Su frecuencia es similar a la que tiene hiperbilirrubinemia, pero es de menor duración. Algunos autores apuntan que la frecuencia de cronificación es más elevada.

1.4.3.3 HEPATITIS ICTÉRICA

Los síntomas incluyen astenia intensa, mialgias, anorexia, náuseas, vómitos de corta duración, cefalea, febrícula, aversión al tabaco (los fumadores),

orinas colúricas, dolor en el hipocondrio derecho. Tres a seis días después del inicio de los síntomas comienza la ictericia, primero en conjuntivas y luego más extenso y generalizada, mejora el estado general desapareciendo la dispepsia y aminorándose la astenia.

En la exploración física se palpa hepatomegalia dolorosa en las dos terceras partes de los pacientes y en un 20% esplenomegalia.

La duración de la ictericia es variable siendo el promedio de unas tres semanas. (26)

El período de convalecencia comienza cuando desaparece la ictericia, pudiendo persistir molestias dispépticas y/o molestias en el hipocondrio derecho.

Analíticamente las transaminasas se elevan unas 8 ó 10 veces por encima de lo normal; la bilirrubina oscila entre 5 y 15 mg. La fosfatasa alcalina y la GGTP están 1,5 a 3 veces por encima de su valor normal. (25)

1.4.3.4 HEPATITIS COLESTÁSICA

Se caracteriza por elevaciones muy marcadas de la bilirrubina y de la fosfatasa alcalina. Tiene intenso prurito. El curso es prolongado (hasta 12 semanas de duración). El pronóstico es bueno porque la recuperación es total en la mayoría de los pacientes.

1.4.3.5 HEPATITIS SUBAGUDA

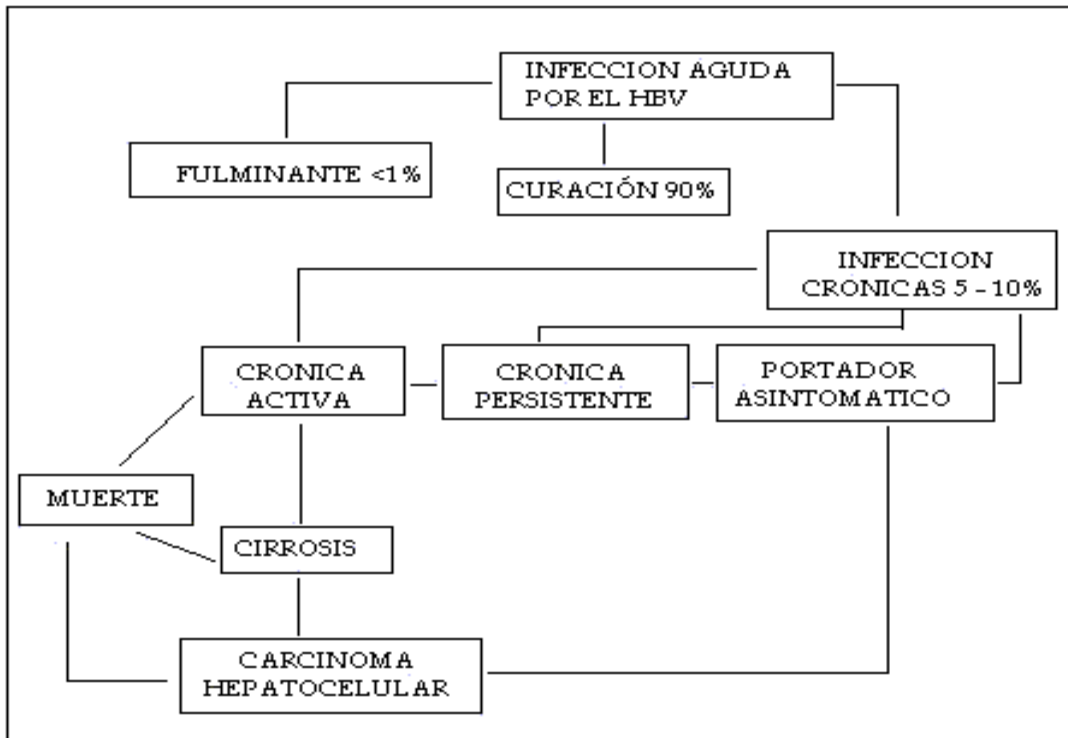
Hiperbilirrubinemia marcada y ocasionalmente tiempo de protrombina prolongado. Puede evolucionar a una hepatitis crónica activa (15 – 35%), desarrollar un fallo hepático idéntico a la forma fulminante o recuperarse.

1.4.3.6 HEPATITIS FULMINANTE

Se presenta insuficiencia hepática aguda en las primeras cuatro semanas de la enfermedad. Comienza en forma súbita con encefalopatías, alteraciones

severas de la coagulación, ictericia muy marcada, hipoglucemia e hipoalbuminemia. La mortalidad global superior al 85%.

TABLA # 5 CARACTERÍSTICAS DE LA HEPATITIS B AGUDA.



1.5 HEPATITIS CRÓNICA B

En la infección aguda, los hepatocitos infectados son destruidos por linfocitos T activados cuando reconocen en la membrana el Antígeno del Core junto con una glicoproteína HLA de tipo I. El virus no lesiona al hepatocito y, por lo tanto, en ausencia de replicación viral no se produce daño hepático.

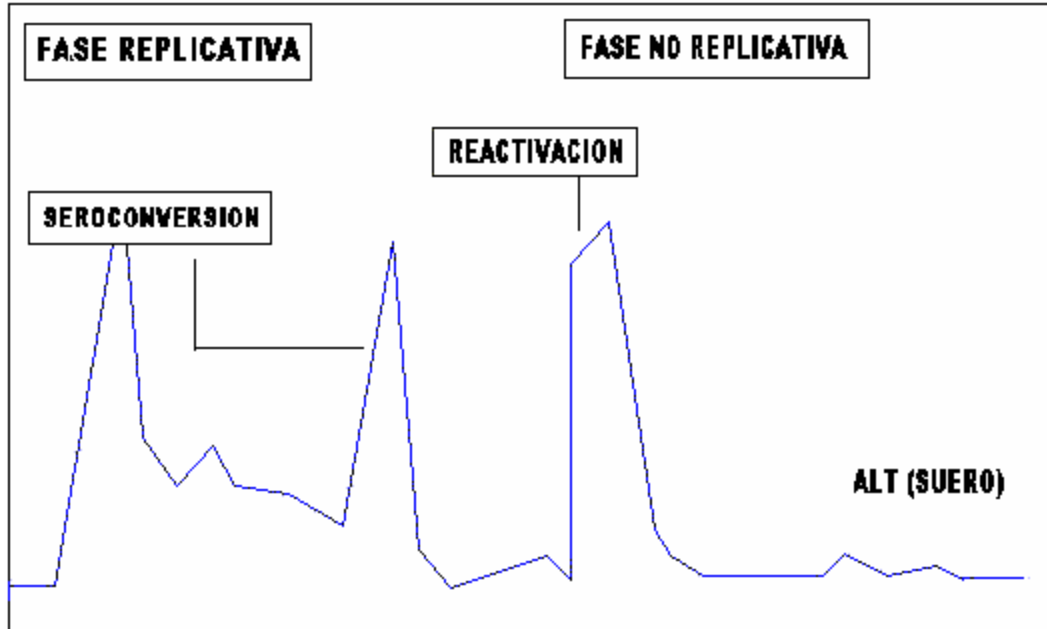
Aún no se conoce bien todos los factores que hacen que se cronifique la infección; pueden ser genéticos (ciertos tipos HLA), estado inmune (más frecuente en inmunodeprimidos), dosis de inoculación viral baja (poco poder antigénico), edad (muy frecuente en infecciones neonatales), etc. Se sabe que se establece cuando la respuesta inmune es ineficaz para destruir completamente los hepatocitos infectados. (34)

1.5.1FASES

1.5.1.1 Fase Replicativa: Se caracteriza además del antígeno de superficie y del Anti- HBc, es positivo el HBeAg, el HBV-DNA y la DNA polimerasa. El HBcAg se detecta en el núcleo y en el citoplasma del hepatocito; el genoma vírico o fragmentos se detectan en el citoplasma. Esta disminuido en el suero el cociente de linfocitos T4/T8. La persona es muy infecciosa. La duración de esta fase es muy variable.

1.5.1.2 Fase no Replicativa: Se caracteriza por ausencia de replicación viral. Las transaminasas descienden a valores normales o casi normales. El HBeAg se negativiza y aparece el Anti- HBe; también se negativizan el HBV-DNA y la DNA polimerasa. El HBsAg descienden en titulación pero habitualmente permanece positivo toda la vida; se debe a que una parte del genoma viral (la que codifica la síntesis del HBsAg) se ha integrado en algunos hepatocitos y estos, al multiplicarse, dan lugar a hepatocitos con genomas modificados por secuencias del DNA vírico. Esta fase es muy prolongada; a veces dura toda la vida.

FIGURA #10 FASES DE LA HEPATITIS



1.5.2 CARACTERÍSTICAS DE LA HBV CRÓNICA

CARACTERÍSTICA	REPLICATIVA	NO REPLICATIVA
EDAD	A MENUDO JÓVENES	A MENUDO MAYORES
TRANSAMINASAS SÉRICAS	GENERALMENTE ELEVADAS	GENERALMENTE NORMALES
HEPATOPATÍA	ACTIVA	INACTIVA O EN REMISIÓN
AgHBe	PRESENTE	AUSENTE
Anti Hbe	AUSENTE	A MENUDO PRESENTE
DNA-HBV	PRESENTE	AUSENTE
INFECTIVIDAD	ALTA	BAJA
RIESGO DE HEPATOMA	BAJA	ELEVADA

TABLA # 6 (Tomada de Kelley, William N. Et al. Medicina interna. Panamericana 1990 Pag. 634)

1.5.3 ESTUDIO DE LA INFECCIÓN POR HBV

los métodos serológicos suministran información vital en la infección por HBV. Las pruebas de diagnóstico se oficializaron en 1972 y actualmente las técnicas del laboratorio pueden detectar pequeñas cantidades de AgsHB (0.5 ng /ml) con una sensibilidad del 99%, reduciendo el riesgo de infección (28)

Un pequeño número de portadores crónicos pueden tener una concentración de AgsHB igual a un picogramo, siendo indetectable por la técnica empleada. En este caso los donantes son determinados por medio de anti - HBc. (24)

Los datos clínicamente importantes como infección reciente, ventana inmunológica, infección crónica, estado de portador, infección resuelta e inmunidad por vacunas; puede determinarse mediante cuatro marcadores básicos: AgsHB, AntiHBc IgM, AntiHBc total y AntiHBs. (29)

1.5.4 Interpretación de los marcadores serológico de HVB

El AgsHB es el marcador más empleado en el tamizaje de donantes de órganos o sangre, aunque su presencia en ausencia de otros marcadores no se constituye como prueba concluyente especialmente en los donantes de sangre, en cuyo caso las técnicas empleadas subestiman la incidencia debido a una antigenemia transitoria y natural.

El anti-HBc IgM es el marcador más confiable para establecer una diferencia entre infecciones recientes o pasadas. Establece el diagnóstico de hepatitis aguda ya que está presente desde el comienzo de los síntomas y permanece hasta la convalecencia por un período hasta de seis meses. (30) El anti-HBc IgG aparece poco después del inicio de síntomas siendo detectable por toda

la vida, estando presente en infección aguda, crónica y en quien resolvió la enfermedad. Es el marcador más útil en estudios seroepidemiológicos y para contactos de los pacientes. (29)

El anti-HBs establece inmunidad al virus ya sea por resolución del proceso infeccioso o por vacunación. Puede ser determinado de forma cualitativa y cuantitativa en el último caso se mide en miliunidades internacionales por litro (mIU/L).

Corrientemente no es necesario ni conveniente solicitar todos los marcadores; su estudio debe hacerse de acuerdo al estado del paciente así: en caso de la infección aguda es necesario realizar AgsHB e anti-HBc IgM. Si el AgsHB es el único marcador positivo es necesario repetir el estudio para verificar si se trata de una infección muy temprana o un falso positivo.

En el caso del control de infecciones agudas o crónicas se hace determinando AgsHB los cuales permiten establecer la persistencia o resolución del proceso respectivamente. En la infección aguda el control se realiza en 3-6 meses después del diagnóstico inicial. En la infección crónica se hace anualmente debido a la tasa de seroconversión (2%) anual en los portadores. (30)

Para estudios epidemiológicos y de contactos, el tamizaje se hace con el anti-HBc. En quienes este marcador resulta positivo se determina el anti-HBs y AgsHB para diferenciar portadores de quienes ya resolvieron el proceso.

Se ha establecido nacional e internacionalmente que a toda unidad de sangre debe realizarse el AgsHB; sin embargo, analizarla para anti-HBc aumenta la posibilidad de detectar infectados y con ello la seguridad de la

transfusión. De acuerdo al resultado obtenido en las pruebas se seguirá el procedimiento respectivo. (tabla 7 Y 8)

En caso de que un paciente con hepatitis fallezca se debe determinar la causa mediante las siguientes pruebas:

- *Estudio de los marcadores serológicos*: en las primeras horas de la muerte tomar una muestra de sangre por punción cardíaca y enviar el suero refrigerado al laboratorio de referencia.
- *Estudio histopatológico*: mediante necropsia o viscerotomía, tomar una muestra de hígado (2x1 cm) dentro de las primeras 12 horas, enviar el formol salino al 10% (90 mililitros de solución salina más 10 mililitros de formol).

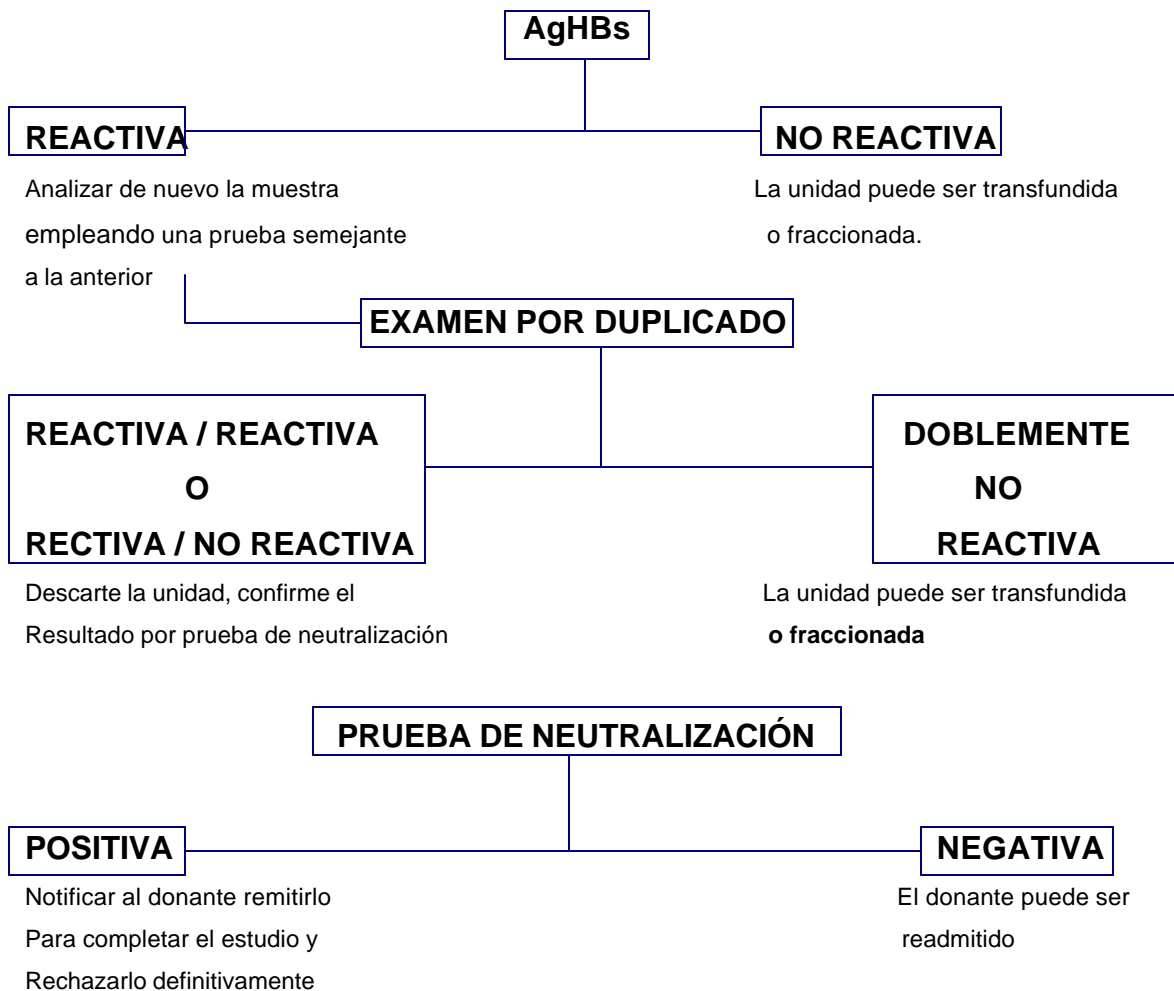


TABLA # 7 ESTUDIO DE LA UNIDAD DE SANGRE PARA VHB.

2. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo

2.2 POBLACIÓN

Para llevar a cabo este estudio se incluyeron los sueros de 92 donantes altruistas del Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional, recolectados en período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio de 2000 en forma aleatoria cuyos resultados para las pruebas de HBsAg fueran negativos y para el anti-HBc fueran reactivos o inconcluyentes.

Además de esto se tuvo en cuenta que los mismos fueran negativos para las restantes pruebas de rutina como sífilis, chagas, HIV tipo 1 y 2 y HVC. (20)

2.3 TIPO DE MUESTRA.

Todos los Kits comerciales indican con claridad si se requiere plasma o suero. Es fundamental cumplir con las especificaciones. Todas las pruebas de detección de anti-HBc emplean suero. Esto implica que en lo posible deben evaluarse muestras coaguladas que no contengan material en suspensión. La estandarización de la recolección es muy importante para garantizar la obtención de muestras en condiciones óptimas e identificadas en forma correcta. Cuando se requiere suero, la coagulación debe ser completa, si no es así, se pueden registrar resultados falsos positivos.

En general las muestras se conservan en el refrigerador de 2-8 grados cuando se efectúa la prueba dentro de las 48 horas siguientes a la toma de la sangre si va a transcurrir más tiempo, es necesario congelar las muestras y una vez se vayan a usar mezclar bien las muestras cuando estén descongeladas, se debe evitar ciclos de congelación y descongelación

repetidamente. Para evitar hemólisis separe el suero del coagulo o el plasma de los eritrocitos tan pronto como sea posible. Evite la contaminación bacteriana conservando las muestras a temperatura de 2 –8 °C durante dos semanas o a -20 °C de uno a cinco años en alícuotas de 1 ml. Las descongelaciones repetidas o con partículas en suspensión dan resultados erróneos. (9)

No deben utilizarse muestras hemolizadas o lipémicas porque podrían generar resultados falsos positivos o impedir la lectura correcta.

Como siempre, sólo deben usarse muestras de buena calidad, si es factible frescas, con coagulación completa y conservadas en forma adecuada. (20)

2.3.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Todos los sueros se recolectaron y manejaron con extremado cuidado para evitar contaminación durante todo el proceso. Todos los sueros fueron probados para HBsAg y anti-HBc por el laboratorio Organon Teknika en el Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional. Posteriormente fueron almacenados a –37 grados en el Banco de Sangre hasta su procesamiento.

2.4 DETERMINACIÓN DEL MARCADOR ANTI-HBc IgM PARA VHB.

El procesamiento de las muestras se realizó teniendo en cuenta las variables que ayudarían a cumplir con los objetivos del estudio. Los sueros se sacaron de –37 grados y se llevaron a la nevera para ser atemperados a 7 grados y posteriormente llevados a temperatura ambiente luego se centrifugaron y se probaron para anti-HBc IgM empleando dos casas comerciales: Laboratorio A y Laboratorio B.

Anti-HBcIgM : El inmunoensayo enzimático empleado para la determinación de este marcador en suero se basa en el principio Sándwich con captura de

anti-HBc IgM dado que es muy específico ya que los anticuerpos presentes en la muestra se fijan a los antígenos virales inmovilizados y luego se detectan mediante antígenos libres marcados con enzimas. Se empleó el sistema de micro ELISA siguiendo las recomendaciones de cada una de las casas comerciales empleadas.

2.5 ELISA

Existe para detectar antígenos o anticuerpos. En general los más simples se basan en el empleo de antígenos virales inmovilizados que capturan los anticuerpos presentes en las muestras para describir los ELISAS a menudo se usan los términos Primera, Segunda y Tercera generación que se refieren a la fuente antigénica.

* **Los de primera generación:** Utilizan virus nativos purificados o no purificados o lisados celulares infectados preparados a partir de cultivos.

* **Los de segunda generación:** Consisten en antígenos recombinantes obtenidos por clonación de fragmentos de ácido nucleico virales en levaduras, cultivo y purificación de las proteínas virales.

* **Los de tercera generación:** recurren a polipéptidos virales producidos por síntesis química. (31)

2.5.1 ELISAS USADAS EN EL ESTUDIO

2.5.1.1 LABORATORIO B

El Cobas Core Anti-HBc IgM es un enzimoimmunoensayo en fase sólida que se realiza en dos etapas y se basa en el principio de la captura de anticuerpos. En una primera etapa, las muestras diluidas del paciente se incuban con bolas cargadas de un anticuerpo monoclonal (ratón), específico para IgM humanas. Las IgM anti-HBc presentes en la muestra se fijan a la fase sólida (bola). Tras el lavado, se añade antígeno HBc recombinante

(rHBcAg) y conjugando anticuerpos anti-HBc- peroxidasa (anticuerpo anti-HBc conjugados con peroxidasa de rábano picante) El conjugado se fija al HBcAg de la bola. Después de un segundo lavado se incuban las bolas con el sustrato enzimático a fin de desarrollar un producto coloreado. La formación de color puede detenerse agregando ácido. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de anticuerpos IgM – Anti-HBc fijados. La intensidad se mide y compara con la de los controles positivo y negativo que han sido analizados paralelamente.

2.5.1.2 LABORATORIO A

Es un inmunoensayo en fase sólida que usa el principio Sándwich que mide en forma específica anti-HBc IgM en suero humano o plasma. En la primera incubación, los anticuerpos IgM del espécimen son capturados en perlas recubiertas con el anticuerpo específico para IgM humana. En la segunda incubación recombina el HBAg y el anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano picante que se adiciona después de la reacción con el anti-HBc IgM específico capturado en las perlas. Después de lavar el material, las perlas son transferidas al interior de los tubos para desarrollar la actividad enzimática con la peroxidasa de rábano picante junto con la enzima sustrato peróxido de hidrógeno y fenilendiamina . La reacción enzimática es parada por la adición de ácido y la intensidad del color de la solución es medida con espectrofotómetro. El valor de la absorbancia es proporcional a la cantidad de IgM Anti-HBc de la muestra.

2.6 CUTOFF (PUNTO DE CORTE O LÍMITE DE REACTIVIDAD):

Es la región de corte de los resultados, es decir, el valor a partir del cual se considera un resultado como positivo.

Para diagnóstico en el Banco de Sangre se requiere alta sensibilidad en las pruebas utilizadas. Debe evitarse falsos negativos por el peligro de transfundir sangre infectada.

Para diagnóstico clínico se requiere alta especificidad en las pruebas utilizadas. Debe evitarse obtener falsos positivos por el riesgo de iniciar tratamientos en individuos sanos.

En una prueba de ELISA el resultado de la reacción es definido por la lectura de la absorbancia o densidad óptica. Usualmente, cada estuche comercial tiene su forma de calcular el punto de corte; por encima o por debajo del cual las muestras se consideran reactivas o no reactivas, respectivamente.

Una muestra indeterminada o inconcluyente es aquella cuyos valores de DO están incluidos en *la zona gris* o zona límite. Esta zona comprende la franja de valores alrededor del punto de corte, dentro de la cual no se puede dar un resultado con certeza. (32)

El fabricante de los estuches diagnóstico indican cómo definir la zona límite.

Ejemplo: ELISA

	CASA COMERCIAL
PUNTO DE CORTE (PC)	0.20
10% DEL PC	$0.20/10= 0.02$
PC – 10% LIMITE INFERIOR DE LA ZONA LIMITE	$0.20-0.02= 0.18$
PC + 10% LIMITE SUPERIOR DE LA ZONA LIMITE	$0.20+0.02= 0.22$
SE CONSIDERAN COMO INDETERMINADAS LAS MUESTRAS CON DO	DE 0.18 A 0.22

2.7 CATEGORIAS

Los resultados Reactivo- Negativo de las muestras de las muestras fueron establecidos de acuerdo con los insertos de las casas. Para efectos de este trabajo, anticipando que algunas muestras podrían arrojar resultados diferentes, se crearon las siguientes categorías:

- * **Reactivo:** muestra reactiva después de la confirmación por duplicado y reproducción por los dos laboratorios empleados.
- * **Inconcluyente:** Cuando posterior a la confirmación por duplicado y de manera reproducible por los dos laboratorios el resultado no es claramente positivo o negativo alrededor del valor o punto de corte. El índice de reactividad permanece entre 0,3 y 1,5. Este índice fue establecido para el marcador anti-HBc formando el 10% del punto de corte (cutoff) de cada prueba.
- * **Discrepante:** cuando no se obtuvo el mismo resultado de manera reproducible por los dos laboratorios.
- * **Negativo:** muestra no reactiva de forma reproducible mediante los dos laboratorios usados.

2.8 PLAN DE ANÁLISIS

Para el análisis de la información se creó una base de datos en Epi – Info versión 6.04d de 2001 (A word processing, database and statistics program for Public Health), con base en un listado de variables, sus posibles resultados y su codificación.(33)

Se realizó un análisis donde se calculó la frecuencia, porcentaje acumulado, promedio, media, varianza, desviación estándar, error estándar, valor máximo medio y mínimo, moda para cada casa comercial.

3. RESULTADOS

Al estudio ingresaron un total de 92 muestras tomadas de la seroteca del Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional, en un período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio del 2000; caracterizados por anti- HBc reactivo o inconcluyente y ausencia del Ag- HBs. Estos sueros fueron probados para un único marcador de HVB (anti- HBc IgM) mediante dos laboratorios, y encontrándose resultados reproducibles sólo por el laboratorio A se encontraron dos sueros reactivos y uno inconcluyente para el marcador anti- HBc IgM, con una prevalencia del 3.2% que representa la posibilidad de transmitir el virus de cada 100 unidades transfundidas, y ochenta y nueve sueros con resultados negativos para éste marcador, con una prevalencia de 96.7% Esto indica un mayor porcentaje de sueros que no se encuentran en infección aguda, es decir, que son serologicamente no infectantes (figura # 11 PREVALENCIA Anti – HBc IgM)

LABORATORIO A					LABORATORIO B				
N	R	N	I	%	n	R	N	I	%
3	2	89	1	3.2	0	0	92	0	96.7

TABLA # 9 PREVALENCIA Anti – HBc IgM laboratorio A y B

n= total reactivos e inconcluyentes N= total negativos

R= total reactivos

I= total inconcluyentes

3.1 PREVALENCIA DEL MARCADOR anti- HBc IgM

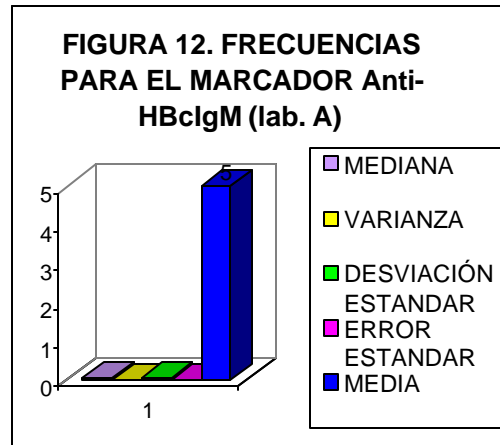
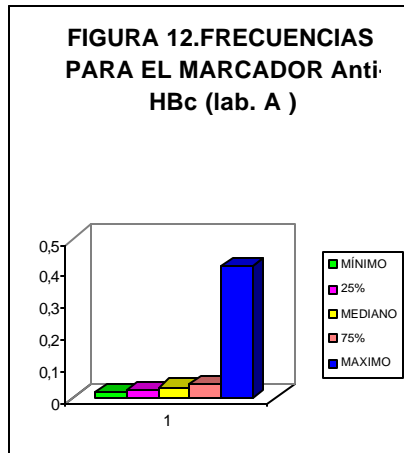
La frecuencia encontrada para éste marcador es diferente en cada una de las casa comerciales usadas como se puede observar en las tablas # 10, 11.

LABORATORIO (A)			
ABSORBANCIA	FRECUENCIA	PORCENTAJE	ACUMULADO
0,018	2	2,20%	2,20%
0,019	5	5,40%	7,60%
0,02	3	3,30%	10,90%
0,021	2	2,20%	13,00%
0,022	4	4,30%	17,40%
0,023	1	1,10%	20,70%
0,024	2	2,20%	20,70%
0,025	5	5,40%	26,10%
0,026	2	2,20%	28,30%
0,027	2	2,20%	30,40%
0,028	5	5,40%	35,90%
0,029	3	3,30%	39,10%
0,03	2	2,20%	41,30%
0,032	2	2,20%	43,50%
0,033	5	5,40%	48,90%
0,034	3	3,30%	52,20%
0,035	1	1,10%	53,30%
0,036	5	5,40%	58,70%
0,037	1	1,10%	59,80%
0,038	2	2,20%	62%
0,039	2	2,20%	64,10%
0,04	5	5,40%	69,60%
0,041	1	1,10%	70,70%
0,042	1	1,10%	71,70%
0,044	2	2,20%	73,90%
0,045	1	1,10%	75,00%
0,048	1	1,10%	76,10%
0,052	1	1,10%	77,20%
0,056	1	1,10%	78,30%
0,057	1	1,10%	79,30%
0,058	2	2,20%	81,50%
0,061	1	1,10%	82,60%
0,065	1	1,10%	83,70%
0,066	1	1,10%	84,80%
0,074	1	1,10%	85,90%
0,075	1	1,10%	87,00%
0,094	1	1,10%	88,00%
0,102	1	1,10%	89,10%
0,113	1	1,10%	90,20%
0,122	1	1,10%	91,30%
0,188	1	1,10%	92,40%
0,211	1	1,10%	93,50%
0,239	1	1,10%	94,60%
0,253	1	1,10%	95,70%
0,26	1	1,10%	96,70%
0,309	1	1,10%	97,80%
0,319	1	1,10%	98,90%
0,414	1	1,10%	100%
TOTAL	92	100%	

TOTAL	MEDIA	MEDIANA	VARIANZA	DESVIACIÓN ESTANDAR	ERROR ESTANDAR
92	5	0,058	0,005	0,073	0,008

MÍNIMO	25%	MEDIANO	75%	MAXIMO	MODA
0,018	0,025	0,034	0,046	0,414	0,019

TABLA # 10 FRECUENCIAS PARA EL MARCADOR anti -HBc IgM (laboratorio A)



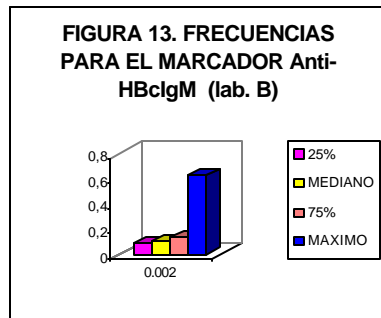
LABORATORIO (B)			
ABSORBANCIA	FRECUENCIA	PORCENTAJE	ACUMULADO
0,002	1	1.10%	1,10%
0,069	1	1.10%	2.20%
0,073	2	2.20%	4.30%
0,076	1	1.10%	5.40%
0,077	1	1.10%	6.50%
0,078	1	1.10%	7.60%
0,079	1	1.10%	8.70%
0,08	2	2.20%	10.90%
0,081	2	2.20%	13.0%
0,082	3	3.30%	16.30%
0,083	5	5.40%	21.70%
0,084	2	2.20%	23.90%
0,085	1	1.10%	25.50%
0,086	1	1.10%	26,10%
0,087	1	1.10%	27,20%
0,088	2	2.20%	29.30%
0,089	2	2.20%	31,50%
0,09	6	6.50%	38,00%
0,091	1	1.10%	39.10%
0,094	1	1.10%	40.2%
0,095	4	4.30%	44,60%
0,096	1	1.10%	45,70%
0,097	2	2.20%	47,80%
0,098	1	1.10%	48,90%
0,101	2	2.20%	51,10%
0,102	5	5.40%	56,50%
0,104	1	1.10%	57,60%
0,105	1	1.10%	58,70%
0,107	1	1.10%	59,80%
0,112	3	3.30%	63%
0,113	1	1.10%	64,10%
0,116	1	1.10%	65,20%
0,117	2	2.20%	67,40%
0,118	1	1.10%	68,50%
0,12	1	1.10%	69,60%
0,121	1	1.10%	70,70%
0,125	1	1.10%	71,70%
0,127	1	1.10%	72,80%
0,132	1	1.10%	73,90%
0,135	1	1.10%	75%
0,136	2	2.20%	77,20%

0,143	1	1.10%	78,30%
0,144	1	1.10%	79,30%
0,145	1	1.10%	80,40%
0,146	1	1.10%	81,50%
0,15	1	1.10%	82,60%
0,153	1	1.10%	83,70%
0,159	1	1.10%	84,80%
0,19	1	1.10%	85,90%
0,193	1	1.10%	87,00%
0,198	1	1.10%	88,00%
0,209	1	1.10%	89,10%
0,225	1	1.10%	90,20%
0,316	1	1.10%	91,30%
0,319	1	1.10%	92,40%
0,323	1	1.10%	93,50%
0,333	1	1.10%	94,60%
0,395	1	1.10%	95,70%
0,417	1	1.10%	96,70%
0,498	1	1.10%	97,80%
0,608	1	1.10%	98,90%
0,621	1	1.10%	100%
TOTAL	92	100%	

TOTAL	MEDIA	MEDIANA	VARIANZA	DESVIACIÓN ESTANDAR	ERROR ESTANDAR
92	13	0.137	0.011	0.107	0.011

MINIMO	25%	MEDIANO	75%	MAXIMO	MODA
0.002	0,085	0,101	0,136	0,621	0,09

TABLA # 11 FRECUENCIAS PARA EL MARCADOR anti –HBc IgM (laboratorio B)



3.1.1. Anti –HBc IgM:

La tabla # 12 indica que de 50 muestras inconcluyentes que corresponden al 54.34% para Anti –HBc total sólo 1 fue inconcluyente para el marcador Anti –HBc IgM que representa el 1.086% por laboratorio A y cero (0%) para laboratorio B. Esto nos indica que la muestra del laboratorio A puede ser un Anti–HBc IgM positivo, una prueba cruzada con Anti–HBc IgG o un falso positivo. Mientras que el laboratorio B nos indica que puede ser un falso negativo o tiene Anti–HBc IgG y no tiene Ant–HBc IgM.

De 42 muestras reactivas que corresponden al 45.66% para Anti –HBc total sólo dos fueron reactivas para el marcador Anti–HBc IgM, que representa el 2.17% por laboratorio A y cero (0%) para el laboratorio B; esto significa que las muestras reactivas en el laboratorio A son Anti–HBc IgM positivas o un falso positivo o Anti–HBc IgG + Ant–HBc IgM y que los resultados obtenidos por el laboratorio B tienen Ant–HBc IgG.

	Core total	%	IgM Lab. (A)	%	IgM Lab. (B)	%
I	50	54.34	1	1.086	0	0
N	0	0	89	96.74	92	100
R	42	45.66	2	2.17	0	0
TOTAL	92	100%	92	100%	92	100%

TABLA # 12. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL PARA EL PATRÓN SEROLÓGICO POR LAS DOS CASAS COMERCIALES.

El laboratorio A posiblemente es más sensible que el laboratorio B porque se están comparando con Anti-HBc total (Organon Teknika). Las muestras del laboratorio B posiblemente son específicas y no sensibles.

La tabla # 13 indica que de 47 mujeres que equivalen al 50% del estudio una mujer (1.06%) es reactiva para el marcador Anti-HBc IgM y 46 (48.93%) son negativas para el mismo marcador y de 45 hombres que equivalen al 50% del estudio un hombre (1.11%) es inconcluyente para el marcador Anti-HBc IgM, un hombre (1.11%) es reactivo y 47 hombres (47.77%) son negativos para el mismo marcador. Esto constituye el 100% de donantes que fueron analizados por laboratorio A.

Del 100% de donantes que fueron analizados por el laboratorio B el 50% de las mujeres y el 50% de los hombres fueron negativos para el marcador serológico Anti-HBcIgM.

SEXO					SEXO				
IgM LAB. A	F	%	M	%	IgM LAB. B	F	%	M	%
I	0	0	1	1.11	I	0	0	0	0
R	1	1.06	1	1.11	R	0	0	0	0
N	46	48.93	43	47.77	N	47	50	45	50
TOTAL	47	50%	45	50%	TOTAL	47	50%	45	50%

TABLA # 13. REACTIVIDAD SEGÚN SEXO Y LABORATORIO EMPLEADO

4. DISCUSIÓN

El tamizaje de rutina en los donantes de sangre para AgsHB ha disminuido significativamente la incidencia de hepatitis B postransfusional. Previos reportes realizados en zonas de alta endemia indican que ciertas unidades de sangre que son AgsHB negativo y poseen altos niveles de anti-HBc, son potencialmente infecciosos. (28)

Algunos estudios de la infección por Hepatitis B en voluntarios y en personas infectadas de modo natural por el virus parecen indicar que la proporción de los sujetos que se convierten en portadores crónicos del antígeno es mayor entre las personas que han tenido una infección leve o inaparente, que entre las que han tenido una enfermedad más grave. Por esta razón, la exclusión de la donación de sangre de sujetos con antecedentes clínicos de hepatitis B, pero que no tienen el antígeno detectable, puede no reducir apreciablemente la frecuencia de la hepatitis entre los receptores de sangre.

El marcador Anti -HbcIgM se analizó mediante dos laboratorios (A y B) puesto que éste era uno de los objetivos específicos planteados en nuestro estudio, que al final no se pudo cumplir porque de acuerdo con los resultados obtenidos se encontró una diferencia entre los dos que no se pudo establecer en éste estudio y pudo estar debida a que posiblemente una de las casas comerciales es más sensible y específica que la otra y además que cada uno de los kits de los laboratorios empleados posiblemente estén dirigidos hacia una proteína distinta del Core.

Los resultados de las 92 muestras analizadas con excepción de los dos casos reactivos y uno inconcluyente nos permiten observar que

corresponden a donantes no infecciosos que indican estados de inmunidad y no de infectividad por lo tanto no representan ningún riesgo transfusional.

El perfil serológico puede ser empleado en el monitoreo del curso de la enfermedad y provee una correlación serológica con el progreso de la misma. El significado e interpretación del patrón serológico determinado en este estudio es el siguiente:

El Anti-HBcIgM en concentraciones altas indican la presencia de una hepatitis viral aguda, implica que esta en marcha una enfermedad crónica relacionada con el virus B; que esta a títulos muy elevados en la fase aguda o de convalecencia, a títulos de uno en mil en estadios crónicos de la enfermedad y es negativo en infección pasada, después de seis a doce meses de la recuperación que es cuando sólo se detecta IgG. En la hepatitis fulminante el AgsHB puede estar en concentraciones bajas o no ser detectable. El diagnóstico se puede hacer solamente mediante el hallazgo de Anti-HBcIgM en el suero.

Considerando la importancia del VHB y teniendo en cuenta que es un problema de salud pública presente en todo el mundo, se hizo este estudio para confirmar de acuerdo con los resultados obtenidos, que se demuestran en las tablas 9 y 12 que el Anti-HBc IgM es un marcador muy específico; sin embargo, el hecho de que este marcador se presente en el 3.2% de las muestras, sugiere un estado infeccioso y por ende no se pueden emplear con fines transfusionales. Por otro lado, el restante 96.7% de los sueros que son no infecciosos pueden emplearse con fines transfusionales.

Para poder reentrar al donante después de un período de 4 – 6 meses es necesario repetir por el laboratorio todos los marcadores serológicos para el

VHB más las pruebas de tamizaje de rutina, porque si un donante que era un falso positivo en un principio se demuestra que es un donante sano porque todas sus pruebas son no reactivas, se acepta como donante, de lo contrario, se rechaza definitivamente al donante y se incinera la unidad.

Recientes estudios establecen que Anti-HBcIgM persiste por un período más largo durante la fase crónica que durante la fase aguda. El Anti-HBcIgM es detectable en ambas fases, y es considerado como un marcador muy específico para el serodiagnóstico de la hepatitis B aguda. (39)

5. CONCLUSIONES

- En Colombia existen dos tipos de Bancos de Sangre uno el que hace anti-HBc total que esta protegido y tiene la posibilidad de tener un sólo período de ventana inmunológica y el que no lo hace que tiene la posibilidad de tener un período de ventana adicional. El que sólo hace AgsHB y no hace anti-HBc total podrían estar positivos el Core M, el Core G o el Core G más el Core M y los tres pueden dar periodo de ventana, porque cuando el AgsHB se eleva tres a cinco semanas después se elevan los anticuerpos anti-HBcIgG y M al tiempo. Cuando el anti - HBcIgM empieza a caer el anti-HBcIgG ésta en su período máximo. Si un Banco de Sangre sólo hace anti-HBcIgM tiene la posibilidad de tener un período de ventana adicional que sería el 2 y no se puede detectar sino se hace anti - HBc total.
- Colombia es un país endémico para el VHB, por eso es importante que los Bancos de sangre hagan anti - HBc total dado que existe la posibilidad de transmitir el virus en al menos el 3.2 % de cada 100 unidades transfundidas, donde el 98% se cura y el 2% se cronifica y se vuelve cirrosis o cáncer hepático, de ésta forma se mejora la calidad de la medicina transfusional y se evita el contagio y propagación de la enfermedad.
- Es importante hacer core total ya que el VHB presenta mutaciones en sus regiones genéticas que hacen que el AgsHB disminuya su expresión por el laboratorio y se puedan estar transfundiendo pacientes con viremia positiva debido a que el antígeno de superficie esta deprimido .
- En el estudio se encontró un resultado inconcluyente que representa una reacción no especifica dentro del estudio que pudo estar debida a que el core da falsos positivos porque es una prueba muy sensible o porque esta

muestra pudo tener un core total tal alto que sobrepasa el valor del punto de corte de la prueba pasando como inconcluyente,

- Si hay una infección aguda por el VHB en cualquier etapa que curse concomitantemente con VHD el antígeno de superficie se deprime. Si el AgsHB que debiera estar elevado se disminuye el anti – HBc es el único marcador que se detecta de esta forma se está protegiendo al receptor porque si el banco de sangre hace core total está disminuyendo el riesgo de infección del VHB y VHD por transfusión porque la unidad se incinera.

- Se pueden recuperar todos los donantes que no tienen la infección ya que el core total es una prueba poco específica pero muy sensible es decir tiene más falsos positivos que falsos negativos es por esto que aquellos donantes que tengan core total reactivo o inconcluyente y AgsHB no reactivo se pueden reentrar después de un período de 4-6 meses si todas las pruebas son no reactivas, esto nos indica que el donante era un falso positivo y está sano, de lo contrario si alguna prueba es reactiva o inconcluyente después de 4-6 meses se debe rechazar al donante en forma definitiva.

- El presente estudio confirma y ofrece hallazgos importantes en el significado que tiene el core total en los bancos de sangre en Colombia y el impacto que tiene desde el punto de vista epidemiológico para tomar medidas en el País, empezando por establecer esta prueba como obligatoria mediante el decreto 1571 de 1993 ya que estamos en zona endémica para el VHB, VHD y VIH.

- Se podría transfundir aquellas unidades pertenecientes a donantes cuyo perfil serológico para HVB no represente ningún riesgo para la transmisión de

la infección por vía parenteral, si éste nos indica estados de inmunidad y no de infectividad.

- Para diferenciar una infección aguda en período de ventana inmunológica o infección pasada sin seroconversión (de antígeno a anticuerpo) es necesario determinar la anti – HBcIgM que se encuentran títulos elevados en la fase aguda o de convalecencia, a títulos de 1/1000 en estadíos crónicos de la enfermedad, y es negativo en infección pasada (después de seis a doce meses de la recuperación sólo se detectan IgG).

- Títulos en aumento anti–HBc y la presencia de anti–HBcIgM sugiere una hepatitis B aguda y se ha demostrado con el curso serológico de la enfermedad que una porción de pacientes con infección aguda con HVB nunca pueden detectarse anti–HBsAg, en algunos el HBsAg se vuelve indetectable antes de terminar la enfermedad y en unos pocos esta negativa, incluso antes del comienzo de la enfermedad. En este tipo de pacientes con HVB aguda, la infección puede establecerse por la presencia de anti–HBcIgM.

6. RECOMENDACIONES

Se deja abierta la posibilidad de un nuevo estudio con más número de muestras y los casos positivos confirmarlos por PCR, ya que es una prueba muy sensible , específica y rápida para detectar el ADN del VHB mediante la reacción en cadena de la polimerasa . Se puede detectar incluso la presencia de un solo genoma viral.

Si se hace uso de la PCR, se puede encontrar el ADN del VHB en el suero y en el Hígado después de la pérdida del AgHBs, sobretodo en los que han recibido tratamiento antiviral. La presencia del ADN del VHB en el suero detectada por PCR es un buen indicador del grado de viremia, se puede poner en relación con las concentraciones séricas de las transaminasas y corre paralela a la presencia del AgHBs en el suero.

**DETERMINACION DEL ANTICUERPO CONTRA EL ANTIGENO CORE DE TIPO IgM EN SUEROS INCONCLUYENTES Y REACTIVOS PARA CORE TOTAL DEL VHB TOMADOS DE LA SEROTECA DEL BANCO DE SANGRE DE LA CRUZ ROJA COLOMBIANA SEDE NACIONAL.
JACKELINE GARCIA, PAOLA MARTINEZ**

RESUMEN

En éste estudio se determinó el grado de infectividad por medio del anticuerpo contra el antígeno core de tipo IgM usando dos laboratorios cuando el HBsAg es no reactivo y el anticuerpo contra el antígeno core total es reactivo o inconcluyente, teniendo en cuenta que los mismos fueran negativos para las demás pruebas de tamizaje como sífilis, chagas, VIH tipo 1 y 2, y HVC en 92 sueros tomadas de la seroteca del Banco de Sangre de la Cruz Roja Sede nacional, en un período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio del 2000 analizando los resultados para una segunda entrada de posibles donantes.

ABSTRACT

In this study the infectividad degree was determined by means of the antibody against the antigen type core IgM using commercial two house (A and B) when the HBsAg is I don't reactivate and the antibody against the antigen total core is reagent or inconclusive, keeping in mind that the same ones were negative for the other tamizaje tests like syphilis, chagas, VIH type 1 and 2, and HVC in taken 92 serums of the seroteca of the Bank of blood of the Red Cruz of Santafé of Bogotá, in one period understood between June 14 and July 27 the 2000 analyzing the results for a second entrance of possible donors.

PALABRAS CLAVES: Marcadores serológicos , anti-HBc IgM , ELISA, Reactiva, inconcluyente.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales efectos adversos en las transfusiones, es la transmisión de infecciones, el riesgo de adquirirlas varía de acuerdo a la prevalencia en la población donadora. Para tal fin se han establecido pruebas de

laboratorio obligatorias a realizar en toda unidad de sangre, las cuales son mencionadas en decreto 1571 de 1993 y corresponden a: Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y 2 (HIV 1-2), Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (AgHB),

Virus de la hepatitis C (HVC) y Sífilis. Por otro lado, según la prevalencia regional, deben ser realizadas pruebas adicionales a las citadas anteriormente, con el fin de ser ajustados a las necesidades de cada zona; es por esto que la resolución No. 001738 del 30 de mayo de 1995, decreta la realización de la prueba para *Tripasoma cruzi* (Chagas). (1)

En donantes de sangre manifiestamente sanos de diferentes partes del mundo se han encontrado grandes variaciones de la prevalencia del antígeno de la hepatitis B. La prevalencia varía también con factores tales como la posición social y económica y el sexo del donante, que la donación sea voluntaria o remunerada y que el donante viva en su casa o en una institución. El antígeno se ha detectado más frecuentemente en varones de los grupos más jóvenes. (3)

Con este estudio queremos determinar la infectividad para el virus de la hepatitis B (HVB) en unidades de sangre. Se realizó un estudio descriptivo (estudio y reporte de casos), que incluyó 92 muestras de donantes del Banco de sangre de la Cruz roja colombiana Sede nacional, cuyas características fueron ser reactivos o inconcluyentes para Anti HBc y negativos para el AgsHB; las cuales fueron probadas para Anti HBc IgM, empleando dos

laboratorios diferentes con el fin de ver aquellas muestras que representan un alto riesgo transfusional y aquellas que no son serológicamente infectantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los sueros se recolectaron y manejaron con extremado cuidado para evitar contaminación durante todo el proceso. Todos los sueros fueron probados para HBsAg y anti-HBc por el laboratorio Organon Teknika en el Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana sede nacional. Posteriormente fueron almacenados a -37 grados en el Banco de Sangre hasta su procesamiento.

DETERMINACIÓN DEL MARCADOR ANTI-HBc IgM PARA VHB.

El procesamiento de las muestras se realizó teniendo en cuenta las variables que ayudarían a cumplir con los objetivos del estudio. Los sueros se sacaron de -37 grados y se llevaron a la nevera para ser atemperados a 7 grados y posteriormente llevados a temperatura ambiente, luego se centrifugaron y se probaron para anti-HBc IgM empleando dos casas comerciales: Laboratorio A y Laboratorio B .

Anti-HBcIgM : El inmunoensayo enzimático empleado para la determinación de este marcador en suero se basa en el principio

Sándwich con captura de anti-HBc IgM dado que es muy específico ya que los anticuerpos presentes en la muestra se fijan a los antígenos virales inmovilizados y luego se detectan mediante antígenos libres marcados con enzimas. Se empleó el sistema de micro ELISA siguiendo las recomendaciones de cada una de las casas comerciales empleadas.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Al estudio ingresaron un total de 92 muestras tomadas de la seroteca del Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana Sede Nacional, en un período comprendido entre el 14 de junio y el 27 de julio del 2000; caracterizados por anti-HBc reactivo o inconcluyente y ausencia del Ag- HBs. Estos sueros fueron probados para un único marcador de HVB (anti- HBc IgM) mediante dos laboratorios, y encontrándose resultados reproducibles sólo por el laboratorio A se encontraron dos sueros reactivos y uno inconcluyente para el marcador anti- HBc IgM, con una prevalencia del 3.2% que representa la posibilidad de transmitir el virus de cada 100 unidades transfundidas, y ochenta y nueve sueros con resultados negativos para éste marcador, con una prevalencia de 96.7%. Esto indica un mayor porcentaje de sueros que no se encuentran en infección aguda, es decir, que son serologicamente no infectantes.

LABORATORIO A					LABORATORIO B				
n	R	N	I	%	n	R	N	I	%
3	2	89	1	3.2	0	0	92	0	96.7

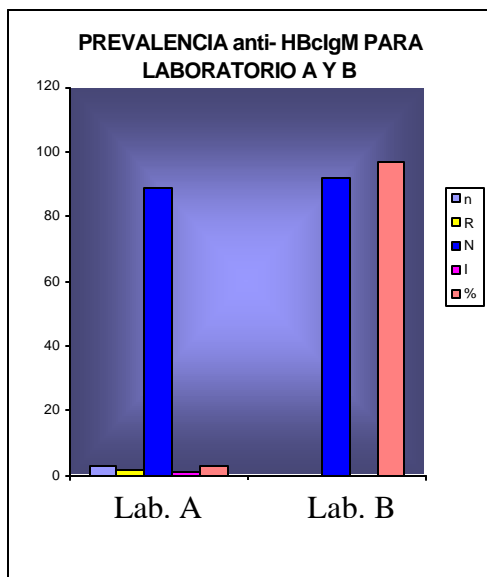
PREVALENCIA Anti – HBc IgM LABORATORIO A Y B

n= total reactivos e inconcluyentes
 N= total negativos
 R= total reactivos
 I= total inconcluyentes

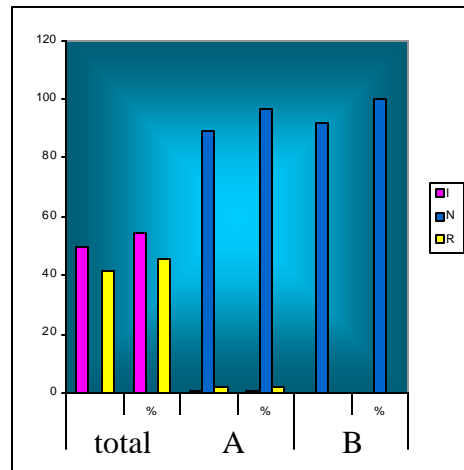
	Core total	%	IgM Lab A	%	IgM Lab B	%
I	50	54.34	1	1.086	0	0
N	0	0	89	96.74	92	100
R	42	45.66	2	2.17	0	0
TOTAL	92	100%	92	100%	92	100%

La anterior tabla indica que de 50 muestras inconcluyentes que corresponden al 54.34% para Anti –HBc total sólo 1 fue inconcluyente para el marcador Anti–HBcIgM que representa el 1.086% por laboratorio A y cero (0%) para laboratorio B. Esto nos indica que la muestra del laboratorio A puede ser un Anti–HBcIgM positivo, una prueba cruzada con Anti–HBcIgG o un falso positivo. Mientras que el laboratorio B nos indica que puede ser un falso negativo o tiene Anti–HBc IgG y no tiene Anti–HBcIgM. De 42 muestras reactivas que corresponden al 45.66% para Anti –HBc total sólo dos fueron reactivas para el marcador Anti–HBc IgM, que representa el 2.17%

por laboratorio A y cero (0%) para el laboratorio B; esto significa que las muestras reactivas en el laboratorio A son Anti-HBc IgM positivas o un falso positivo o Anti-HBc IgG + Anti-HBc IgM y que los resultados obtenidos por el laboratorio B tienen Anti-HBc IgG.



DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL PARA EL PATRÓN SEROLÓGICO POR LAS DOS CASAS COMERCIALES.



CONCLUSIONES

- En Colombia existen dos tipos de Bancos de Sangre uno el que hace anti-HBc total que esta protegido y tiene la posibilidad de tener un sólo período de ventana inmunológica y el que no lo hace que tiene la posibilidad de tener un período de ventana adicional. El que sólo hace AgsHB y no hace anti-HBc total podrían estar positivos el Core M, el Core G o el Core G más el Core M y los tres pueden dar periodo de ventana, porque cuando el AgsHB se eleva tres a cinco semanas después se elevan los anticuerpos anti-HBcIgG y M al tiempo. Cuando el anti-HBcIgM empieza a caer el anti-HBcIgG ésta en su período máximo. Si un Banco de Sangre sólo hace anti-HBcIgM tiene la posibilidad de tener un período de ventana adicional que sería el 2 y no se puede detectar sino se hace anti-HBc total.

- Colombia es un país endémico para el VHB, por eso es importante

que los Bancos de sangre hagan anti – HBc total dado que existe la posibilidad de transmitir el virus en al menos el 3.2 % de cada 100 unidades transfundidas, donde el 98% se cura y el 2% se cronifica y se vuelve cirrosis o cáncer hepático, de ésta forma se mejora la calidad de la medicina transfusional y se evita el contagio y propagación de la enfermedad.

- Es importante hacer core total ya que elVHB presenta mutaciones en sus regiones genéticas que hacen que el AgsHB disminuya su expresión por el laboratorio y se puedan estar transfundiendo pacientes con viremia positiva debido a que el antígeno de superficie esta deprimido .

- En el estudio se encontró un resultado inconcluyente que representa una reacción no específica dentro del estudio que pudo estar debida a que el core da falsos positivos porque es una prueba muy sensible o porque esta muestra pudo tener un core total tal alto que sobrepasa el valor del punto de corte de la prueba pasando como inconcluyente,

- Si hay una infección aguda por el VHB en cualquier etapa que curse concomitantemente con VHD el antígeno de superficie se deprime. Si el AgsHB que debiera esta elevado se disminuye el anti – HBc es el único marcador que se detecta de esta forma se esta protegiendo al receptor porque si el

banco de sangre hace core total esta disminuyendo el riesgo de infección del VHB y VHD por transfusión porque la unidad se incinera.

- Se pueden recuperar todos los donantes que no tienen la infección ya que el core total es una prueba poco específica pero muy sensible es decir tiene más falsos positivos que falsos negativos es por esto que aquellos donantes que tengan core total reactivo o inconcluyente y AgsHB no reactivo se pueden reentrar después de un período de 4-6 meses si todas las pruebas son no reactivas, esto nos indica que el donante era un falso positivo y esta sano, de lo contrario si alguna prueba es reactiva o inconcluyente después de 4-6 meses se debe rechazar al donante en forma definitiva.

- El presente estudio confirma y ofrece hallazgos importantes en el significado que tiene el core total en los bancos de sangre en Colombia y el impacto que tiene desde el punto de vista epidemiológico para tomar medidas en el País, empezando por establecer esta prueba como obligatoria mediante el decreto 1571 de 1993 ya que estamos en zona endémica para el VHB, VHD y VIH.

- Se podría transfundir aquellas unidades pertenecientes a donantes cuyo perfil serológico para HVB no represente ningún

riesgo para la transmisión de la infección por vía parenteral, si éste nos indica estados de inmunidad y no de infectividad.

- Para diferenciar una infección aguda en período de ventana inmunológica o infección pasada sin seroconversión (de antígeno a anticuerpo) es necesario determinar la anti – HBcIgM que se encuentran títulos elevados en la fase aguda o de convalecencia, a títulos de 1/1000 en estadios crónicos de la enfermedad, y es negativo en infección pasada (después de seis a doce meses de la recuperación sólo se detectan IgG).

- Títulos en aumento anti–HBc y la presencia de anti–HBcIgM sugiere una hepatitis B aguda y se ha demostrado con el curso serológico de la enfermedad que una porción de pacientes con infección aguda con HVB nunca pueden detectarse anti–HBsAg, en algunos el HBsAg se vuelve indetectable antes de terminar la enfermedad y en unos pocos esta negativa, incluso antes del comienzo de la enfermedad. En este tipo de pacientes con HVB aguda, la infección puede establecerse por la presencia de anti–HBcIgM.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó gracias a la colaboración del Banco de Sangre de la Cruz Roja Colombiana seccional Bogotá quien financió el proyecto y prestó sus instalaciones y equipos para que este trabajo pudiera ser culminado . También agradecemos a todas aquellas personas que de una u otra forma estuvieron presentes y nos brindaron su apoyo, sabiduría y colaboración incondicional para que este estudio hoy fuera una realidad.

BIBLIOGRAFIA

1. BANCO NACIONAL DE SANGRE CRUZ ROJA COLOMBIANA. Protocolo de enfermedades infecciosas. Actualización 2000; pág. 10 – 12.
2. VELEZ A, Botero J, Restrepo J, Rojas W; Hepatitis viral En: enfermedades infecciosas. 5ta edición, CIB, Medellín Colombia, 1996; pág 616– 631
3. OMS. Hepatitis vírica. Informe de un grupo científico. Ginebra. Informe técnico No. 512. Vol. 074; 1973.
4. KRYGER P. Significance of anti-HBcIgM in the differential diagnosis of viral Hepatitis. J virol. Methods 1985; vol. 10 pág. 283 – 289.

5. PIEDROLA Gonzalo, Pumarola A., Rodríguez A. , García J., et. al. Virus de la hepatitis B Microbiología y parasitología médica, 2da edición, Salvat, Barcelona,1987; pág. 706 – 714.
6. JAWETZ H, Melnick J, Adelberg E. Virus de la Hepatitis. En: Microbiología médica, 12a edición, El manual moderno, México 1987; pág. 460-474
7. DEWHURST S Hepadnaviruses (VHB) University of Rochester medical center. USA. [htt://www.Medynet.com.usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.htm](http://www.Medynet.com.usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.htm).
8. BLUMBERG BS, Alter HJ, Visnich SA, New antigen in leukemia sera. JAMA, 1965; Vol. 191 pág. 541.
9. MENDELL G Douglas G Bennett J, Hepadnaviridae,virus de la Hepatitis B y D En: Enfermedades infecciosas, 3ra edición, Panamericana Buenos Aires, 1991; pág. 1269 – 1296.
10. HARRISON T. Jean W, Braunwalis E, et. al. Harrison's Principles of internal medicine, vol. 2, New York, Mc Graw Hill, 1991; pág. 1322 – 1340.
11. BUSHELL J. Virus de la Hepatitis B Biomédica 1991; vol. 11 pág. 27-31.
12. LINARES A. Hepatitis viral En: Seminario de Medicina Interna. Universidad del Rosario. Ediciones médicas Zambon 1995; Pág. 120 – 178.
13. PUGH Jc. Molecular Biology of hepadnavirus replication En: British Medical Bulletin, 1990; Vol. 46 No. 2 pág. 329-353.
14. ALCARAZ MJ. Virus de la hepatitis B En: Estructura genómica y Marcadores Clínicos. WWW. Semi. es/control/revi – sero/ Rvirhbs. htm.
15. FUENTES A, Diagnóstico de la hepatitis tipo B En: Valores de los marcadores Pre-S2 y anti Pre-S2, Enfermedades infecciosas microbiología clínica 1998; pág. 38 - 43

BIBLIOGRAFÍA

1. DOIMA Hepatitis virica 1980 pàg 11-12.
2. KUHNS MC, hepatitis viral 1995 pàg 650-659.
3. ZUCHE RMAN J, Alphabet of hepatitis viruses. Lancet ,1996,Vol 347
Pàg 559-569.
4. PIEDROLA Gonzalo, Pumarola A., Rodríguez A. , García J., et. al. Virus de la hepatitis B Microbiología y parasitología médica, 2da edición, Salvat, Barcelona,1987; pág. 706 – 714.
5. VELEZ A, Botero J, Restrepo J, Rojas W; Hepatitis viral En: enfermedades infecciosas. 5ta edición, CIB, Medellín Colombia, 1996; pág 616– 631.
6. CASTRILLON J, Vélez A. Estudio sobre hepatitis B en Antioquia, Boletín epidemiológico de Antioquia. 1994; pág. 342 – 349.
7. JAWETZ H, Melnick J, Adelberg E. Virus de la Hepatitis. En: Microbiología médica, 12a edición, El manual moderno, México 1987; pág. 460-474
8. BLUMBERG BS, Alter HJ, Visnich SA, New antigen in leukemia sera. JAMA, 1965; Vol. 191 pág. 541.

9. MENDELL G, Douglas G, Bennett J, Hepadnaviridae, virus de la Hepatitis B y D En: Enfermedades infecciosas, 3ra edición, Panamericana Buenos Aires, 1991; pág. 1269 – 1296.
10. HARRISON T. Jean W, Braunwalis E, et. al. Harrison's Principles of internal medicine, vol. 2, New York, Mc Graw Hill, 1991; pág. 1322 – 1340.
11. BUSHELL J. Virus de la Hepatitis B Biomédica 1991; vol. 11 pág. 27-31.
12. LINARES A. Hepatitis viral En: Seminario de Medicina Interna. Universidad del Rosario. Ediciones médicas Zambon 1995; Pág. 120 – 178.
13. PUGH Jc. Molecular Biology of hepadnavirus replication En: British Medical Bulletin, 1990; Vol. 46 No. 2 pág. 329-353.
14. ALCARAZ MJ. Virus de la hepatitis B En: Estructura genómica y Marcadores Clínicos. WWW. Semi. es/control/revi – sero/Rvirhbs. htm.
15. FUENTES A, Diagnóstico de la hepatitis tipo B En: Valores de los marcadores Pre-S2 y anti Pre-S2, Enfermedades infecciosas microbiología clínica 1998; pág. 38 - 43
16. DEWHURST S. Hepadnaviruses (VHB) University of Rochester medical

center. USA. [http://www. Medynet.com.usuarios/nnuneza/
hepadnaviruses.htm](http://www.Medynet.com.usuarios/nnuneza/hepadnaviruses.htm).

17. PUGH JC. Immunology of hepatitis B virus infection En: British Medical Bulletin, 1990; Vol. 46 No. 2 pág. 355 -367.
18. IGLESIAS A. Egea E Aspectos inmunológicos e inmunogenéticos de la Hepatitis B. Acta médica colombiana, 1992; vol. 17 pág. 174-178.
19. FEITELSON M Biology of Hepatitis virus variants Laboratory investigation 1994; vol.71 pág. 324 – 349.
20. BANCO NACIONAL DE SANGRE CRUZ ROJA COLOMBIANA. Protocolo de enfermedades infecciosas. Actualización 2000; pág. 10 – 12.
21. OMS. Hepatitis vírica. Informe de un grupo científico. Ginebra. Informe técnico No. 512. Vol. 074; 1973
22. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Publicación científica No. 538. Décimo quinta edición, 1992.
23. BUTI M, Esteban R, Esteban JI y Cols. Prevalencia de la infección por virus Delta en pacientes infectados por el virus de la Hepatitis B. 1984; Ann Int Med, vol. 1 pág. 421 – 423.
24. VELASQUEZ G. Complicaciones infecciosas de las transfusiones

sanguíneas. Boletín epidemiológico. 1994; pág. 263

25. BANNINGER P, Altorfer J, Frosner GG, et. al. Prevalence and significance of anti – HBcIgM in acute and chronic Hepatitis B and in blood donors. Hepatology 1983; vol. 3 pág. 337 – 342.
26. LEMON SM, Gates NL, Simms TE, et. al. IgM antibody to Hepatitis B Core antigen as a diagnostic parameter of acute infection with Hepatitis B virus. Journal infection diseases. 1981; vol. 43 pág. 803 – 809.
27. BRUGUERRA R. Sánchez JM. Hepatitis vírica aguda, características epidemiológicas de la Hepatitis A, B y no A no B. Gastroenterology and Hepatology, 1982; vol. 2 pág. 237 – 240.
28. Public Health Service Inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues and semen for evidence of hepatitis B and Hepatitis C. MMWR. 1991; 40 (RR -4): pag. 1-17.
29. BUSCH J., Korelitz S., Kleinman S., et al. Declining Value of Alanine aminotransferasa in screening of blood donors to prevent posttransfusion hepatitis B and C virus infection. Transfusion 1995; vol. 35 pág. 903-910.
30. GODZINSKIJ., Bush M., Kleinman S., et al. Relationship between antibody to hepatitis B core antigen and retroviral infection in blood from volunteer donors. Transfusion 1996., 36: 232-237).
31. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. . El control de las

enfermedades transmisibles en el hombre. Publicación científica
No. 630. 1999.

32. ABBOTT. Manual del usuario del QUANTUM II (CUTOFF DATA REDUCTUÓN).
33. DEAN G, Dean J, Coulombier D, et al. en Epi – Info versión 6.04d de 2001. A word processing, database and statistics program for Public Health. Atlanta, Georgia, 2001.
34. LINDENSCHMIDT Ch, Granato K, et al. Evidence for a limited humoral Inmunoglobuline M antibody response to Hepatitis B core antigen During acute and chronic Hepatitis B virus infection. J clin Microbiol. 1985; vol. 21 No. 6, pág 1000-1003.
35. HENNEKENS C. Epidemiology in medicine. First edition. Little brown and company, 1987. pág. 248.
36. PICAZO J, Fuentes A, León P. Serología de la Hepatitis vírica. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades Infecciosas. 1993; <http://www.seimc.org/protocolos/cap2/htm>.
37. KRYGER P. Significance of anti-HBcIgM in the differential diagnosis of viral Hepatitis. J virol. Methods 1985; vol. 10 pág. 283 – 289.
38. UZCATEGUI N, Flores J , Liprandi F. Desarrollo de un ensayo enzimático para la determinación de anticuerpos IgM anti cápside del VHB. 1998; vol 39 No. 1 pág. 19 –28.
39. BENCHÁ P, kalayanee K. A new solid phase passive hemagglutination

test for IgM(antibody to Hepatitis B core Antigen) Am Journal clinical pathology vol. 87 No. 2 pags. 267 – 270 febrero de 1987).

FIGURA 11. PREVALENCIA anti- HBcIgM PARA EL LABORATORIO A Y B.

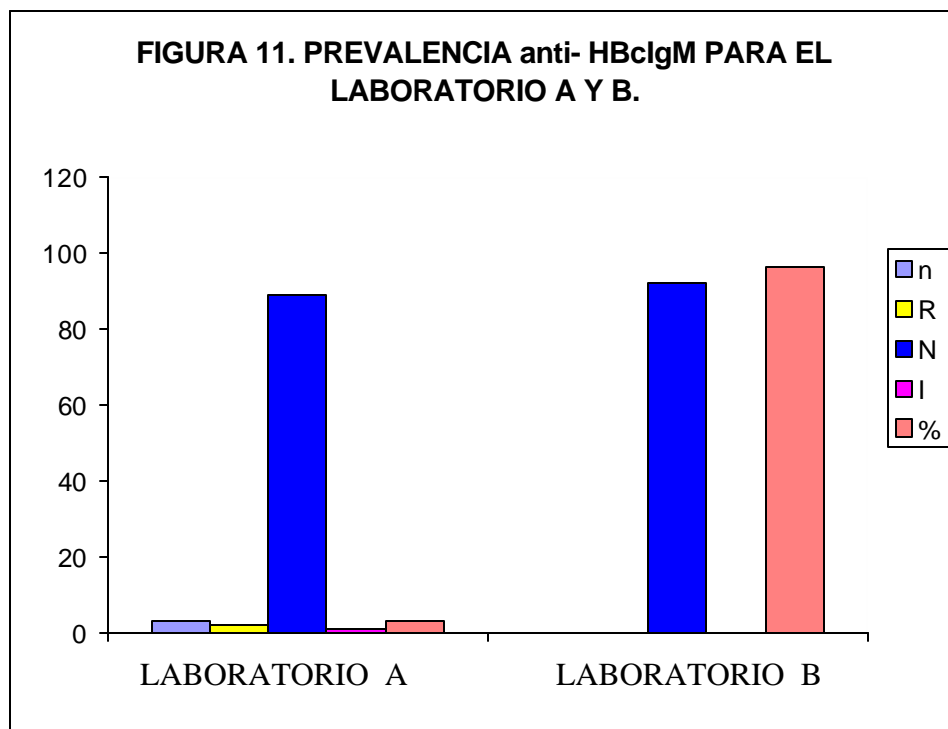


FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL PARA LOS PATRONES SEROLÓGICOS POR LAS DOS CASAS COMERCIALES

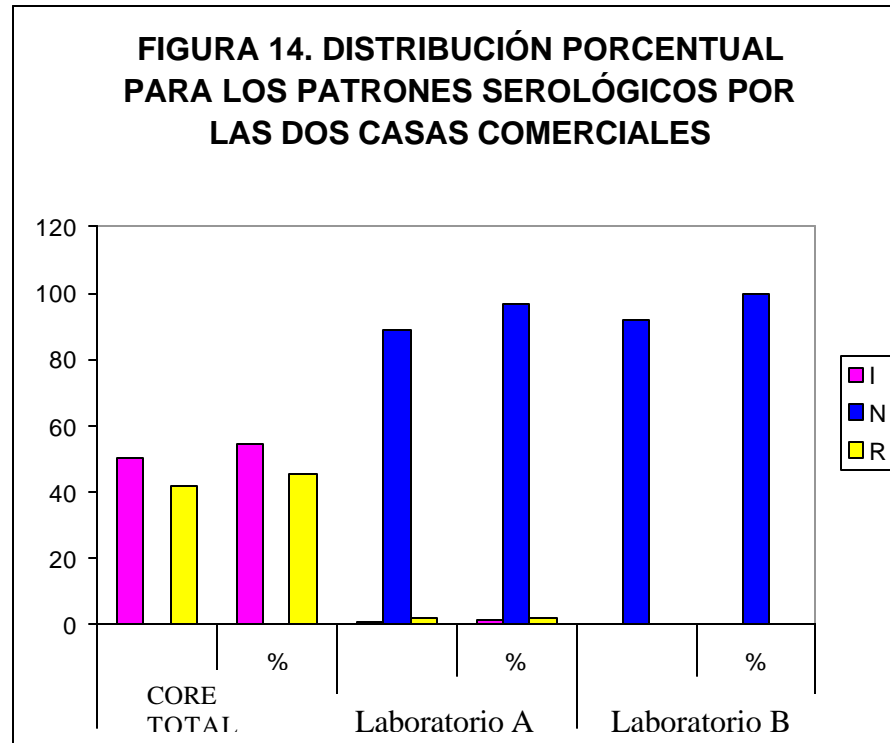


FIGURA 15. REACTIVIDAD SEGÚN SEXO Y LABORATORIO EMPLEADO

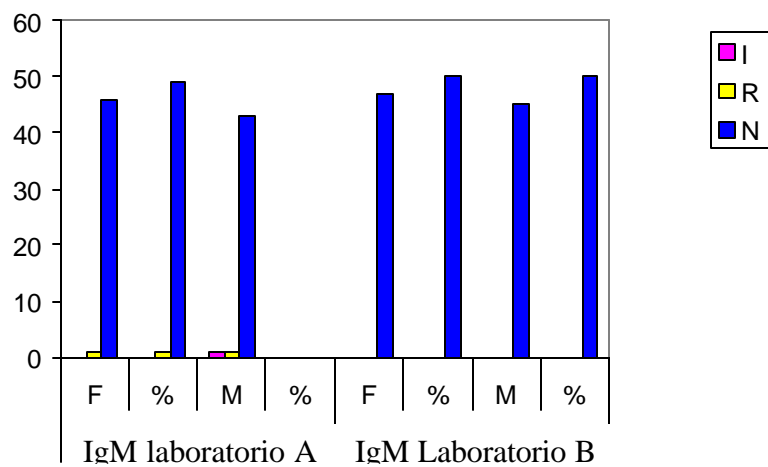
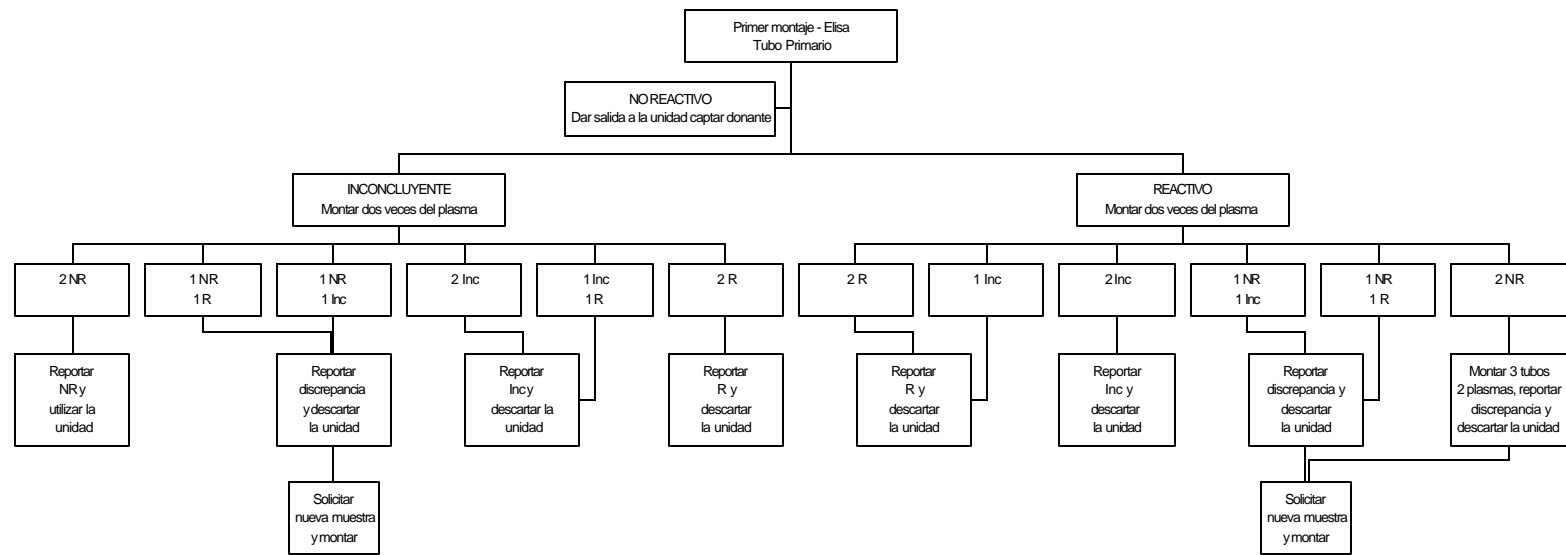


TABLA # 8 CONFIRMACIÓN Y REPORTE DE LA PRUEBA DE ANTICORE DE DONANTES DE SANGRE



NR = NO REACTIVO
 Inc = INCONCLUYENTE
 R = REACTIVO

EXPERIMENTAL DISEÑO (Anexo # 6)

