

870118

4
29

Universidad Autónoma de Guadalajara

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



FALLA DE ORIGEN

DETERMINACION DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE
(HBsAg) DEL VIRUS DE LA HEPATITIS TIPO B,
CON METODO INMUNOENZIMATICO DE ELISA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

ALBERTO JESUS ARRIOLA MARQUEZ

ASESOR: Q.F.B. MA. DEL SOCORRO PULIDO

GUADALAJARA, JAL.,

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

1.	INTRODUCCION	1
2.	GENERALIDADES	5
2.1	Historia de la Hepatitis Viral	6
2.1.2	Descubrimiento del antígeno Australia	8
2.2	Virus de Hepatitis	9
2.2.1	Morfología	9
2.3	Hepatitis viral	11
2.3.1	Etiología de la infección	11
2.3.2	Hepatitis de suero	13
2.3.3	Patología	14
2.3.4	Aspectos inmunológicos	16
2.3.5	Inmunidad humoral	18
2.3.6	Inmunidad celular	19
2.3.7	Pruebas serológicas para la hepatitis viral	20
2.4	Prevención y control	21
2.4.1	Aspectos clínicos	21
2.4.2	Diagnóstico por laboratorio	24
2.4.3	Prevención de la hepatitis viral	25
2.4.4	Recomendaciones generales	27
2.4.5	Información y educación	29
2.4.6	Hospitales	30
2.4.7	Tratamiento	34
2.4.8	Inmunoterapia profiláctica	35

3.	MATERIALES Y METODO	38
3.1	Sistema MICROELISA	40
3.2	Características del Sistema MICROELISA	41
3.3	Principio de la prueba	42
3.4	Procedimiento	45
3.5	Obtención de resultados	47
3.6	Seguridad general	48
	3.6.1 Controles, reactivos y solución THB	48
	3.6.2 Especimen	48
	3.6.3 Almacenaje y estabilidad	49
4.	RESULTADOS	51
5.	CONCLUSIONES	55
6.	BIBLIOGRAFIA	59

I N T R O D U C C I O N

Desde épocas antiguas las enfermedades han causado al hombre muchos problemas, y la hepatitis no ha sido una excepción, con los avances realizados en la medicina se han podido investigar y desarrollar métodos prácticos de laboratorio que ayudan al diagnóstico de una alteración o un trastorno en el organismo y seguir dicha enfermedad hasta eliminarla o controlarla.

En este trabajo, se investigó la confiabilidad de la técnica más reciente y utilizada para la detección del Antígeno de superficie de la hepatitis tipo B (HB_sAg), el método inmuno-enzimático de microelisa con donadores normales del Hospital Notre-Dame.

Una infección con el virus de la hepatitis tipo B pueden manifestarse como una enfermedad larga y severa. Durante el curso de la infección el virus (una partícula de doble corteza llamado "Partícula de Dane"), puede ser encontrado en la sangre junto con grandes cantidades de antígeno particulado originalmente descrito como antígeno Australia, pero ahora -- llamado como Antígeno de superficie de la hepatitis tipo B -- (HB_sAg).

Este antígeno es marcador específico para el virus de la hepatitis tipo b y está presente a las cuatro semanas luego de la infección y puede persistir por muchos meses antes de --

su eliminación y la aparición de anticuerpos libres anti HBs.

El antígeno de superficie y a menudo el virus de la hepatitis tipo B pueden ser detectados en la sangre de algunas personas que son aparentemente saludables y muchos que no tienen una historia de hepatitis. Estos portadores asintomáticos son un problema para los servicios de transfusión de sangre y más recientemente para unidades de hemodíalisis renal.

Métodos sensibles se han desarrollado para detectar casos agudos y también para excluir el virus de la hepatitis tipo B como causa de síntomas de hepatitis del paciente.

La hepatitis es la única enfermedad viral del hombre -- (aparte del virus del sida HVI) en la que se observa un aumento en incidencia como resultado de cambios de condiciones sociales y hasta hace poco la falta de una vacuna efectiva.

Después del descubrimiento de los virus causantes de los tipos de hepatitis A y B, se han incrementado las investigaciones hacia una vacuna eficaz, ya que ningún virus se ha podido desarrollar en medios de cultivo artificiales, hace más difícil su estudio.

Por lo tanto, la finalidad de este trabajo es demostrar que el método inmunoenzimático de microelisa, es confiable y -

fácil de realizar en los laboratorios de rutina y bancos de --
sangre para la detección del antígeno.

GENERALIDADES

2. - GENERALIDADES

2.1 Historia de la Hepatitis Viral

La regla del triumvirato del corazón, cerebro e hígado -- probablemente tiene su origen en los escritos Egipcios antiguos. Los Egipcios consideraban al corazón como el órgano de mayor importancia. Los Babilonios, por otra parte, veían al hígado como el asiento y espejo del alma y en ceremonias divinas los hígados de animales sacrificados eran examinados por sacerdotes [2000 A.C.]

Descripciones de enfermedades de hígado y particularmente de ictericias, se encuentran en el Talmud Babilónico (siglo V-A.C.) y la ictericia parece haber sido muy común en ese tiempo. Hipócrates, durante el mismo período, describió ictericia epidémica como la cuarta clase de ictericia, pero la interpretación del término epidémico está en duda, ya que la bilis amarilla fue vista como uno de los cuatro humores y el agente responsable de la mayoría de las fiebres. Parece que la naturaleza contagiosa de ictericia fue primero mencionado en el octavo siglo A.C., en una carta del Papa Zacarías a San Bonifacio.

La primera descripción definitiva de una epidemia de ictericia entre civiles fue mencionada por Herlitz en Göttingen en 1791. Findlay y asoc. (1939) sumó el conocimiento en patología y etiología de ictericia catarral epidémica desde 1839 y-

revisó la evidencia de que hepatitis infecciosa en el hombre era una infección viral.

El ataque de la enfermedad era siempre asociado con un -- ataque gastrointestinal, que era supuestamente una infección -- microbiana, no necesariamente específica, se extendía hacia la parte superior del intestino para bloquear el ducto biliar por inflamación cataral o colangitis y así se introdujo el término de ictericia cataral.

Eppinger [1908] enseñó que todas las ictericias eran obstruccionales en origen, ya fuera que la obstrucción ocurriera en los ductos extrahepáticos mayores como en ictericia cataral o en capilares biliares, como en el caso de cirrosis.

La epidemia de la hepatitis infecciosa durante la segunda Guerra Mundial alcanzó vastas proporciones, cinco millones de casos ocurrieron en los ejércitos alemanes y civiles solamente, mientras que grandes epidemias llegaron a las fuerzas aliadas -- especialmente en la región del Mediterráneo. A pesar de avances tremendos en el conocimiento de la hepatitis, esta infección fue de nuevo un problema serio de la guerra de Israel para su independencia en 1948, los conflictos Árabe-Israelíes en 1956 y 1967 durante la campaña de Corea y Sur de Vietnam.

2.1.2 Descubrimiento del Antígeno Australia

El antígeno en este suero único contenía poco o ningún lipoproteína B de superficie y claramente se diferenciaba de lipoproteínas B de suero, ya que el suero de reacción fue obtenido de un aborigen australiano, el antígeno fue llamado "Australia".

Estudios subsiguientes en áreas diferentes del mundo revelaron que este antígeno era raro o ausente en comunidades europeas y norteamericanas pero que ocurría frecuentemente en el suero de gente saludable viviendo en trópicos y en Asia -- del Suroeste (6-25%).

El antígeno fue encontrado frecuentemente en el suero de pacientes con Leucemia y fue sugerido que la presencia de antígeno Australia puede ser de valor diagnóstico temprano de Leucemias y más que el antígeno puede ser relacionado con el virus postulado como la causa de Leucemia. Pacientes con síndrome de Down son conocidos como personas de un alto riesgo de Leucemia y hasta un 30% de suero de tales pacientes fue encontrado en antígeno Australia.

2.2 VIRUS DE LA HEPATITIS

2.2.1 Morfología

El virus de la hepatitis tipo B (HBV) ha sido extensamente estudiado en suero, hígado y otros tejidos por medio de microscopía electrónica, inmunofluorescencia e insumo electros-copla.

El virus de la hepatitis tipo B aparece bajo la forma de tres partículas diferentes. En dos de éstas, los principales componentes son esferas de 20 nm y formas filamentosas; la tercera forma es una partícula con doble cubierta, de 42 nm con un centro de 27 nm (Partícula de Dane).

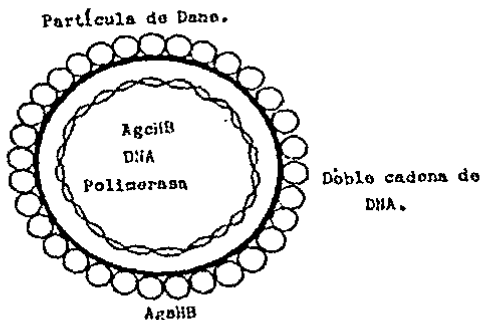
La estructura central semeja un rinovirus, la partícula de Dane probablemente es el virión infeccioso de la hepatitis B. El centro o núcleo aparentemente prolifera en el núcleo del hepatocito mientras que la doble capa superficial es agregada al citoplasma. Tiene un peso molecular de 3×10^6 , del cual 5% es RNA.

Las tres partículas muestran un determinante antigénico de superficie, el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), y resiste temperaturas de 60° por 10 minutos o de 100° por periodos cortos, no es extraíble por éter ni es digerido por las enzimas proteolíticas usuales.

El centro de la partícula de Dane contiene DNA-polimerasa y lleva un determinante antigénico conocido por antígeno central de la hepatitis B (HBcAg). El anticuerpo correspondiente es el anticuerpo contra la porción central del virus de la hepatitis B (anti-HBcAg).

La presencia de anticuerpos contra la porción central del virus de la hepatitis refleja multiplicación continua del virus, mientras que la DNA-polimerasa correlaciona los períodos máximos de replicación viral.

El análisis del antígeno de superficie de la hepatitis B muestra que no es un antígeno homogéneo, sino que está formado por varios determinantes antigénicos. La determinación de subtipos antigénicos tiene únicamente importancia epidemiológica pero no se relaciona con los caracteres clínicos de la enfermedad.



2.3 HEPATITIS VIRAL

2.3.1 Etiología de la infección

La etiología viral de hepatitis fue establecida finalmente durante la segunda Guerra Mundial por experimentos de --- transmisión exitosa a voluntarios humanos, primero en Alemania por Voegt (1942) y luego en Palestina por Cameron (1943)- y en Gran Bretaña por MacCallum en (1951) y en Estados Unidos.

Voegt (1942) fue el primero en reportar la transmisión - exitosa a voluntarios humanos por transmisión oral de jugo -- duodenal y por la inyección subcutánea e intramuscular de suero o sangre de otro paciente con hepatitis.

Demostó la infectividad de la sangre obtenida durante - la etapa febril de la enfermedad en pacientes con ictericia, sangre total o suero eran inyectados a voluntarios y la ictericia se desarrolla en seis meses en todos los casos de voluntarios que se pudieron seguir.

Este tipo de hepatitis infecciosa pudiera ser transmitida al hombre por administración oral de suspensiones fecales o filtrados de suspensiones fecales, por la inyección o administración oral de suero obtenido durante la fase aguda de la enfermedad, con un período de incubación de 15 a 43 días, con un promedio de 28 días.

CARACTERISTICAS DE LOS VIRUS DE HEPATITIS A Y B.

CARACTERISTICA	VIRUS DE HEPATITIS A (HAV)		VIRUS DE HEPATITIS B (HBV)		
	HBV	HBsAg	HBsAg	HBcAg	HBcAg
Morfología	Simétrica cúbica.	Esférica	Esférica	Esférica	Esférica
Tamaño (diámetro)	27 nm	42 nm	22 nm	26 nm	26 nm
Acido Nucléico	RNA	DNA	—	—	DNA
Estabilidad					
Eter	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
Temperatura					
-20°C	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable
37-60°C	Estable	Estable	Estable	Estable	Inactivo
39 min	Inactivo	Inactivo	Estable	Estable	Inactivo
100°C, 1 min a pH ácido	Estable	Inactivo	Estable	Estable	Estable
Irradiación UV	Inactivo	Estable			
Neutralización					
Antisero de -- Hepatitis A	si	no	--	--	--
Antisero de -- Hepatitis B	no	si	--	--	--
Huésped					
Hombre	si	si	--	--	--
Chimpancé	si	si	--	--	--
Tití	si	no	--	--	--
Inmunidad					
Homóloga	si	si			
Heteróloga	no	no	--	--	--

El agente infeccioso estaba presente en las heces y sangre durante el periodo de incubación de hepatitis infecciosa y durante la parte temprana de la fase clínica de la enfermedad.

Las heces fueron mostradas como infecciosas en los siguientes tiempos: en el 25vo. día del periodo de incubación y en el primero del octavo día luego del ataque de ictericia.

2.3.2.- Hepatitis de Suero

La hepatitis de suero ha sido definida en base a la forma de hepatitis producida con la inyección de sangre humana o plasma en fracciones y desarrollo cerca de 40 a 200 días luego de la inoculación. Una evidencia de un estado de transmisión prolongado por un periodo de 5 años puede resultar en algunos pacientes con o sin signos de enfermedad de hígado.

Se demostró la transmisión persistente de antígeno de hepatitis B por más de 20 años.

También se registró la historia del caso de donadores en cuya sangre, el virus de hepatitis de suero fue encontrado -- 135 días luego de donar sangre.

Los más recientes estudios en voluntarios, confirman que hay dos tipos inmunológicos, clínicos y epidemiológicos de hepatitis. Un tipo de enfermedad, inducida por suero MS-1, parece a hepatitis infecciosa clásica (hepatitis A). Se caracterizó por un período corto de incubación y fue altamente infeccioso y de contacto natural. El segundo tipo de infección, inducido por suero MS-2 (Hepatitis B).

Esta infección tuvo un período de incubación largo y con pruebas bioquímicas de función de hígado fueron en su totalidad más típicas de encuentros con hepatitis de suero y es infecciosa tanto por vía bucal como parental y se disemina por contacto.

2.3.3.- Patología

Este virus entra al cuerpo con la inoculación artificial de suero humano al igual que por otras rutas no comprendidas.

El período de incubación es mayor que el del virus de hepatitis A, por decir seis semanas a seis meses (promedio de diez semanas). Aunque el virus de hepatitis B puede persistir en el suero por meses o años, luego de la recuperación del paciente. (Hasta 10 partículas de HBsAg pueden ser determinadas por microscopía de electrón).

Una biopsia de hígado con infección con hepatitis A o B revela necrosis de parénquima de hígado. Raramente el paciente desarrolla hepatitis fulminante o muere en días de atrofia amarilla aguda.

Hepatitis activa crónica o subaguda lleva a la muerte o a cirrosis y luego a carcinoma de hígado.

La regeneración de parénquima de hígado es completa en un tiempo de 2-3 meses. En casos de hepatitis B (de núcleo) son demostrables por inmunofluorescencia y microscopía electrónica en el núcleo de células de hígado afectado mientras que el antígeno de superficie de hepatitis B es visto, junto con partículas de Dane en el citoplasma.

En el período agudo de la enfermedad, el hígado se encuentra aumentado de tamaño, de color rojo amarillo, blando. Microscópicamente se observan focos aislados de necrosis da-
tos de regeneración y degeneración hepática, infiltración linfocitaria tanto en espacios portales como en la periferia de los focos de necrosis, hiperplasia de las células de Kupffer y en variaciones en los caracteres tintoriales y morfológicos de los hepatocitos.

Por medio de tinciones (orceína ácida) es posible en algunos casos de hepatitis por virus B, identificar cuerpos de in

clusión café obscuro, que corresponden al virus B.

En términos generales, la imagen histológica es idéntica en la hepatitis A como en la hepatitis B, sin embargo se menciona que la hepatitis por virus A, la colestasis es más común y en la hepatitis B, a menudo se observa un mayor grado de necrosis.

2.3.4.- Aspectos Inmunológicos

Los anticuerpos se desarrollan regularmente luego de infección y confieren protección duradera contra una reinfección con el mismo serotipo, pero sólo protección parcial contra serotipos heterogéneos para que un individuo pueda tener más de un ataque de hepatitis viral.

Los estudios en respuesta inmune han sido hechos con anticuerpos antinucleares de hepatitis B (anti-HBc), que surgen rápido y persisten mientras HBcAg continúa sintetizando, es por tanto un indicador de infección activa.

Siendo los primeros anticuerpos que aparezcan durante la infección aguda subclínica o clínica, y persistentes durante el estado de transporte de HBsAg. Anticuerpos anti HBs por otra parte surgen de 3 semanas a 6 meses luego que el anti-HBc persiste casi indefinidamente en cerca de la mitad de to-

das las infecciones con el virus de la hepatitis B, son los únicos anticuerpos neutralizantes y por lo tanto son el mejor indicador de infección pasada y de inmunidad.

Como en otras infecciones crónicas (anticuerpos pueden contribuir al estado de enfermedad), durante la etapa preicté-rica grandes números de hepatocitos intactos contienen el núcleo del virus HB, antígeno de superficie y viriones demostrables por inmunofluorescencia y microscopía electrónica, el daño hepático puede resultar de citolisis inmune de hepatocito-infectado no citotóxicamente por anticuerpos de fijación de complemento o linfocitos T sensibilizados.

La gran mayoría de estudios acerca de los aspectos inmunológicos de la hepatitis viral se refieren a la infección -- por el virus HB. La proteína superficial del virus de la hepatitis B (HBsAg), se localiza en el citoplasma de los hepatocitos mientras que el antígeno (HBcAg) se localiza en el núcleo de esas células.

Este tipo de distribución tisular y la aceptación de que las partículas de Dane completas son el agente causante de la hepatitis.

Las cadenas polipeptídicas de la proteína del antígeno de superficie de la hepatitis B pueden estar presentes en for

ma completa o incompleta en las membranas celulares, que influyen en la patología. Durante la etapa tardía del período de incubación de la hepatitis viral por virus B. Inmediatamente antes del inicio de la lesión hepática, su distribución es uniforme de antígeno de superficie de hepatitis B y antígeno del centro de la hepatitis virtualmente en cada hepatocito. - En este período también se encuentran grandes cantidades de - antígeno de superficie y la actividad máxima de DNA-polimerasa del virus de la hepatitis B en el suero.

2.3.5.- Inmunidad Humoral

Durante la infección por virus de la hepatitis B ocurren dos tipos de respuesta inmunológica que puede tener importancia patogénica potencial:

- a) Producción de anticuerpos humorales a los diversos componentes estructurales del virus y
- b) Formación de anticuerpos dirigidos a moléculas ligadas específicas asociadas con la membrana superficial del hepatocito.

El inicio de la formación de anticuerpos contra el antígeno de superficie de la hepatitis B puede presentarse antes o durante la instalación del daño hepático.

La formación de anticuerpos contra el antígeno de superficie da lugar a la aparición de suero anticomplementario a la demostración de complejos antígeno-anticuerpo y a la unión de inmunoglobulina G a las partículas circulantes. Los anticuerpos contra el antígeno central, aparecen en el suero 12 a 20 semanas después de la exposición al virus durante la fase tardía del período de incubación del antígeno de superficie de la hepatitis B.

En respuesta de anticuerpos persistentes a través de la fase aguda y de remisión de la hepatitis B también en los portadores. La persistencia de anticuerpos contra la porción central del virus pueden ser el marcador serológico más sensible de la replicación continua del virus.

2.3.6 Inmunidad Celular

La inmunidad celular puede participar en la patogenia de la hepatitis viral. Los linfocitos T reconocen y responden a estructuras del complejo de histocompatibilidad mayor que son modificados por el virus.

La inducción de inmunidad celular para el antígeno de superficie de la hepatitis B ha sido sugerida por blastogénesis linfocitaria como respuesta al antígeno de superficie. La evi

dencia de inmunidad celular es demostrable únicamente en asociación con niveles elevados de transaminasa glutámico oxalacética, ya sea durante la hepatitis aguda o la crónica activa.

La inmunidad celular es máxima en la fase de convalecencia después de la desaparición del antígeno de superficie de la hepatitis B y está ausente en la hepatitis crónica persistente por virus B y en los portadores.

2.3.7.- Pruebas serológicas para la hepatitis viral

Havens revisó (1954) los intentos de Gear para realizar una prueba serológica para diagnóstico de hepatitis de suero. Un anticuerpo de fijación de complemento y precipitina fue encontrado en el suero convaleciente de algunos pacientes con hepatitis luego de inmunización con vacuna de fiebre amarilla. Este anticuerpo reaccionó con un antígeno encontrado en el suero de fase agudo.

Similarmente, anticuerpos de fijación de complemento y precipitación fueron demostrados en sueros de fase convalescentes que reaccionaron con antígenos en suero de fase aguda y en extractos de salina de hígado humano normal y de pacientes con hepatitis, sin embargo, no fue hasta el descubrimiento de antígeno Australia que fue una prueba serológica repro-

duccion y especifica finalmente se haga disponible para el diagnostico de hepatitis de suero.

2.4 PREVENCIÓN Y CONTROL

2.4.1 Aspectos clínicos

Las imágenes de hepatitis infecciosa (A) y la de suero (B) son casi indistinguibles, signos prodromales son referibles al tracto gastrointestinal. Anorexia y malestar son los aspectos dominantes, con fiebre intermitente, náuseas, vómito, diarrea y ternura de hígado.

Cerca de una semana después el paciente se siente temporalmente mejor por unos días hasta que la ictericia se hace evidente, la orina se oscurece y las heces pueden volverse pálidas y ofensivas. La recuperación se toma al menos de 4-6 semanas y la lassitud y depresión a menudo queda por más tiempo. La enfermedad es más suave en niños que en adultos, infecciones en niños son anictéricas y mucho más inaparentes.

La mortalidad varía de 0.1% con hepatitis A y hasta 10% o más en hepatitis B de transfusión. En hepatitis B la imagen clínica no se distingue pero en general es más seria. Manifestaciones extrahepáticas, atribuibles a la formación de complejos inmunes entre HBsAg y el anticuerpo correspondiente --

(IgM), incluyen enfermedad de suero, poliarteritis nodosa y glomerulonefritis.

Algo menos de 10% de casos de hepatitis B progresan a hepatitis persistente o activa crónica o subaguda que puede seguir en cirrosis y se cree que a hepatoma maligno.

La mortalidad de pacientes con hepatitis B es cerca del 1% debido al porcentaje alto de muerte en hepatitis postransfusión (10-21%), que es atribuible parcialmente a la gran dosis de virus recibidos y parcialmente a la enfermedad subyacente de la cual tales pacientes son ya sufridores.

El cuadro clínico de la hepatitis puede dividirse en tres fases: el período prodómico que tiene una duración variable que oscila entre unos cuantos días y unas cuantas semanas y se caracteriza por una serie de síntomas inespecíficos semejantes a los que presenta una infección viral y se observa predominio de las manifestaciones digestivas. El enfermo tiene malestar general, astenia hiporexia, dolor muscular y articular, febrícula y un malestar vago.

El período clínico o agudo, se caracteriza por la instalación de ictericia y de los signos y síntomas que la acompañan como son coluria y diversos grados de hipocolia que incluso puede llegar a la acolia. Frecuentemente se encuentra do--

lor en el cuadrante superior derecho del abdomen debido al -- crecimiento súbito del hígado con distensión de su cápsula y -- muy ligera esplenomegalia.

En el periodo de remisión, todos los síntomas y signos -- descritos tienden a disminuir y eventualmente desaparecen a -- un plazo de 6 a 7 semanas, en los niños, se observa fiebre en el periodo prodrómico, dicha elevación llega a los 39°C y --- tiende a remitir uno o dos días después de haberse presentado la ictericia.

También es común en los niños los síntomas gastrointesti -- nales o de vías respiratorias altas que pueden confundirse -- con gastroenteritis o infección faringoamigdalina. La dura--- ción de la enfermedad en el paciente pediátrico es más corta -- que en el adulto, y en general la ictericia no dura más de 2- a 3 semanas, los niños manifiestan prurito.

Frecuentemente se puede precisar el periodo de incuba--- ción de la enfermedad con antecedente de epidemia de hepatis -- tis en la comunidad, contacto con enfermos ictericos, exposi -- ción a frecuentes potenciales de contagio (inyección, transfu -- sión de sangre, vacunación, hemodialisis, contactos sexuales -- sospechosos, atención odontológica, tatuaje), que puedan in-- clinar la opinión del clínico hacia la etiología por virus A -- o por Virus B.

2.4.2.- Diagnóstico por laboratorio

Ictericia puede resultar de tal variedad de causas infecciosas, tóxicas y obstructivas, que investigaciones de laboratorio son adecuadas.

Hasta que técnicas desarrollan para aislamiento de virus causante en células cultivadas, debemos confiar en serología y pruebas de función hepática, para distinguir hepatitis viral de otras causas de ictericia.

a) Bilirrubinas.- Habitualmente se elevan en grado variable a expensas de bilirrubina conjugada, que no excede de 6 a 8 mg%. En ocasiones se observan grandes retenciones de pigmentos, con cifras de bilirrubina conjugada de más de 30 mg% sin que signifique mayor gravedad de la enfermedad. En los niños el nivel es de 10 mg%, parece ser desfavorable del padecimiento.

b) Transaminasas.- Tanto la transaminasa glutámico oxalacética, como la pirúvica se elevan en forma importante durante la hepatitis viral aguda. Habitualmente la elevación es -- más de 500 unidades/ml, y con frecuencia se observan cifras -- que rebasan las 1000 U. En los niños es posible encontrar --- enormes elevaciones de transaminasa (6000 U) en hepatitis viral aguda.

c) Fosfatasa alcalina.- Frecuentemente se eleva en forma proporcional a la elevación de la bilirrubina, sobre todo -- cuando existe colestasis intrahepática importante, en los niños y en enfermos de edad de crecimiento la fosfatasa alcalina puede estar elevada, a expensas de su isoenzima o sea, independientemente de la alteración en la retención de pigmentos biliares.

d) Citología Hemática.- Frecuentemente se observa linfocitosis relativa y aceleración de la sedimentación glomerular. Habitualmente no se presenta anemia, leucocitosis o alteración plaquetaria.

2.4.3.- Prevención de la hepatitis viral

El control de la hepatitis viral depende de la posibilidad de disponer y utilizar en forma adecuada uno o más de los procedimientos siguientes: 1) Implantar medidas generales que interrumpan la cadena de transmisión del virus y 2) Inmunización pasiva con globulina sérica inmune (ISG) e inmunización activa, cuando se disponga de vacunas seguras y eficaces. Antes que se formule cualquier medida de control, es requisito previo esencial conocer la evolución y epidemiología de la hepatitis viral.

La aplicación extensa de pruebas serológicas para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) ha demostrado la importancia de la hepatitis como problema clínico y de salud pública. La presencia de HBsAg en la sangre de pacientes o personas aparentemente sanas hace pensar no sólo en la existencia de una afección hepática, sino también en el riesgo de transmitir el virus de hepatitis.

La posibilidad de transmitir el virus de la hepatitis a personas susceptibles se relaciona con muchos factores, incluyendo higiene personal, técnica de asepsia, ropa para protección, estado mental. En las recomendaciones para limitar la diseminación de hepatitis B se ha saltado el reducir al mínimo la exposición a las fuentes de infección. Se ha enfocado a la mejora de la higiene personal y del medio ambiente, vigilancia de la enfermedad, educación pública y seguridad de la transfusión de sangre. Estudios en pacientes que han recibido transfusiones muestran que la frecuencia de hepatitis B por transfusión ha disminuido en forma importante solicitando que en toda unidad de sangre se compruebe la existencia de HBsAg.

Un beneficio adicional de la prueba para HBsAg en donadores de sangre ha sido el identificar en forma definitiva una frecuencia de 3 a 10 veces mayor de contaminación con HBsAg en la sangre reunida de donadores pagados que en la de donadores voluntarios.

La mayor parte de los casos de hepatitis por transfusión son causados, al parecer, por un agente o agentes diferentes de los virus de la hepatitis A o B.

El riesgo de este tipo de hepatitis ni A ni B es mucho mayor con la sangre de donadores pagados que con la de voluntarios.

2.4.4.- Recomendaciones generales

Constituyen una guía para quienes viven o trabajan donde hay riesgo de infección por virus de hepatitis tipo B, pueden aplicarse a todos los grupos o medios ambientes.

Higiene personal.- Una buena higiene personal es fundamental para la protección contra una infección por virus de hepatitis B, la práctica aislada más importante es el lavado de manos cuidadoso, combinada con el sentido común para evitar las fuentes posibles de infección, es fundamental en el control de la hepatitis B.

Desinfección y esterilización.- La mayor parte de datos sobre inactivación de virus de hepatitis derivan de estudios llevados a cabo antes de descubrirse el antígeno de superficie.

Los virus de hepatitis B en plasma o en suero parece bastante estable y capaz de soportar límites amplios de temperatura y humedad y una diversidad de agentes químicos. Su infecciosidad persistió durante 15 años a 20°C, seis meses a temperatura ambiente y cuatro horas a 60°C.

En la dilución al 1:10 de suero, se destruyó la infecciosidad mediante ebullición por un minuto, aunque no se altera su antigenicidad.

La esterilización por calor es el método de elección para instrumentos y objetos que pueden manejarse en forma conveniente de esta manera. Se ha demostrado que el virus de la hepatitis B se inactiva por calor en cada una de las circunstancias:

1. Ebullición en agua (100°) por 10 minutos.
2. Vapor (autoclave) a 121°C y 15 libras de presión a 15 minutos.
3. Calor seco (160°C) por dos horas.

Dentro de los desinfectantes químicos están:

1. Soluciones de hipoclorito de sodio al 0.5 a 1.0% por 30 minutos.
2. Formol al 40% por 12 horas.

3. *Glutaraldehído alcalinizado líquido al 2% por 10 horas.*
4. *Esterilización con óxido de etileno.*

2.4.5.- *Información y Educación*

En todo caso de hepatitis debe hacerse la prueba para -- HBsAg e informar o aislar los casos para vigilar la hepatitis con mayor precisión, identificar los cambios en las tendencias epidemiológicas.

Es necesario informar a las personas con HBsAg positivos y sus contactos cercanos sobre el virus de la hepatitis y como limitar su diseminación.

Esta educación es importante sobre todo para profesionales al cuidado de la salud, ya que con frecuencia se exponen a fuentes posibles de infección. Recomendaciones para reducir al mínimo la transmisión en medios específicos. El riesgo de adquirir hepatitis B es mayor en quienes tienen contacto frecuente con pacientes de hepatitis o muestras que contienen -- HBsAg. El riesgo mayor corresponde a familias y medios específicos.

Sea cual sea el medio, los pacientes y muestras biológicas de humanos deben manipularse en forma cuidadosa, porque -

algunas significan riesgo inadvertido de hepatitis. Para proteger a los pacientes susceptibles y al personal, la sangre y otras muestras deben etiquetarse señalándolo así como medida óptima y guardarse en bolsas impermeables.

Todas las personas relacionadas, pacientes y personal deben lavarse las manos y vigilar su higiene personal en formacuidadosa.

Familiares.- Es importante que todos los contactos familiares conozcan cómo se transmite la hepatitis B y sepan que la sangre y otros líquidos orgánicos si son positivos para -- HBsAg, pueden diseminar la infección por virus de hepatitis B. También es necesario que manejen y dispongan en forma cuidada los artículos contaminados con sangre y evitar prácticas que puedan aumentar la oportunidad de infección como rasurado ras, cepillos de dientes, toallas, paños u otros artículos -- personales.

2.5.6.- Hospitales

Area general para atención de pacientes.- la hepatitis b se ha diseminado de pacientes a personal en unidades de cuidado intensivo, transplantes, salas de hematología y oncología, medicina, pediatría y cirugía general.

Quando se manejan sangre u objetos contaminados con pacientes positivos para HBsAg, es necesario que el personal -- utilice guantes, o tal vez otras ropas para protecci3n. Durante procedimientos que puedan rociar o salpicar material infeccioso, tiene valor utilizar una m3scara de tipo quir3rgico o una cubierta facial para proteger ojos, nariz y boca. Las agujas y jeringas desechables, las t3cnicas de esterilizaci3n -- adecuadas y los procedimientos de desinfecci3n mediante esterilizaci3n y productos qu3micos adecuados, son importantes para controlar la diseminaci3n percut3nea.

Unidades de hemodialis. - Las unidades para hemodialis constituyen un gran riesgo de hepatitis B para pacientes y personal. La mayor parte de las infecciones de pacientes -- son subcl3nicos y un gran porcentaje de ellas causa positividad persistente para HBsAg.

Los pacientes, el personal, sangre o plasma, productos -- derivados de sangre infectada pueden introducir el virus de hepatitis a las unidades.

Aspectos epidemiol3gicos de hemodialis. - Infecciones -- bacteriales en hemodialis generalmente ocurren por lapsos en t3cnicas de asepsia, tal como contaminaci3n de herida quir3rgica durante la colocaci3n de la sonda arteriovenosa o -- creaci3n de fistula, t3cnica inapropiada en sondeo, cuidado y

mantenimiento, canalización no estéril de venas fistuladas. - Muchas infecciones ocurren como resultado de contacto directo con una superficie contaminada o un objeto y frecuentemente - de la flora de la piel de un paciente.

El virus de la hepatitis B puede ser introducido en la - unidad de diálisis de la siguiente manera:

1. Por la admisión de pacientes, personal de equipo o ambas que están infectados con HBV.
2. Por pacientes o equipo que ya están registrados en la -- unidad de diálisis adquiriendo así la infección, ya sea la comunidad u otras áreas de hospitales.
3. Ocasionalmente por transfusión de productos infectados - por sangre, plasma o sagre para pacientes.

Una vez que se introduce en la unidad de diálisis el HBV puede ser adquirido por pacientes durante el contacto personal con otros pacientes o equipo, a través de equipo contaminado, dializadores o artefactos de monitoreo de diálisis o posiblemente a través de otro contacto del medio ambiente. Ejemplo: superficies (pisos, paredes cubiertas de mesas, etc.) -- que son contaminados. Infección puede ser transmitida parenteralmente por equipo de diálisis contaminado o durante el proceso de dar inyecciones y obtener muestras de sangre, entrada directa de inoculación infecciosa a través de cortes, rasca--

DIETA - En los periodos iniciales del padecimiento, el enfermo se queja de anorexia y náuseas que impiden una alimentación correcta. En estos momentos es conveniente la administración de alimentos de muy fácil digestión, ricos en carbohidratos, azúcares, sin grasa y fácilmente digeribles.

Las dietas hipercalóricas o demasiado ricas en hidratos de carbono no ejercen ninguna influencia sobre el pronóstico o la duración del padecimiento, pero puede conducir a un aumento exagerado del peso corporal. El alcohol es hepatotóxico por lo tanto está contra indicado.

VITAMINAS.- Algunas vitaminas como el complejo B y ácido fólico puede tener utilidad, para favorecer la regeneración hepática.

ACTIVIDAD FISICA.- La hepatitis viral habitualmente se acompaña de astenia y adinamia importantes, por lo que el paciente autolimita su actividad física. El reposo debe estar relacionado con la capacidad del enfermo para efectuar ejercicio y la actividad debe ser progresiva, de acuerdo a las condiciones del paciente.

MEDICAMENTOS.- Pueden ser utilizados algunos medicamentos muy simples en el caso de necesidad extrema, en el caso de náuseas pueden administrarse antieméticos suaves del tipo-

dos u otras aperturas en la piel, la inoculación accidental - de membranas mucosas durante su manejo y posiblemente la inha- lación de aerosoles conteniendo el virus.

La protección de pacientes de diálisis, necesitan educar se en los principios y práctica de técnica aséptica y cuidado de cierre y deben ser cuidadosamente observados periódicamente para asegurar que su técnica es aceptable. El uso de sangre de fuentes comerciales y los productos tal como fibrinógeno no concentrado de factor antihemofílico y complejo factor IX- es asociado con un riesgo alto de hepatitis. Usando suministros individuales y equipo puede ayudar a reducir la oportunidad de extensión de hepatitis al igual que otras infecciones, que puedan ocurrir a través del uso de artículos compartidos.

2.4.7.- Tratamiento

El tratamiento de los enfermos con hepatitis viral es meramente sintomático y encaminado a permitir la evolución normal de la enfermedad que habitualmente tiende a la curación - en el lapso de 6 a 7 semanas.

Las medidas terapéuticas que se aconsejan son las siguientes:

de la Metoclopramida. Si el enfermo se queja de dolor abdominal tipo cólico, puede emplearse antiespasmódicos simples como los alcaloides de la belladona o la dicitlomina. Pueden -- utilizarse laxantes del tipo del hidróxido de magnesio y anti-- diarréicos no absorbibles como el caolln. No se conoce químio terapia antiviral efectiva contra virus que producen la hepa- titis viral.

El uso de corticoesteroides está contraindicado en ésta, pues produce complicaciones de la enfermedad aguda.

AISLAMIENTO DEL PACIENTE.- En casos de hepatitis B, el - evitar el contacto directo con él, aislar los objetos de uso- personal, abstenerse de contacto íntimo e inclusive de rela- ciones sexuales, pues el virus se elimina por todas las secre- ciones orgánicas y que la enfermedad puede transmitirse por - contacto heterosexual u homosexual.

2.4.8 Inmunoterapia profiláctica

La inmunoterapia profiláctica de la hepatitis viral pue- de ser dividida en dos: Inmunoterapia activa a la introduc-- ción en el organismo de productos antigénicos que provoquen - la formación de anticuerpos específicos, sin producir la en- fermedad.

La inmunidad pasiva consiste en la administración de anticuerpos preformados que pueden prevenir el desarrollo del padecimiento o atenuar sus manifestaciones.

Los intentos iniciales para utilizar ISG en la profilaxia pasiva de la hepatitis viral demostraron que este material tiene muy poca o ninguna utilidad en la prevención de la hepatitis postransfusión. El desarrollo de pruebas serológicas que permiten el diagnóstico preciso de hepatitis B y la determinación del contenido específico del anticuerpo para antígeno de superficie de hepatitis B en las inmunoglobulinas, han dado por resultado que se revalore la profilaxia pasiva para esta enfermedad.

PROFILAXIA POSTEXPOSICION.- La indicación principal para el uso de HBIC es después de una exposición aislada a un inoculo relativamente considerable de virus de hepatitis B, como ocurre después de pinchazos accidentales con agujas, o de la exposición de mucosas a sangre que se sabe contiene HBsAg. La HBIC debe administrarse lo antes posible en plazo de seis días después de la exposición en dosis de 0.05 a 0.07 ml/kg.

Los lactantes nacidos de madres que han padecido hepatitis B en el tercer trimestre del embarazo y son seropositivas para HBsAg en el momento del parto, pueden recibir HBIC en plazo de siete días después del nacimiento.

PROFILAXIA PREEXPOSICIÓN. - En ciertos medios endémicos - donde se sabe que hay transmisión de virus de hepatitis B y - la exposición crónica repetida al virus se ha comprobado, pue de pensarse en la inmunización pasiva, el control serológico-sistemático del estado de antígeno-anticuerpo de los candida-tos debe formar parte de la prevención y control de la hepati-tis.

No se recomienda en forma sistemática la inmunización para personal y pacientes de unidades para hemodilísis. La prevención y los controles de la hepatitis B deben basarse en selecciones serológicas sistemáticas.

Toda inmunización pasiva debe interrumpirse cuando se -- comprueba que ha cesado la transmisión de virus de hepatitis-tipo B.

INMUNIZACIÓN ACTIVA. - Diversos estudios con suero inactivado por calor, que contenía la cepa MS-2 del virus de hepatitis tipo B, sugirieron la posibilidad de desarrollar una vacuna para hepatitis B. Se comprobó que una dilución 1:10 de suero no era infecciosa, era antigénica y protegía en forma parcial. El suero MS-2 contenía HBsAg, y los receptores de la solución inactivada por el calor desarrollan anti-HBs y revelan que anti-HBs es un marcador de inmunidad para hepatitis tipo-B.

MATERIALES Y METODO

Se investigó la presencia en suero de HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), en un grupo de 143 donadores - externos e internos del Hospital Notre Dame y laboratorios -- afines al banco de sangre de dicho Hospital.

Las muestras se recopilaron de los distintos laborato-- rios tratando que fueran representativas de todo el grupo hos pitalario realizando su estudio en el laboratorio médico LABO MED.

A continuación se menciona el fundamento y procedimiento de la metodología utilizada, así como el manejo de la muestra biológica y demás inmunoreactivos.

3.1 SISTEMA MICROELISA

La técnica de ELISA fue ideada por el grupo de desarrollo científico de Organon en 1971 y patrocinado por Organon - Technika.

En vez de usar isótopos radiactivos como RIA, una enzima es usada como marcador en ELISA, la cual significa que todas las desventajas y riesgos involucrados en el trabajo con material radioactivo son anulados.

Cuando fue introducido en 1976, el sistema de Microelisa de HEPANOSTIKA fue la primera prueba para la detección de - - HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), basado en - la metodología de ELISA. Mientras tanto el equipo ha sido --- constantemente mejorado, semejante al término de anticuerpos monoclonales que son ahora usados en la última versión, HEPANOSTIKA Organon Monoclonal HBsAg (antígeno de superficie de - la hepatitis B).

3.2 CARACTERISTICAS DEL SISTEMA HEPANOSTIKA MICROELISA

1. Alta especificidad, asegurando por el uso de anticuerpos monoclonales, una rigurosa selección de otros reactivos y un exacto procedimiento de lavado.
2. El uso del sustrato TMB [tetrametilbencidina], el TMB es no mutagénico e insensible a la luz. Asegurar una óptima seguridad del personal, un fácil manejo de los resultados pueden leerse por simple vista o por fotometría a -- 450 nm (nanómetros).
3. Un ensayo con un periodo de tiempo corto por incubación por 30 minutos a 50° o por una hora a 37°.
4. Sensibilidad de la prueba. La sensibilidad se encuentra con los últimos estándares para este ensayo de HBsAg (anígeno de superficie de la hepatitis B), i.e. 0.1 u/ml - calibrada contra un estándar del Instituto Paul Ehrlich. - Con una desviación basada en controles positivos y negativos, la sensibilidad es independiente del procedimiento y es estrictamente estandarizada de un número de pruebas hechas.

Para el control de donadores de sangre, una desviación - alternativa puede ser basada en el promedio de absorción de - todos los valores negativos y su desviación estándar.

3.3 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba es un ensayo inmunoenzimático basado en el --- principio de sandwich.

---anti-HBs fase sólida anti - cuerpo	---HBsAg muestra	---(anti-HBs) anticuerpo enzima marcada	---HRP + sustrato
---	---------------------	---	----------------------

Los posillos de poliestireno de las tiras microelisa han sido cubiertas con anti-HBs anticuerpos para HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), monoclonales, la cual constituyen la fase sólida de anticuerpo (anti-HBs), la muestra - en prueba se incuba en las celdas, si está presente en la --- muestra el HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), - se atará a la fase sólida del anticuerpo. Subsecuentemente se agrega un anticuerpo HBs de oveja, marcada con la enzima HRP (caballo-rbano-peroxidasa).

Con una reacción positiva este anticuerpo marcado se ata rá a cualquier fase sólida del complejo anticuerpo HBs-Ag (an ti geno de superficie de la hepatitis B).

Previamente formado por una incubación con la enzima sus trato producirá un color azul en la celda de prueba, la cual - se torna amarilla cuando la reacción se detiene con H_2SO_4 . Si

PRINCIPIO DE LA PRUEBA DE MICROELISA.



 Anticuerpos cubiertos platos de Microelisa



 Adición de plasma a probar.



 Incubación, 1 hora.



 Adición de enzimas marca, anticuerpos.




 Incubación, 1 hora.



 Adición de anticuerpos.



 Adición de anticuerpos.



 Adición de anticuerpos.

Adición de anticuerpos.

La muestra no contiene HBsAg (antígeno de superficie de la he
patitis B), entonces el anticuerpo marcado no podrá unirse es
pecíficamente y sólo se observará un color de fondo muy bajo.

3.4 PROCEDIMIENTO

1. Pipetear 1 ul de cada muestra a examinar en las celdas. Pipetear los controles después de la muestra. Si se usa sólo una tira, incluir un control negativo (100 ul) y un positivo (100 ul).

Si se utilizan más tiras, incluir dos o más controles -- (100 ul) para positivos y negativos. Si se desea un control fuertemente positivo debe incluirse en cada tira.

2. Cubrir las tiras con un sellador.

Procedimiento I.-

Incubar a 37° por 60 minutos.

Procedimiento II.

Incubar a 50° por 30 minutos.

3. Lavar cada celda por cuatro veces.
4. Pipetear 100 ul de la solución del conjugado en cada celda.
5. Cubrir las tiras con un nuevo sellador.

Procedimiento I.

Incubar a 37° por 60 minutos.

Procedimiento II.

Incubar a 50° por 30 minutos.

6. Lavar cada celda por cuatro veces.

7. Pipetear 100 μ l de la solución de sustrato en cada celda.
8. Incubar por 20 a 25° por 30 minutos.
9. Detener la reacción añadiendo 100 μ l 2 mol/l de ácido -- sulfúrico a cada celda. En la misma secuencia y en el -- mismo intervalo de tiempo como el sustrato.
10. Lectura fotométrica, con una absorbancia de 450 nm. Lectura visual: comparar el color en las celdas con los colores de los controles después de esperar un tiempo de 15 minutos.

3.5 OBTENCION DE RESULTADOS

Para la lectura fotométrica se puede utilizar Oganon - TEKNIKA MICROELISA, computadora y si no se usa computadora -- se deben de determinar los cálculos para cada tira por separado. Lectura visual: los colores deben ser comparados dentro de las tiras. Una prueba es válida sólo si el control positivo exhibe un color claro y el control negativo no da color o da un color del plato. El color del control fuertemente positivo da un color más fuerte que el positivo.

Resultados de la prueba: Un resultado es positivo si el color está cercano al color que da el control y/o negativo al control negativo, o más fuerte que el positivo si es control fuertemente positivo.

Interpretación de los resultados de la prueba

Un resultado negativo quiere decir que la muestra examinada no contiene HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), o con HBsAg por debajo de la detección límite de HEPA NOSTIKA HBsAg.

Un resultado positivo quiere decir que la muestra examinada contiene HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B) o un factor no específico de reacción. Un resultado positivo-

debe ser confirmado con los reactivos de confirmación de HEPA
NOSTIKA HBsAg.

3.6 SEGURIDAD GENERAL

Muestras de suero o plasma que serán examinadas pueden -
contener agentes infecciosos de hepatitis B virus.

3.6.1 Controles, reactivos y solución TMB.

El control negativo y reactivos confirmatorios, son negativos en la tercera generación de prueba de HBsAg [Antígeno -
de superficie de la hepatitis B], el control positivo y fuertemente positivo, que contiene HBsAg producidos por una célula humana en la cual un virus de hepatitis B no infeccioso --
puede ser detectado.

La solución de TMB [tetrametilbenzidina] contiene dime--
til sulfoxido que es irritante a la piel y la membrana mucosa.

3.6.2.- Especimen

Suero o plasma recientes pueden ser almacenados por una-
semana a 2 - 8°C, se pueden preservar en 0.1 g/l de sulfato -

de gentamicina, 1 g/l de azida de sodio o por un año a -20°C . Aditivos (otros de sulfato de gentamicina o azida de sodio), y muestras conteniendo cualquier partícula visible pueden dar resultados erróneos. Repetidos congelamientos y descongelamientos pueden producir un alto color de fondo que las muestras recientes, dando así falsos positivos.

3.6.3.- Almacenaje y estabilidad

Si se mantiene a $2 - 8^{\circ}\text{C}$ los reactivos de prueba incluyen tiras reactivas de MICROELISA y controles positivos y negativos, así como reactivos confirmatorios, son estables hasta la fecha de caducidad dado en el paquete. Las bolsitas de reactivos deben de llevarse a temperatura ambiente antes de abrirse para prevenir la condensación de las tiras de MICROELISA.

Cuando se han abierto las tiras son estables por 8 semanas a $2 - 8^{\circ}\text{C}$, no se debe cambiar de bolsita, ya que éstas son de sílica gel. Después de usar algunos de los contenidos de las botellas ya sean soluciones de TMB buffer concentrado de fosfato, conjugado, controles positivos o negativos son estables hasta la fecha de caducidad, si es mantenido a $2 - 8^{\circ}\text{C}$ en sus bolsas originales. Buffer diluido de fosfato es estable por 2 semanas a $2 - 8^{\circ}\text{C}$. Peróxido/buffer sustrato es estable por un año a $2 - 8^{\circ}\text{C}$.

HEPANOSTIKA HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B), puede ser usada para control de donadores de sangre, para el diagnóstico de hepatitis viral y para el monitoreo de pacientes con HB (hepatitis B), HEPANOSTIKA anti-HBs puede -- ser usada no sólo para el monitoreo de pacientes con HB, pero también para el control del estado inmunitario de grupos de alto riesgo como son pacientes y personal de unidades de diálisis renal, hemofílicos y personal de laboratorio.

HEPANOSTIKA anti-HBs (anticuerpos contra el antígeno de superficie de la hepatitis B) es también ideal para el control de pre y post-vacunación.

RESULTADOS

RESULTADOS DEL METODO INMUNOENZIMATICO DE MICROELISA
PARA LA DETERMINACION DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE DE
LA HEPATITIS TIPO "B".

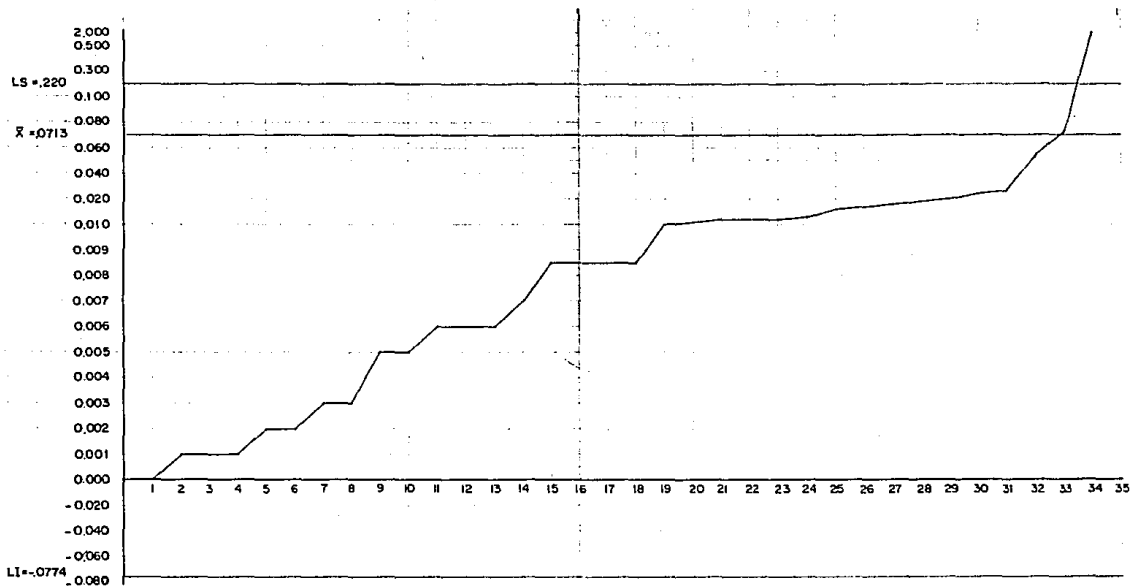
Donadores Femeninos.

<u>No. de Muestra.</u>	<u>Absorbancia (rango)</u>	<u>Resultado</u>	<u>%</u>
31	0.000 - 0.028	No reactivo	91.17
3	0.058 - 0.000	Reactivo	8.82

Donadores Masculinos.

<u>No. de Muestra</u>	<u>Absorbancia (rango)</u>	<u>Resultado</u>	<u>%</u>
97	0.000 - 0.024, 0.029	No reactivo	88.99
12	0.026, 0.030 - 2.000	Reactivo	11.00

Numero total de donadores: 143.



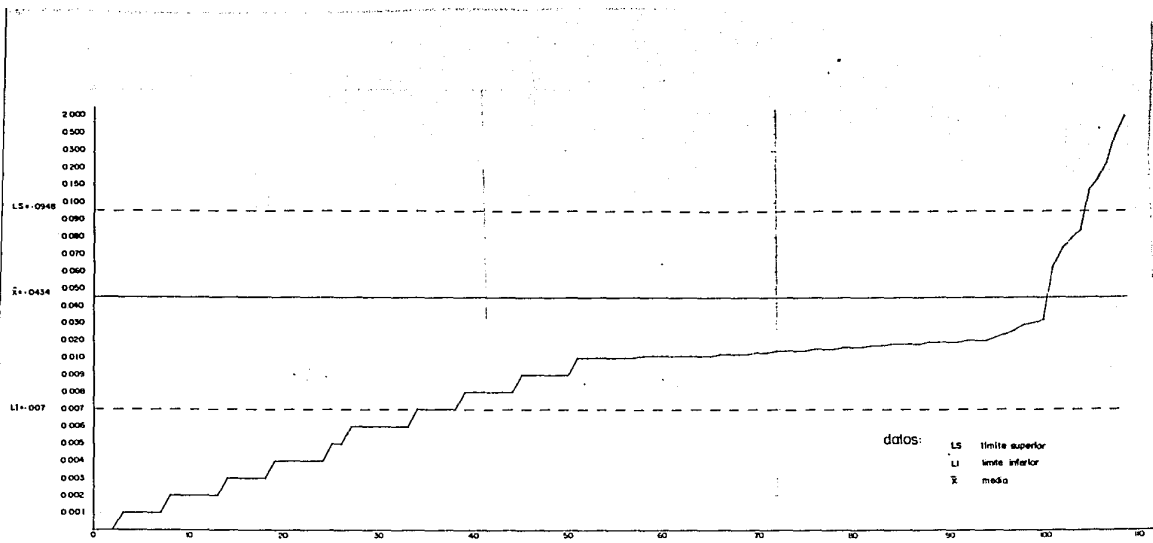
31/05/2011 - Ejercicio de estadística

datos:

LS limite superior

LI limite inferior

\bar{x} media



tesis profesional

título:
determinación del antígeno de superficie
(HB_s Ag) del virus de la hepatitis tipo B,
con método inmunoenzimático de Elisa.

estimación de la media de una
población

estimación de intervalos de confianza

donadores masculinos

Edmno:

dato a) absorbancia

2

dato b) número de muestras

CONCLUSIONS

Las imágenes clínicas de la hepatitis infecciosa (A) y de la hepatitis de suero (B), casi son indistinguibles. Los aspectos clínicos son referibles principalmente al tracto-gastrointestinal (sígnos prodromales).

En la hepatitis B la imagen la clínica no se distingue, pero en general es más seria, manifestaciones extrahepáticas atribuibles a la formación de complejos inmunes entre HBsAg y el anticuerpo correspondiente (principalmente IgM).

Para el diagnóstico de este trastorno por lo regular se basan en: Historia de exposición, cuadro clínico, características inmunológicas (Serología), pruebas de laboratorio. También se pueden utilizar otros métodos de diagnóstico para la determinación de los tipos de hepatitis como sería Radioinmuno evaluación, Hemaglutinación pasiva, pero aunque siendo estos métodos eficaces, la utilización de reactivos más costosos y equipo sofisticado, no se pueda encontrar en muchos laboratorios de rutina y bancos de sangre.

Al llevar a cabo este trabajo, se pudo observar que el método inmunoenzimático de MICROELISA, es un método simple y rápido en la determinación del antígeno de superficie de la hepatitis B.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la-

importancia en la utilización del método de MICROELISA para la detección en suero de probables donadores de sangre en bancos y laboratorios de rutina del antígeno de superficie de la hepatitis B. Para poder identificar qué sueros han estado en contacto con dicho virus y así poder prevenir una reingestión a receptores de sangre por transfusión o que estén cursando con la enfermedad activa.

Cabe decir que la mayoría de los sueros utilizados para este fin, se pudo detectar que no llevaban el virus.

De 143 muestras analizadas, se encontró la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B en 15 de los sueros de los donadores estudiados. (10.48%).

Dentro de los donadores masculinos que fueron 109, se encontró que 12 sueros tenían la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (11.00%). Para su determinación se estudiaron sueros con controles positivos y negativos con distintos rangos de absorbancia en cada determinación.

Los límites en los que se encontraron los rangos entre los cuales se determinó su intervalo de confianza () con una confianza de 99% ($\bar{x} \pm 2.58 \text{ s/n}$) dio los rangos de: límite superior de 0.0948 y un límite inferior de 0.0078; se demuestra que este método es confiable en sus determinaciones, sólo 6 -

de las muestras positivas están dentro del límite superior de confianza.

Así mismo, se estudiaron 34 muestras de donadores del sexo femenino, en este grupo solamente 3 muestras resultaron positivas para el antígeno de superficie de la hepatitis B - - (8.82%). Al igual que el grupo anterior se le detectó la presencia del antígeno y los límites encontrados para este grupo fueron de: límite superior de 0.2200 y un límite inferior de -0.0774. En este rango sólo una muestra se encuentra dentro del rango de confianza para este grupo.

Por lo tanto, se demuestra que la técnica de ELISA resulta ser confiable en la detección del antígeno de superficie de la hepatitis B, y a la vez rápida y sencilla.

En este trabajo sólo se determinó la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, la cual indica si hay presencia del virus por incubación tardía antes del inicio de la lesión hepática o si el donador estuvo en contacto con el virus.

BIBLIOGRAFIA

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

1. Demers & Shaw
Evaluation of Liver Function
Baltimore-Muchi, Edit. U & S.
1978
Pág. 133 - 157
2. Saul Krugman & David J. Gocke
Hepatitis Viral
New York, Edit. Interamericana
1979
Pag. 1-2, 7-17, 25, 77-81, 83-91, 102-125.
3. A.J. Zuckerman
Human Viral Hepatitis
Hepatitis associated antigen and viruses
London. Edit. North - Holland Publishing Co.
1980.
4. Toshisugu Oda
Hepatitis Viruses
Baltimore. Edit. University Park Press.
1977
Pag. 53-63, 111-139, 145, 181-235, 273-293, 315-345
5. Funner - White
Virología Médica
Australia. 2da. Edición
1987.
Pag. 141, 181, 408, 410, 405.

6. Wallace L.M. Atward, Brian J. McMahon
The Long-Term Course of Asymptomatic Hepatitis B
Virus Carriers and the Development of Hepatocellular
Carcinoma.
The Journal of Infectious Diseases
Vol. 151 No. 4
April 1985
Pag. 604-607.
7. Donald P. Francis & Thomas R. Bener
Autoantibodies to Thymic Epithelial Cells in Hepatitis
B Virus - Associated Infection
The Journal of Infectious Diseases
Vol. 152 No. 1
July 1985
Pag. 232-239.
8. Geoffrey M. Dusheiko, Sheila M. Bowyer
Replication of Hepatitis B Virus in Adult Carrier in an
Endemic Area
Vol. 152 No. 3
September 1985
Pag. 566-570.
9. Marek J. Nowicki, Myron J. Tong
Alterations in the Response of Nonresponders to the Hepa
titis B Vaccine
The Journal of Infectious Diseases. Vol. 152 No. 6
December, 1985. Pag. 1245-1247.

10. Boris Vojte, Christine A. Noonan, Joseph L.
Hepatitis B Virus DNA in Mononuclear Cells and Analysis
of Cells Subsets for the Presence of Replicative Interme-
diates of Viral DNA.
The Journal of Infectious Diseases
Vol. 153 No. 3
March, 1986
Pag. 471-476.
11. Kwang-Jueilo, Yang-Tse
Impact of Infection Control Strategies on the Incidence
of Dialysis - Associated Hepatitis in the United States.
The Journal of Infectious Diseases
Vol. 153 No. 6
June, 1986
Pag. 1148-1151.
12. Kwang-Jueilo, Yang-Tse Tsai, Shou-Dong Lee
Immunoprophylaxis of Infection with Hepatitis B
Virus in Infants Born to Hepatitis B Surface Antigen-
Positive Carrier Mothers.
Vol. 152 No. 4
October, 1985
Pag. 817-821.
13. Bennett Bachman
Basic Considerations of Hospital Infectious
Hospital Infection
Chicago. Editor, Little Brown
1978. Pag. 144-151, 427-431.

14. Beasley RP, Stevens CE, Shairo IS, Meng
Should Hepatitis B Surface Antigen Positive Mothers
Breast Feed.
Archives of Diseases in Childhood
Vol. 60 No. 5
1985
Pag. 972-975.
15. Bailey G. L.
Diagnostic Methods in Clinical Virology
U.S.A.
Editor. Little Brown
1982
Pag. 188-193
16. Smith N, Joklik J.
Microbiología Médica, Zinsser
17ava. Edición
Pag. 1202-1210.
17. Misael Uribe. L. Guevara
Gastroenterología Médica
Editorial Interamericana
Pag. 290-311, 321-335.
18. Trujillo J. J.
Ingeniería Industrial
Pag. 246-257.

19. Hepanostika. Organon

Hepanostika HBsAg Microelisa System

Belgium. Veedijk 58

1985

Pag. 1-12.