

71
203



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**INCIDENCIA Y FRECUENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
AL ANTIGENO DE SUPERFICIE ASOCIADO A LA
HEPATITIS TIPO "B" EN DONADORES DE SANGRE
DEL H.T.O. L.U. DEL I.M.S.S.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
LUIS JESUS VELEZ SANCHEZ**

ASESOR: M.C. CARLOS EDUARDO SALAS CONTRERAS

CUAUTITLAN, IZCALLI, EDO. DE MEX.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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 .

	Hoja
Abreviaturas y Glosario _____	i
Figuras. _____	iv
Gráficas. _____	v
Tablas. _____	vi
Capítulo I. Resumen. _____	01
Capítulo II. Generalidades. _____	02
.1 Antecedentes Históricos. _____	02
.2 Epidemiología. _____	04
.3 Etiología Viral. _____	08
.3.1 D.N.A. Viral. _____	08
.3.2 Antígeno de Superficie (HBsAg). _____	13
.3.3 Antígeno core (HBcAg). _____	16
.3.4 Antígeno "e" (HBeAg). _____	16
.3.5 DNA-Polimerasa. _____	17
.3.6 Proteína X. _____	18
.3.4 Mecanismo de Interacción Virus-Huésped. _____	18
.3.5 Mecanismos de Transmisión del H.B.V. _____	21
.3.6 Tipos de Hepatitis. _____	22
.3.7 Fisiopatología. _____	24
.3.7.1 Asintomática. _____	25
.3.7.2 Aguda. _____	25
.3.7.3 Crónica. _____	29

.3.7.4	Fulminante. _____	31
.3.8	Manifestaciones clínicas. _____	31
.3.8.1	Infección Asintomática. _____	31
.3.8.2	Infección Aguda. _____	31
.3.8.3	Infección Crónica. _____	31
.3.8.4	Infección Fulminante. _____	32
.3.9	Parámetros de Laboratorio. _____	33
.3.9.1	Bilirrubinas. _____	33
.3.9.2	Enzimas. _____	33
.3.9.3	Marcadores Serológicos. _____	34
.3.10	Aspectos Inmunológicos. _____	34
.3.11	Métodos de Detección. _____	38
.3.11.1	Hemaglutinación . _____	38
.3.11.2	Inmunofluorescencia. _____	39
.3.11.3	Análisis radioinmunológico. _____	39
.3.11.4	E.L.I.S.A. _____	39
.3.12	Vacuna contra el H.B.V. _____	40
Capítulo	III. Objetivos. _____	42
Capítulo	IV. Material y Método. _____	43
Capítulo	V. Resultados. _____	50
Capítulo	VI. Análisis de Resultados. _____	60
Capítulo	VII. Conclusiones. _____	62
Capítulo	VIII. Bibliografía. _____	63

. ABREVIATURAS Y GLOSARIO .

- a.a. : Aminoácido.
- Acolia : Disminución o supresión total de la secreción biliar.
- Adherencia : Unión de una cosa con otra.
- Anictérico : Que no presenta ictericia (ver ictericia).
- Anorexia : Falta de apetito.
- Anticuerpo : Constituyente de la sangre de origen proteico creado para atrapar o reconocer una substancia extraña que influyo para su formación.
- Antígeno : Substancia extraña al organismo capaz de provocar la formación de uno o más anticuerpos.
- Astenia : Decaimiento considerable de las fuerzas.
- Bisexual : Alguien que es atraído sexualmente por personas de ambos sexos o que los posee.
- Clona : Grupo de células las cuales son progenia de una sola.
- Codón : Secuencia de tres nucleotidos, en el RNAm este codifica para un aminoácido o la terminación de una cadena polipeptídica.
- Coluria : Presencia de bilis en orina o coloración de la orina por la bilis.
- Down síndrome : Nombre aplicado al mongolismo que sufren los individuos con trisomía G.
- D.N.A. : Ácido Desoxiribo Nucleico.
- D.N.A.- H.B.V : Ácido Desoxiribo Nucleico del Virus de Hepatitis "B".

- D.N.A.p : Polimerasa del Ácido Desoxiribo Nucleico.
- E.L.I.S.A. : Análisis Inmunoadsorcencia Ligado a una Enzima.
- Encefalopatias : Enfermedades Cerebrales.
- Endoplásmico : Que esta dentro del citoplasma.
- Enzima : Proteína funcional que cataliza una reacción química específica.
- Epitope : o epitopo es igual a determinante antigénico. Región del antígeno más expuesta que determina la especificidad del anticuerpo que va dirigido contra dicho antígeno.
- Esplenomegalias : Aumento del volumen del bazo.
- Estupor : Disminución de actividades intelectuales.
- Gen : Unidad básica de la herencia, secuencia de DNA que codifica una proteína específica.
- Haptenos : Pequeñas moléculas, no inmunogenica por si mismas pero que unidas a un acarreador si lo son.
- H.B.V. : Virus de Hepatitis " B ".
- Hematófago : Que se alimenta o ingiere sangre.
- Hepatomegalia : Aumento del volumen del Hígado.
- Hidrofílico : Amante del agua (que se disuelve fácil en agua).
- Histidina : Nombre de un aminoácido.
- Homología : Dos o más cosas semejantes.
- Homosexual : Alguien que es atraído sexualmente solo por personas de su mismo sexo.
- H.T.O.L.V. : Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes.

- Ictericia : Enfermedad producida por la absorción de bilis y cuya señal exterior más perceptible es la amarillez de la piel y conjuntivas.
- I.M.S.S. : Instituto Mexicano del Seguro Social.
- Inmunogéno : Substancia que siempre es capaz de desencadenar una respuesta inmune.
- Inmunoglobulinas monoclonales : Copias auténticos de Anticuerpos.
- In vitro : en el laboratorio.
- Letargo : Suspensión de los sentidos.
- Nanometro : Décima parte de un micrometro
- Neonato : Recién nacido
- Oliguria : Disminución en la Secreción urinaria .
- Poliartralgias : Dolores generalizados de las articulaciones.
- Péptido : Unión de varios aminoácidos.
- Polipéptido : Compuesto con muchos péptidos
- Prolina : Nombre de un aminoácido.
- Prurito : Sensación particular que incita a rascarse, comezón.
- R.N.A. : Ácido Ribo Nucleico.
- Serina : Nombre de un aminoácido.
- Subclínico : Que no presenta síntomas clinicos detectables.
- Traducción : Síntesis de una proteína cuya secuencia de a.a., está especificada por tripletes de nucleótidos del RNAm.
- T.G.P. : Transaminasa Glutámico Pirúvica.
- T.G.O. : Transaminasa Glutámico Oxalacética.

- **Transcripción** : Expresar con un sistema de caracteres un escrito.
Síntesis de RNAm apartir de un DNA molde.
- **Transcriptasa** : Enzima que realiza la transcripción.
- **Urobilinuria** : Presencia de componente de hemoglobina y pigmentos biliares en sangre.
- **V.I.H.** : Virus de la Inmunodeficiencia en Humanos.
- **Virion** : Partículas virales infectivas.

. F I G U R A S .

	Hoja
1.- Virus de Hepatitis tipo " B " . _____	09
2.- D.N.A. del H.B.V. Cadenas Larga y Corta. _____	10
3.- Fragmentos de la cadena Larga. _____	15
4.- Interacción Virus - Huésped. _____	20
5.- Curso de una Infección Asintomática. _____	27
6.- Curso de una Infección Aguda. _____	28
7.- Curso de una Infección Crónica. _____	30
8.- .E.L.I.S.A. _____	49

. G R A F I C O S .

Hoja

- 1.- Frecuencia e incidencia al HBsAg en los Donadores de Sangre. _____ 52

- 2.- Tendencia de la positividad en función al Sexo . _____ 54

- 3.- Frecuencia de positividad al HBsAg en Donadores por Sexo y rango de Edad. _____ 57

- 4.- Frecuencia de Positividad al HBsAg en Donadores de sangre por Grupo Sanguíneo. _____ 59

. T A B L A S .

	Hoja
1.- Nomenclatura de los Marcadores del H.B.V. _____	05
2.- Efecto de la Temperatura sobre el H.B.V. _____	11
3.- Efecto de agentes Físicoquímicos en el H.B.V. _____	12
4.- Marcadores del H.B.V. en diferentes Infecciones. _____	35
5.- Frecuencia e Incidencia al HBsAg de Donadores de Sangre por años de estudio. _____	51
6.- Frecuencia de Seropositividad al HBsAg en Donadores Mascullinos y Femeninos. _____	53
7.- Determinación de Incidencia y Frecuencia al HBsAg en Donadores por diferentes Edades y sexos. _____	56
8.- Reactividad de Donadores al HBsAg en relación al Grupo Sanguíneo. _____	58

- RESUMEN.

La población mundial infectada por el HBV es sumamente alta, así como la morbilidad y mortalidad que este ocasiona . Dado que la hepatitis tipo "B" se contrae en gran medida por contacto con productos sanguíneos, en este momento la detección del antígeno de superficie (que es un objetivo de este trabajo) asociado al HBV en los donadores de sangre, presenta un arma importante para la prevención y fortalecimiento de la salud pública. Es por ello que se realizó el método de E.L.I.S.A. , por ser llamado de tercera generación de acuerdo a la O.M.S., dada su alta sensibilidad y especificidad.

De Noviembre de 1987 a Octubre de 1990, se muestrearon a 7094 donadores de ellos solo 150 resultaron repetidamente positivos a la detección del HBsAg. Estos casos representan una frecuencia de 2.11 % y una tasa de incidencia acumulada de 211 por 10,000 donadores . En relación al sexo, edad, y grupo sanguíneo con respecto a la positividad al HBsAg, se observa una tendencia ascendente de esta con un incremento de la edad y una aparente mayor sensibilidad del sexo femenino, de la misma manera, el grupo sanguíneo "B", mostró una aparente mayor predisposición a ser infectados por el HBV.

. GENERALIDADES .

-ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

El descubrimiento del antígeno de Australia y sus consecuencias se ha convertido en una de las investigaciones clásicas de la ciencia médica. Este se inició como un estudio dirigido al polimorfismo genético de las lipoproteínas séricas humanas, enfocado particularmente a la étnia del sureste de Asia. A mediados de la década de los 60s, el Dr Baruch Blumberg comenzó un estudio enfocado hacia las diferencias antigénicas de las lipoproteínas séricas, sin imaginarse que esto produciría, uno de los descubrimientos más importantes en un campo en el que él nunca había incursionado y que además, por aquel entonces se encontraba estancado. (57, 11).

Usando plasmas y sueros de pacientes politransfundidos como antisueros, el Dr Blumberg por medio de la doble difusión en agar, demostró la presencia de arcos de precipitación formados entre éstos y sueros humanos de diferentes orígenes. Así, el suero de un aborigen Australiano fue capaz de producir dichos arcos con varios de los sueros hemofílicos. Posteriormente al intentar caracterizar esta proteína, se dio cuenta de que no correspondía a una lipoproteína como inicialmente se había pensado y como este nuevo antígeno fue encontrado en un aborigen Australiano, se dio el nombre provisional de antígeno de Australia.

Intentando encontrar un significado biológico a su descubrimiento, Blumberg y colaboradores encaminaron sus esfuerzos para ver si existía alguna relación con la leucemia humana (57, 2) (estos pacientes presentaban cuadros de hepatitis frecuentes, hoy se sabe que ésta se da por la gran cantidad de sangre que demandan estos enfermos y la misma contenía al HBV). Posteriormente, al estudiar la presencia del antígeno de Australia en una población de pacientes con síndrome de Down, encontraron que además de detectar este antígeno con gran frecuencia, su positividad correlacionaba con la hepatitis viral. La relación entre el antígeno de Australia y hepatitis, la dio a conocer Blumberg en 1967, sin embargo, existía problemas metodológicos como la imposibilidad de cultivar in vitro el virus (cosa que hasta la fecha no se ha logrado realizar), y que además no existía un modelo animal en el cual fuese posible reproducir la enfermedad. Estas dificultades impedían el establecer de manera categórica que al antígeno de Australia correspondía al agente etiológico de la hepatitis. No obstante, con los avances de la ciencia, la microscopia electrónica y posteriormente con la combinación de ambas fue posible definir la primera entidad serológica del virus de la hepatitis tipo "B", y que en la actualidad se conoce como antígeno de superficie de la hepatitis "B". (HBsAg). (57, 11, 2).

En 1968 Alfred Prince, trabajando en el New York Blood Center en la búsqueda de un marcador serológico para las sangres portadoras de el HBV, y empleando como fuentes de anticuerpos

sueros de personas politransfundidas, siguió a un grupo de pacientes recién transfundidos haciéndoles chequeos dos veces por semana, con la esperanza de poder estudiar la enfermedad desde sus inicios y así, en 1968 descubrió un antígeno al cual llamó antígeno de hepatitis sérica y dio razones para creer que correspondía al antígeno de Australia descrito por blumberg (11, 4,). Continuando con la investigación en la universidad de Yale, se demostró también que dicho antígeno no solo se encuentra en el suero de personas que habían recibido transfusión de sangre, pues el mismo se encontró en otras personas no transfundidas, por lo que se le nombro antígeno asociado a la hepatitis (A.A.H.) . En 1972 el National Research Council de E.U.A. , lo denominó antígeno de la hepatitis o sea AgHB y por ultimo el comité sobre hepatitis viral del Consejo Nacional de Investigación en la Academia Nacional de la Ciencia de los E.U.A., propuso la nomenclatura relacionada a la hepatitis "B" que actualmente se conoce y en 1977 fue actualizada por la Organización Mundial de la Salud. (57, 4, 40, 39, 55) (tabla 1).

-EPIDEMIOLOGIA.

La hepatitis viral "B" es causa importante de enfermedad aguda , crónica , y hasta la muerte, la O.M.S. , la clasifica como la novena causa de muerte en el mundo (11), en este nivel, se ha reportado una prevalencia de portadores crónicos estimada en 200 millones de personas (32), lo cual es aproximadamente el 5 % de la misma población . Para los Estados Unidos, el número de casos

Tabla 1. NOMENCLATURA DE LOS MARCADORES CON LA HEPATITIS TIPO " B " .

H.B.V.	Virus de la Hepatitis tipo " B " , conocido originalmente como partícula <u>DANE</u> .
HBsAg	<u>Antígeno de superficie</u> del Virus de la Hepatitis tipo " B " .
HBcAg	<u>Antígeno de core</u> del Virus de la Hepatitis tipo " B " .
HBeAg	<u>Antígeno " e "</u> del Virus de la <u>Hepatitis</u> <u>tipo " B "</u> .
Anti-HBs	Anticuerpos dirigidos hacia el antígeno de superficie del H.B.V.
Anti-HBc	Anticuerpos dirigidos hacia el antígeno core del H.B.V.
Anti-HBe	Anticuerpos dirigidos hacia el antígeno " e " del H.B.V.

... . 38, 39, 40, 41.

informados por año es de 50 a 70 mil, ellos consideran esta cifra como de aproximadamente el 10 % del número real, debido a que muchos casos son anictéricos y otros no son informados. Por lo que respecta a México, la verdadera frecuencia de este padecimiento se desconoce, pero se considera de interés, mencionar los resultados de algunas investigaciones serológicas realizadas en nuestro país para estudiar la frecuencia y distribución de esta enfermedad.

En 1972 (7), reportaron un porcentaje de positividad de 0.4 % en niños hospitalizados, 5.7 % en pacientes con pruebas de funcionamiento hepático anormal. Por otra parte en 1976 (36), estudiaron sueros de individuos provenientes de 8 regiones geográficas de la República Mexicana, encontrando una frecuencia de 0.29 % . En la costa de Oaxaca a Nayarit (< 0.6 %), en Tabasco y Campeche (< 0.6 %) . En la ciudad de México, observaron un promedio de 6.36 %, una prevalencia de 0.7 % fue para la zona de Netzahualcoyotl, considerando que esto es debido a las malas condiciones de saneamiento y al estrato socio económico bajo (36) , mientras que para San Angel donde imperan mejores condiciones de vida, solo se observó un 3.19 % . En 1984 (3), encontraron en el personal que labora en diferentes áreas del Hospital Centro Médico la Raza, un 26.4 % de positividad a marcadores serológicos para el HBsAg en 545 individuos. Lo anterior dio lugar para que Kershenobich y Hurtado (32) en 1990, realizaran un estudio multicéntrico en 12 estados de la República para conocer la prevalencia del HBsAg y de su correspondiente anti-HBs en sueros de profesionales de la salud, en el cual

reportaron una edad promedio de 31.4 años (el rango es de 18 a 72 años), con una antigüedad promedio de 7.8 años en el trabajo . En dichos estudios se observaron 11 casos positivos al HBsAg (lo que representa un 1.2 %), 91 individuos positivos al anti-HBs (que hace el 9.7 %), asignando como grupo de mayor riesgo a los técnicos de laboratorio, médicos, odontólogos, enfermeras, y por ultimo a los químicos . De los estados observados en este mismo estudio. El Distrito Federal y Jalisco, presentan una mayor prevalencia hacia el anti-HBs . Al comparar la cifra del 1.2 % de positividad al HBsAg en los profesionales de la salud con el 0.39 % observado en el grupo de donadores de sangre (26), se denota una gran diferencia entre estos grupos y es interesante notar que el grupo de trabajadores de la salud supera por mucho al de donadores. Es bueno mencionar que los pacientes con hepatitis "B", tiene un riesgo del 10 % para desarrollar enfermedad crónica, el 7 % para presentar la forma crónica persistente, del 3 % para hepatitis crónica activa y de solo 1 % para la fulminante (53). La mortalidad en la hepatitis postransfusional, parece estar relacionada con la edad (24), si la misma es mayor, la posibilidad de muerte también aumenta (51). La enfermedad parece también estar influenciada por la edad en los niños, aunque esto no siempre ocurre (18). El pronóstico va en relación a la gravedad de la afección hepática, pero aproximadamente del 65 al 95 % de los enfermos con hepatitis "B" crónica persistente (HCP-B) y hepatitis "B" crónica activa (HCA-B) están vivos por aproximadamente 5 años, a diferencia de aquellos que tienen HCA-B

y cirrosis hepática, los cuales solo el 50 % permanecen vivos por 5 años (41).

-ETIOLOGIA VIRAL.

En 1970 Dane u col. al examinar en el microscopio electrónico fracciones de suero positivo al HBsAg, descubrieron el virión completo de la hepatitis tipo "B" (también llamado partícula DANE). El virión tiene un diámetro aproximado de 42 nanómetros (nm), con una capa exterior de naturaleza lipoproteica de 8 nm de ancho (esta capa contiene el HBsAg), con un corazón o nucleocapside interna de 28 nm de diámetro (que contiene al HBcAg), dentro del cual se protege el DNA viral la DNA-polimerasa , el antígeno "e" (HBeAg), y la proteína "x". (fig 1) (14, 17, 48, 60).

La partícula Dane, presenta gran resistencia a la acción de mecanismos físicos y químicos, algunos ejemplos de esto se muestran en las (tablas 2, 3) . (49, 60).

-DNA VIRAL.

En ausencia de un sistema de cultivo celular para la propagación del HBV, se ha utilizado el hígado de chimpancé crónicamente infectado y más recientemente la técnica del DNA recombinante, los cuales constituyen los modelos para el estudio del HBV, de esta manera se ha conocido la estructura molecular del genoma, el cual es circular y está constituido por dos cadenas. Una de ellas larga, de longitud constante (de 3220 nucleótidos) y otra corta de longitud variable, la cual tiene un rango del 50 al 100 %

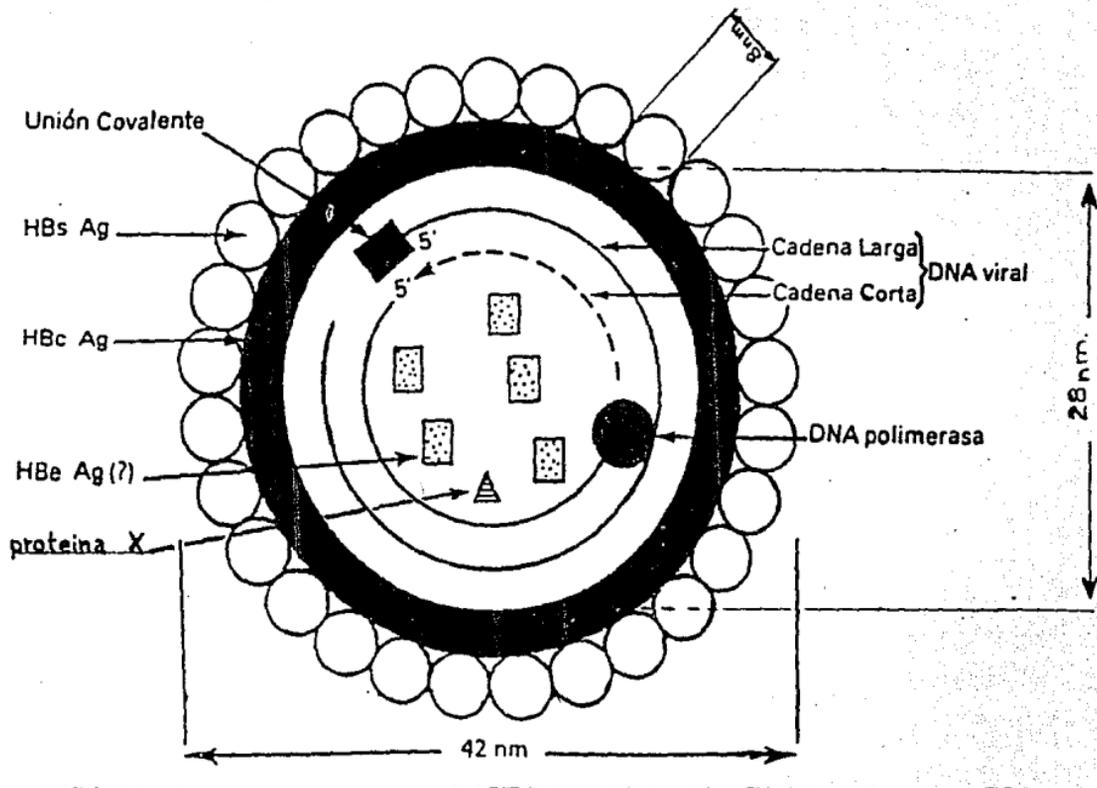


Fig 1.- Esquema del virus causante de HEPATITIS tipo " B " .
 ref: 13, 48, 60.

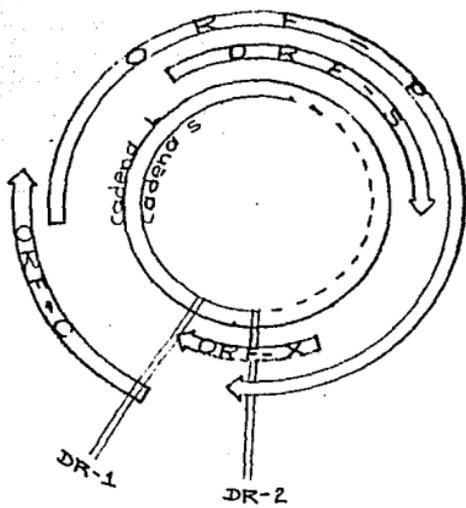


Fig 2.- Se presenta del centro a la periferia el D.N.A. del VIRUS DE HEPATITIS " B " (HBV), compuesto por la cadena Corta (S), cadena Larga (L), y los integrantes de la cadena larga; ORF-S, ORF-X, ORF-P, y el ORF-C. Por ultimo se muestran los fragmentos adherentes (DR1 y DR2).

ref: 53, 60.

Tabla 2.- EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL VIRUS DE HEPATITIS TIPO

" B " .

TRATAMIENTO °C	EFFECTO SOBRE LA INFECTIVIDAD
- 20 °C , 15 años	Ninguno
30 a 32 °C , 06 meses	Ninguno
37 °C , 07 días	Ninguno
57 °C , 12 horas	Ninguno
60 °C , 10 horas	Inactivación
60 °C , 02 horas	Ninguno
98 °C , 01 minuto	Atenuación
Ebullición , 20 minutos	Inactivación
121 °C , 15 minutos	Inactivación
160 °C , 60 minutos	Inactivación

ref. 13, 49.

Tabla 3.- EFECTO DE AGENTES FISICOQUIMICOS PARA EL VIRUS DE
HEPATITIS TIPO " B " .

TRATAMIENTO	EFEECTO SOBRE LA INFECTIVIDAD
Cloro a 10,000 ppm , 30 minutos	Inactivación
Diétil éter al 20% a 4 °C , Toda la noche	Ninguno
Duodecil sulfato de Na al 1% , 01 horas	Ninguno
Formalina al 20% en 70% de alcohol , 18 horas	Inactivación
Formalina al 40% , 12 horas	Inactivación
Glutaraldehído alcalino al 2% , 10 horas	Inactivación
Hipoclorito de Na al 2.5% , 01 horas	Inactivación
Luz Ultra-Violeta , 10 mw/seg/cm ²	Atenuación
Mertiolate (1:2000)	Ninguno
Mostaza nitrogenada 0.5 mg/ml.	Ninguno
Oxido de etileno (esterilización)	Inactivación
Tri(n-butil)fosfato al 2% en 37 °C , 04 horas	Inactivación

... 48: 47.

la longitud de la cadena larga (fig 1, 2). Las posiciones 5' terminales de ambas cadenas, tienen una secuencia de 11 bases / par con características cohesivas, dichas copias son llamadas DR1 y DR2 , estas son las responsables de la conservación de la estructura circular de DNA, mismo que está clasificado como el genoma más pequeño y eficiente. En cuanto a la estructura física de ambas cadenas, se han observado en estas fragmentos abiertos a la lectura (ORFs) que son regiones que codifican para la síntesis de proteínas virales, los ORFs solo se detectaron en la cadena larga y se les llama fragmentos S, C, P, X, (también conocidos como ORF-S, ORF-C, ORF-P, ORF-X). El ORF-P es el más grande y por ello se traslapa con los otros tres ORFs (fig 2) (32, 16, 17, 48, 60).

-ANTIGENO DE SUPERFICIE.

La cubierta del HBV es el antígeno de superficie, este es codificado en la cadena larga del DNA viral, específicamente en el ORF-S , la cubierta del virus consiste en tres proteínas además de lípidos y carbohidratos. Las proteínas son ; la Simple (SS), la Mediana (MS), y la Larga (LS) . De la SS existen dos formas, la glicosada (gp 27) y no glicosada (p 24) . La proteína SS se produce cuando se inicia la lectura del ORF-S en el codón de iniciación más interno, ésta proteína tiene una longitud de 226 aminoácidos (aa). además posee cinco secuencias de aa. tres de estas son hidrofóbicas y las dos restantes tienen características hidrofílicas, la mayoría de las variaciones en la

secuencia de aa. de la S₂ se observan en los dos campos hidrofílicos. (17, 33, 60).

En función a lo anterior, se determino la existencia de cuatro subdeterminantes antigénicos que son : d, y, r, w, los que comparten un determinante común denominado "a". El HBs Ag es un dímero de dos proteínas S₂ unidas por puentes de disulfuro, los que le proporcionan a este una antigenicidad completa (fig 3) (44, 17, 31, 33, 48, 52, 60, 56).

Si la lectura del ORF-S se inicia en el segundo codon , entonces se produciría la proteína mediana, la cual esta codificada desde la región pre-S (fig 3). La MS tiene un largo de 281 aa. S₂ más que la S₂, las tres glucoproteínas de esta son : gp 33, gp 36, y la p 30, la cual no es glicosada . La gp 33 es monoglucosada y la gp 36 es biglucosada , los 55 aa. de la MS son hidrofílicos y contienen un epitope localizado en la superficie de esta misma proteína, este epitope es una unión independiente de disulfuros y aparentemente es más inmunogénico que los epitopes de la S₂. Además, la proteína MS contiene un receptor para la albúmina humana (SHAP), los hepatocitos también tienen dicho receptor y esto se ha postulado como medida de ataque del HBV al hepatocito. (44, 31, 33).

La proteína larga, se codifica si la lectura del ORF-S comienza en el tercer y más externo codon de iniciación, esta proteína tiene un largo aproximado de 409 aa. y está presente en dos formas una glicosada (gp 42), otra no glicosada (p 39) la

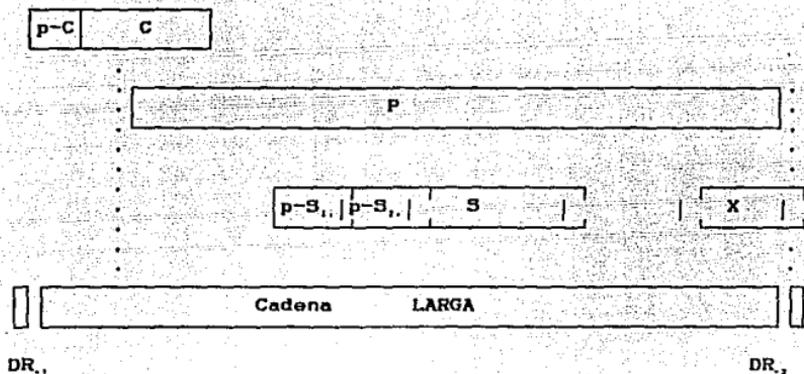


Fig 3.- Muestra de abajo hacia arriba. Los componentes de la cadena larga del genoma viral, los fragmentos adherentes (DR-1 y 2), el ORF-S (compuesto por sus regiones p31,p32,y S), el ORF-X (y su región X), a el ORF-P (y su región P), y el ORF-C (con sus dos regiones la p-C y C). Esta figura también muestra el traslape (....) que existe entre los distintos ORFs.

ref: 33, 43, 58, 56, 60.

longitud varía de acuerdo al subtipo "ay" y "ad" desde 389 hasta 400 aa. respectivamente (44, 17, 31, 33, 48) (fig 3).

-ANTIGENO CORE.

El ORF-C está dividido en dos regiones, que son la C y pre-C, cuando el ORF-C inicia su expresión en el segundo codon, se produce la proteína p 22 y se lee la región C, dicha proteína forma la cubierta protectora del material genético en el HBV, también es conocida como nucleocapside, además de tener una longitud de 189 aa. un peso aproximado de 19,000 D y poseer una actividad de proteína kinasa y es capaz de fosforilar así misma, la p 22 es rica en arginina (los primeros 164 a.a., son muy importante para la replicación del virus), serina, prolina, probablemente esto hace que exista interacción entre el HBeAg y el DNA del HBV. El HBeAg o p 22, puede inducir una respuesta inmunológica (producción de Ac) tanto por la vía dependiente de células T como independiente de ésta (43). Esto resulta de importancia para pacientes que cursan por una infección aguda en la cual se demuestre que la respuesta de células T es significativamente baja (fig 3) (22, 17, 46, 43, 48, 60, 58, 60).

-ANTIGENO CRIPTICO.

Si el ORF-C es leído desde el primer codon de iniciación, la pre-C se expresa y se sintetiza el antígeno "e" (HBeAg), la pre-C consiste en 87 pares de bases (29 aa. cuando se expresa en proteína) más que la región C. El HBeAg es un determinante

críptico que posee un peptido de señal el cual consta de 19 aa. y cuando éste es removido en el retículo endoplásmico rugoso, el HBeAg es excretado vía sistema membrana intra celular. cuando lo anterior se presenta, el mismo es solo 10 aa. más grande que el HBcAg. Este antígeno "e" es una proteína soluble de una masa relativa de 15,000 D. que comparte con el HBcAg la secuencia primaria de aa. La detección del HBeAg en suero se relaciona con la ruptura de la capsida, el ataque al corazón del virion y la replicación viral. Se han descrito tres mutantes para el antígeno "e" las cuales se dan por variación en los codones de la pre-C, específicamente en las posiciones 3213 y al final de la misma (región pre-C), (fig 3), la relación entre estas mutantes y la función del HBeAg en pacientes infectados por el HBV no esta determinado aún, recientemente se encontró que el antígeno " e " solo induce la respuesta de producción de Ac. vía células T (17, 25, 43, 48, 60, 58).

-DNA POLIMERASA.

El ORF-P tiene un papel importante en la transcripción del HBV, este ORF-P o región P es más grande en comparación con los anteriores, cuando se produce esta región se produce la proteína DNA-polimerasa, la cual tiene 844 aa. y es constituida básicamente de histidina, con una masa relativa de 90,000 D. una comparación de secuencias de aa. entre el producto de traducción de la región P y la transcriptasa inversa (producto del gen POL) de todos los retrovirus secuenciados y del virus de la coliflor (

M.L.V.) revelan trectos de homologia, esto denota la actividad de transcriptasa en reversa cuando el HBV infecta una célula y el material genético de este es transcrito por la maquinaria de la célula en RNAm, y este más la DNA-polimerasa forman el DNA de doble cadena del nuevo virion (fig 3), (17, 43, 48, 60).

-PROTEÍNA " X " .

El último de los fragmentos abiertos a la lectura y el más pequeño de ellos es el ORF-X, cuando este se expresa, da lugar a un polipéptido de aproximadamente 154 aa. Recientemente (43) , detectaron en el suero de pacientes con infección por el HBV, un peptido (p 28) que despierta la producción de Ac . contra la proteína " X " , dicho Ac. se detecta principalmente cuando el enfermo tiene cáncer hepático, la función de la proteína " X " en la infección de las células no esta determinado, pero en nuevos artículos se indica que el gen X codifica para diversas proteínas relacionadas con actividades regulatorias diferentes en la transcripción (fig. 3), (13, 17, 38, 43, 48).

-MECANISMO DE INTERACCIÓN VIRUS - HUÉSPED.

Todavía no se conoce con precisión lo que ocurre cuando el virus penetra en el organismo de un individuo, pero se sabe que las células del hígado (hepatocito) son las que el HBV prefiere infectar, aunque el DNA del virus se a detectado en el riñón, piel, polimorfonucleares, linfocitos y en médula. La interacción virus - célula huésped se puede resumir de la siguiente manera .

- a) Reconocimiento : El virus reconoce a la albúmina (ver pág 14) a través de la proteína mediana S (MS).
- b) Adherencia : El virus - albúmina, se une al receptor de ésta última en el hepatocito.
- c) Entrada : Una vez adherido el complejo (virus-albúmina) a la célula huésped, penetra por endocitosis mediada por el receptor del complejo.
- d) Transformación : El DNA del HBV alcanza el núcleo de la célula invadida y una vez dentro este DNA viral es transformado en un DNA doble super enrollado.
- e) Integración : El DNA en su forma doble super enrollada, es integrado al genoma de la célula huésped quedando entonces como provirus, aunque también se le encuentra libre en el núcleo.
- f) Transcripción y traducción : El DNA viral, es transcrito por la máquina celular formando copias de RNAm viral, algunas de estas copias son procesadas para la traducción y síntesis de las proteínas virales, pero también ese RNAm (de 3.5 Kb, pregenoma), es encapsulado por la DNA-polimerasa, para comenzar la transcripción en reversa (de RNAm a DNA viral de doble cadena).
- g) Ensamblaje : Las proteínas y el DNA viral se ensamblan utilizando la parte interna de la membrana celular.
- h) Salida : La salida de nuevos viriones es por gemación, la membrana celular envuelve a las proteínas y al DNA viral dejando a los viriones en el exterior de la célula (fig.4), (16, 17, 33, 44, 48, 60).

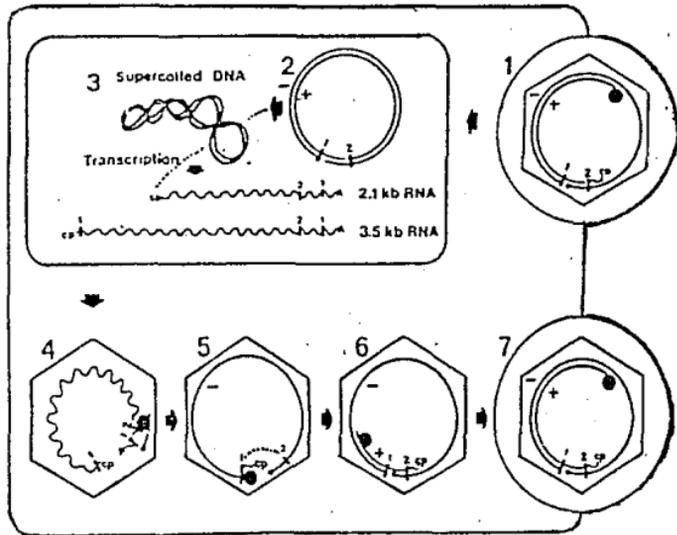


Fig 4.- Esquematiza la interacción propuesta y sus pasos del Virus y su Huésped : 1.Reconocimiento, 2.Llegada del DNA del virus al núcleo de Célula Huésped (CH), 3.Transformación del DNA-HBV a un DNA super enrollado y su fusión con el DNA-CH, 4.Envoltura del RNAm proviral por el HBCAg y su transcripción por la DNA-polimerasa, 5 y 6.Síntesis de las cadenas Larga y Corta, 7.Envoltura del provirion por el HBSAg y la salida del Virus.
ref : 48.

-MECANISMO DE TRANSMISIÓN DEL HBV.

Los mecanismos de transmisión del virus de la hepatitis " B " pueden ser de una persona a otra por vía directa (28) o indirecta (15) y su diseminación se da en forma horizontal o vertical a través de :

- Transmisión sexual (27, 34)
- Transmisión parenteral o endovenosa (2, 23, 24, 28, 29, 30)
- Transmisión perinatal (7, 53, 44, 47)
- Trasplantes e injertos (5, 37)

El virus de la hepatitis "B" se ha encontrado en Sangre, Lágrimas, Saliva, Orina, Materia fecal, Semen, y Leche materna. La exposición a cualquiera de estos líquidos corporales, si están contaminados representan un riesgo , sin embargo el peligro de infección depende mucho de la vía de exposición. Hasta la fecha hay pruebas de la diseminación del virus de la hepatitis "B" por contacto interpersonal ya sea entre miembros de una familia o en personas asiladas de diversas instituciones. Aunque la forma clásica de infección es por la vía parenteral, en transfusiones sanguíneas o usando agujas e instrumentos quirúrgicos contaminados. También es conocida la transmisión por derivados de sangre como : Plasma, y Factores de coagulación. Solamente la gamaglobulina y la albúmina son fracciones que carecen de este riesgo, por no contener el antígeno y porque la pequeña cantidad que pudiera existir se neutraliza durante su procesamiento (28, 29, 34, 47).

Con respecto a lo anterior, se ha encontrado en estudios prospectivos que del 7 al 17 % de las personas

transfundidas desarrollan hepatitis tipo "B" (28). Otras vías de infección son : A través de contacto sexual, en donde existe intercambio de líquidos corporales como son ; sangre, semen, secreciones vaginales, y saliva. También por las secreciones como son la orina o materia fecal se puede presentar la infección (60), así como en trabajos de manicurista, pedicurista, peluqueros, tatuadores, y en general cualquier oportunidad de penetración de cantidades aún infinitesimales de sangre contaminada, ya que el suero infeccioso diluido hasta un millón de veces es capaz todavía de producir hepatitis (12).

Además de las formas anteriores de transmisión, es probable que la infección se adquiera por otros medios, uno de ellos de importancia en zonas tropicales, sería la que efectúan los insectos hematófagos (mosquitos, moscas, chinches, piojos), ya que se ha demostrado la presencia del antígeno de superficie en los insectos mencionados (15, 50). En la hepatitis por virus "B" relacionando al embarazo, la vía de transmisión puede ser placentaria o cuando el producto pasa por el canal de parto, una menor importancia de la infección al bebe es la transmisión por la leche materna. La infección al neonato es importante en aquellos países donde la prevalencia del HBV es mayor.(2, 30).

-TIPOS DE HEPATITIS.

Hasta principios de 1989, la hepatitis viral se ha clasificado de acuerdo a su agente etiológico en : hepatitis A , B , No A- No B , D , y se da gran importancia al reconocer al virus responsable

del daño hepático para establecer el diagnóstico preciso, las medidas terapéuticas, el pronóstico así como la prevención de enfermedad. El conocimiento del agente etiológico de la hepatitis viral ha ido de la mano con el avance en la investigación básica y la tecnología, de esta manera, métodos serológicos que emplean principios inmunológicos y técnicas de microscopia electrónica inmune, permitieron que en 1973 se descubrieran en muestras fecales, partículas virales de pacientes con hepatitis en fase aguda, y con ello un sistema antigénico además, el detectar títulos elevados de Ac. contra el virus que denominaron virus de hepatitis "A". La que generalmente es autolimitada y sin secuelas (19, 41).

En 1977 ayudados con la misma tecnologías, detectaron un nuevo sistema antígeno - anticuerpo (Ag - Ac) en el suero de pacientes portadores del HBV, mismo que denominaron virus Delta (HVD). Posteriormente, demostraron que se trata de un virus de los llamados incompletos con un material genético a base del RNA circular de 1,700 bases, el cual requiere de la presencia del HBV para replicarse y producir la enfermedad (19, 41, 60).

En Abril de 1989 (10) , encontraron en un paciente que contenía el agente transmisor de hepatitis No A - No B , un segmento de DNA, con el cual, emplearon la técnica de hibridización del DNA para formar una clona, que produjo un antígeno asociado a la infección, este se utilizó para detectar Ac. específicos en sueros y encontraron que del 80 al 90 % de los pacientes con hepatitis adquirida por transfusión sanguínea, resultaron positivos

a esta detección. denominando a dicho agente como virus de hepatitis tipo "C" (HVC) (19).

En Marzo de 1990 (8), reportaron el aislamiento del virus responsable de la hepatitis No A - No B - No C , transmitida entericamente en brotes epidémicos en países subdesarrollados incluyendo México, empleando la técnica de hibridación del DNA y usando como fuente del mismo bilis de un macaco previamente infectado, descubrieron que la secuencia del DNA complementario aislado resultó idéntico al obtenido de muestras fecales de pacientes infectados de diversas áreas endémicas geográficamente distantes. por ello, a este virus de la hepatitis transmitida entericamente fue clasificado como virus de hepatitis tipo " E " (HEV). Pese a lo anterior, continúan observándose pacientes con hepatitis viral que no tiene marcadores serológicos para los virus anteriormente mencionados. Por lo tanto, en ellos se puede establecer el diagnostico de hepatitis No A, No B, No C, No D, No E. lo que nos lleva a pensar que las letras del abecedario aplicadas a los virus de las hepatitis se extenderá (9, 19, 21, 40, 60) .

- FISIOPATOLOGIA .

La respuesta a la infección por el virus de hepatitis tipo "B" por parte del huésped, esta dada en función a los marcadores serológicos del HBV . Por tal motivo, se requiere del estudio de dichos marcadores así como de los procesos bioquímicos involucrados con la enfermedad. La hepatitis " B " puede

evolucionar de cuatro formas ; asintomática, aguda, crónica y fulminante, existiendo correlación entre los marcadores clínicos y dicha evolución .(1, 5).

-ASINTOMATICA .

En la sangre de los pacientes que evolucionan a esta forma de hepatitis " B " , el HBsAg y el HBeAg, están presentes generalmente por un periodo de tiempo corto, y la concentración de ambos es baja. Poco tiempo después de la exposición al virus, se nota la presencia y el aumento de Ac contra los Ag del HBV, este hallazgo es característico en los pacientes asintomaticos. Por ello en varios de estos enfermos, el HBsAg no se llega a presentar y además no muestran ninguna molestia ó alteración (fig 5).(5, 24).

-AGUDA .

En esta forma de hepatitis " B " , los marcadores virales (HBsAg, HBeAg, DNA-polimerasa y el mismo DNA del HBV) se presentan entre la cuarta y vigésima octava semana posterior a la exposición, de ellos es el HBsAg el que mayor concentración alcanza, coincidiendo con el inicio de la elevación en las enzimas transaminasa glutámico pirúvica y transeminasa glutámico oxalacética (TGP Y TGO respectivamente) en sangre (fig 6). Aunque los marcadores son detectables casi al mismo tiempo, la presencia del HBeAg en el fluido sanguíneo es corta y su desaparición es seguida por la aparición de su correspondiente anticuerpo , esto generalmente ocurre al rededor del pico de los

síntomas clínicos y de la actividad patológica. El único de los marcadores que no se detecta en sangre es el HBcAg, pero su correspondiente Ac. si, éste aparece poco antes que los síntomas y su concentración se eleva rápidamente, siendo considerado por lo anterior como un marcador exacto de una infección inicial. (1, 5, 27)

Con el mejoramiento clínico y la disminución de las transaminasas, así como de los marcadores, se presenta el anti-HBs, el cual a diferencia del anti-HBc y anti-HBe no se eleva durante la infección aguda. En aproximadamente el 10 % de las personas con esta enfermedad, el anti-HBs no se detecta aun cuando el HBsAg desaparezca. existe una fase en este padecimiento llamada de ventana durante la cual el HBsAg y el anti-HBs no son detectados. Durante este período, el anti-HBc puede ser el único anticuerpo en el suero, la respuesta inicial contra el HBcAg esta dada por una inmunoglobulina de tipo IgM, esta disminuye aproximadamente de 6 a 18 meses hasta niveles indetectables y solo persiste una inmunoglobulina de tipo IgG, la que es de larga duración. En términos generales, el hallazgo del anti-HBs indica recuperación e inmunidad por ser un anticuerpo neutralizante. si valoramos el anti-HBc, diremos que cuando es de tipo IgM en ausencia del HBsAg indica un episodio reciente de hepatitis, así mismo, el anti-HBc de tipo IgM aunado al HBsAg en suero no discrimina entre infección aguda y la crónica (fig 6). La vida media del HBsAg es de 8 días, si al inicio de la enfermedad tenemos títulos altos de HBsAg, indican que el período de positividad

Concentración
[]

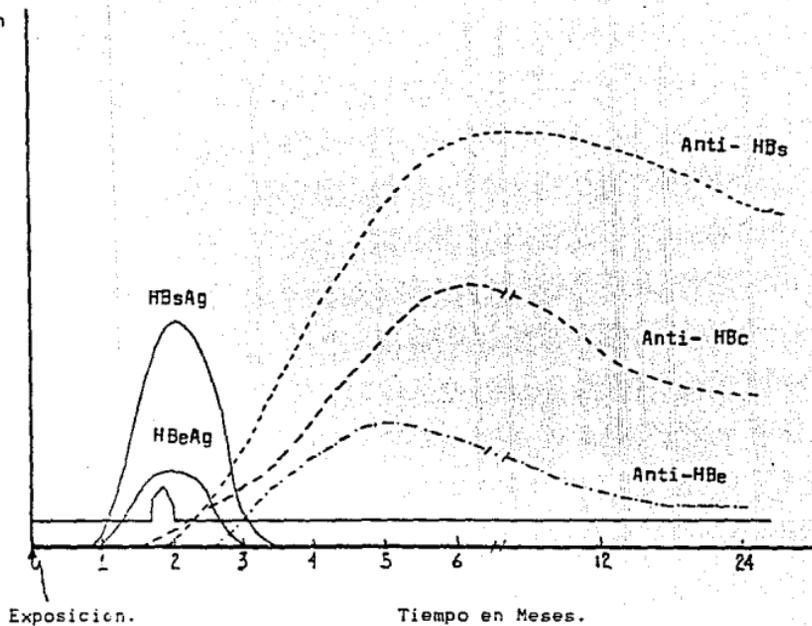


Fig 5.- CURSO SEROLOGICO DE UNA INFECCION ASINTOMATICA POR EL HBV.
ref ; 13, 35, 39, 55.

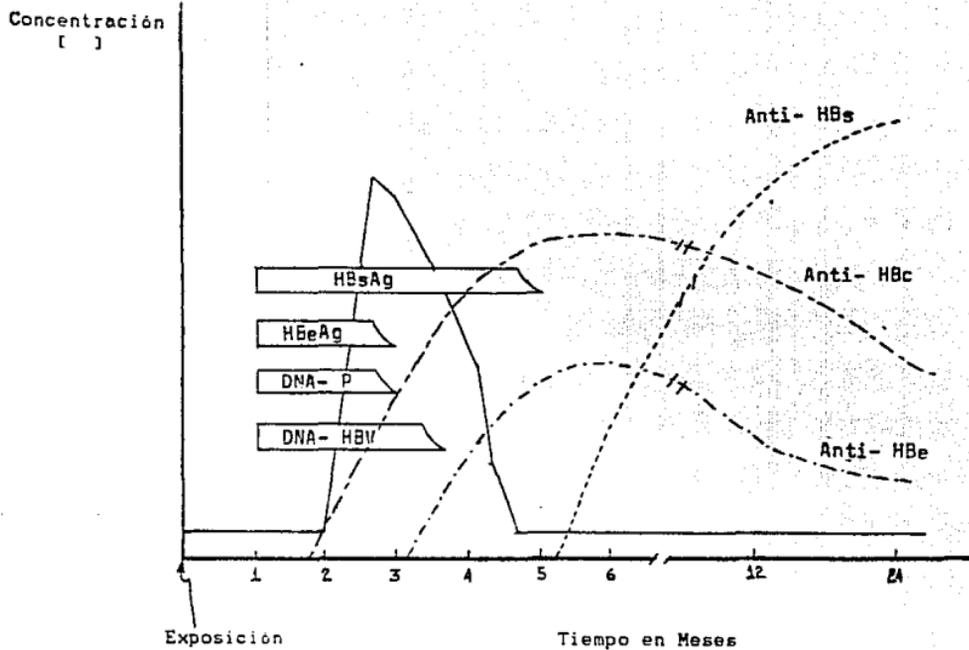


Fig 6.- CURSO SEROLOGICO DE UNA INFECCIÓN AGUDA POR EL HBV.

ref ; 8, 20, 48.

tendrá una mayor persistencia. ret (24, 27, 39).

-CRÓNICA .

En los pacientes que evolucionan a una hepatitis " B " crónica, se observa el estado de portador crónico del HBsAg, este aparece durante el período de incubación y progresivamente aumenta hasta alcanzar altas concentraciones y una permanencia de meses ó años en la sangre del huésped. De la misma manera, el HBeAg inicia la elevación de su título juntamente con el HBsAg aunque no iguala la concentración de éste. La persistencia del elevadas cantidades del antígeno criptico durante la fase aguda, resulta altamente sugestivo del desarrollo en el paciente de la forma crónica, también en esta fase se detectan al mismo tiempo el DNA del HBV y la DNA-polimerasa. El anti-HBc, se presenta antes que los síntomas, alcanzando concentraciones mayores que el HBsAg y sin tendencia a decrecer. La hepatitis crónica, se clasifica en dos formas : a) Crónica Activa y b) Crónica Inactiva. Los niveles séricos de transaminasas y los ensayos serológicos se pueden utilizar para diferenciar las formas anteriores ; la crónica activa, presenta HBsAg, indicadores de la replicación viral tal como HBeAg, DNA del HBV, en suero ó el HBcAg en el hígado. La crónica Inactiva, tiene HBsAg sin DNA del virus ó HBeAg en el suero y sin HBcAg en el hígado (fig 7). ret (60, 59).

-FULMINANTE .

En la hepatitis " B " fulminante, los marcadores del HBV se

Concentración
[]

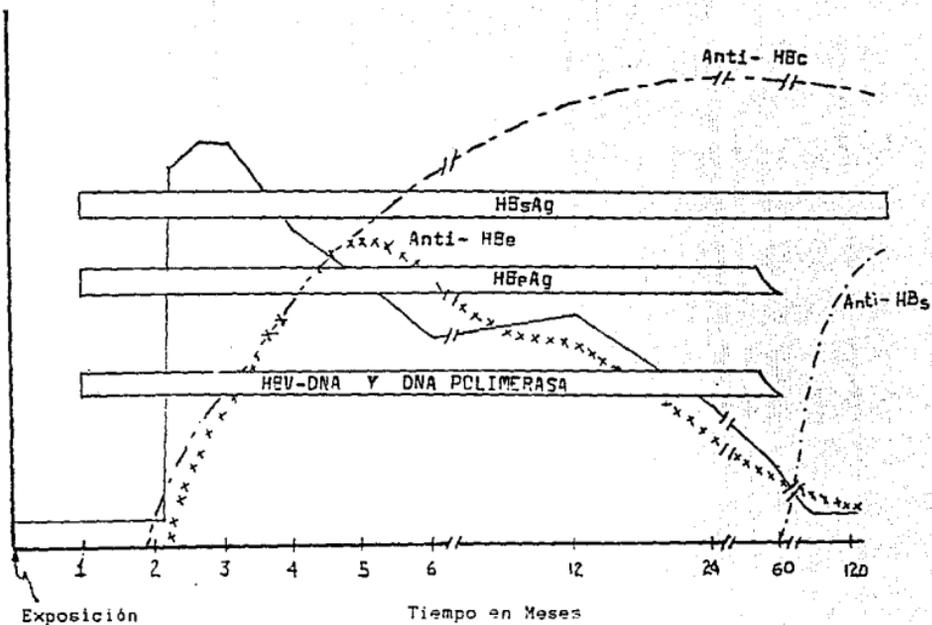


Fig 7.- CURSO SEROLOGICO DE UNA INFECCIÓN CRÓNICA POR EL HBV.

ref : 20, 39, 41.

presentan de la misma forma que la hepatitis " B " aguda. aunque para la fulminante , los decrementos en las concentraciones de los marcadores no puede ser tomados en cuenta como sinónimos de recuperación, porque los síntomas de deterioro en la función hepática del paciente son muy notorios , esto es ocasionado por la acción de la respuesta inmunitaria dirigida contra los antígenos del HBV. Lo cual hace notar que del 1 al 3 % de los adultos con hepatitis " B " aguda (ictérica), desarrollan la forma fulminante y apesar del tratamiento médico, el pronostico es sombrío, informándose que entre el 80 y 90 % de estos pacientes mueren. (1, 39).

- MANIFESTACIONES CLINICAS .

-INFECCIÓN ASINTOMATICA .

Cuando la infección asintomática del HBV se presenta, el curso del paciente es subclínico y anictérico, cuando se quiere confirmar el ó la infección del HBV, se utilizan pruebas de laboratorio.(35).

-INFECCIÓN AGUDA .

Los síntomas más frecuentes en la hepatitis aguda son: astenia, anorexia, ictericia, coluria, acolia (en heces), oliguria, hepatomegalia. (35).

-INFECCIÓN CRÓNICA .

En esta forma de hepatitis " B ", los síntomas más comunes son ; fatiga e ictericia en más del 75 % de los casos. En mujeres, el

90 % de estas presenta; amenorrea, prurito, pérdida de apetito (30 %), poliartralgias (30 %), y diarrea (28 %). La fiebre es leve, los sangrados por mucosa nasal y oral también lo son, los signos físicos revelan hepatomegalia (8 %), ictericia (69 %), esplenomegalia (33 %). La presencia de encefalopatías y datos de hipertensión portal, son hallazgos poco frecuentes al inicio del diagnóstico y generalmente, reflejan estadios avanzados de la enfermedad. La hepatitis crónica puede durar años ó décadas, los síntomas pueden ser leves e insignificantes ó severos que pueden desarrollar cirrosis hepática ó falla del mismo órgano. Lo intermitente de los síntomas y signos de la enfermedad no facilitan el realizar un diagnóstico en las formas crónicas de la hepatitis " B ", la cual es típicamente una enfermedad silenciosa. (35, 41).

-INFECCIÓN FULMINANTE .

Un bajo porcentaje de pacientes con hepatitis " B " aguda, desarrollan la forma fulminante y mueren. Este tipo de infección se presenta tanto en pacientes jóvenes y saludables como en viejos y enfermizos, los síntomas comunes son : Encefalopatías y de estas la inversión de los patrones de sueño (día - noche), agresividad y aún violencia son los más frecuentes. Las encefalopatías con el tiempo desarrollan letargos, somnolencia, estupor, una súbita disminución del tamaño del hígado, aumento de la temperatura, confusión mental y finalmente el coma. (1, 5, 24, 27, 39, 55 60).

- PARÁMETROS DE LABORATORIO .

Los estudios de laboratorio son fundamentalmente para realizar un diagnóstico diferencial, tipo de evolución y pronóstico del cuadro de hepatitis " B ". Estos estudios son : Determinación de bilirrubinas, transaminasas glutámico oxalacética y pirúvica, y la serología de los marcadores virales . (35).

-BILIRRUBINAS .

Existen dos tipos de bilirribina . la conjugada y la no conjugada, la primera ya procesada por el hígado y la segunda intacta. La tendencia en forma global es al aumento en las primeras semanas, con un predominio de la bilirrubina no conjugada cuando el cuadro ó la destrucción del hígado no es muy fuerte. si este es el caso, las cifras se normalizaran a partir de los 20 días después del aumento de la misma . (35).

-ENZIMAS .

Las más específicas son, la transaminasa glutámico pirúvica (TGP) y la transaminasa glutámico oxalacética (TGO), aunque el perfil hepático consta de otras más como la fosfatasa ácida, etc. El aumento de la TGP es superior en el período agudo de la enfermedad, lo anterior esta explicado porque la enzima es 95 % citoplasmática, mientras que la TGO es un poco menor dado que ésta es 60 % mitocondrial. La normalización de las transaminasas se produce entre la 4a y 7a semana, las cifras de las transaminasas que persisten elevadas más allá de dicho lapso, son indicadores de

mal pronóstico. (35).

-MARCADORES SEROLOGICOS .

Estos son importantes para determinar el curso clínico de la infección, por lo que se considera que sus aportaciones informativas son las más determinantes en la hepatitis " B " . La relación de los marcadores con la evolución de la enfermedad se ilustran en la tabla (4).(55).

Otras alteraciones que se presentan en la sangre de los paciente son ; baja hemólisis, moderada reducción del hematócrito, así como de la concentración de hemoglobina, un aumento en la cuenta de células blancas (aprox. 12,000), disminución de los factores de la coagulación . En orina se puede detectar, oliguria, urobilinuria, coluria . Todo lo cual se normaliza conforme mejora el proceso. (13, 32, 35, 39, 41, 53, 60).

- ASPECTOS INMUNOLOGICOS .

La respuesta inmune a la infección por el virus de la hepatitis tipo " B " (HBV), es desencadenada al menos por tres antígenos, que son; el de superficie (HBsAg), el central (HBcAg), y el criptico (HBeAg). Estos se presentan en el suero y sobre la superficie del hepatocito (el HBcAg solo está en la superficie de esta célula) , como resultado de la replicación del virus en el interior de la célula hepática. El sistema inmune es un complejo mecanismo de defensa que el organismo posee para defenderse de los agentes nocivos que lo invaden , la

tabla 4.- MARCADORES SEROLOGICOS DEL H.B.U. EN
DIFERENTES ESTADOS DE LA INFECCION

Estado de la infeccion	HBsAg	Anti-HBs	HBoAg		HBsAg	Anti-HBe
			IgM	IgG		
Periodo de Incubacion	+	-	-	-	-/+	-
Hepatitis Aguda	+	-	+	+	+	-
Hepatitis Aguda con HBsAg (-).	-	-	+	+	-	-
Portador Sano del HBsAg	+	-	-/+	+++	-	+
Hepatitis Cronica	+	-	-/+	+++	+	-
Hepatitis Cursada Recientemente	-	++	-/+	++	-	+
Hepatitis cursada tiempo atras	-	-/+	-	-/+	-	-
Vacuna Recientemente contra el H.B.U.	-	++	-	-	-	-

ref. 5, 13, 49.

resistencia de un individuo ante el ataque al antígeno puede ser de grado variable y va desde una compleja susceptibilidad hasta una fuerte resistencia y de aquí que existan pruebas de que la patogenia de las lesiones del hígado que se observan en el curso de la hepatitis " B ", tienen relación con la respuesta inmunitaria del huésped . En lo que respecta a los antígenos, nos referimos primero al de superficie, el cual esta constituido por tres proteínas (SS, MS, LS), las cuales tienen un determinante común "a" y varían en los subdeterminantes (r, w, d, y) de estos los más estudiados por su poder inmunogénico son "ad" y "ay" . La proteína SS es inmunogénica por sus epitopes que presentan, pero en estudios recientes se a demostrado que la proteína MS tiene un epitope dominante en su superficie además de sitios específicos de reconocimiento para las células T y B, las cuales son las encargadas de producir una respuesta firme y fuerte en contra del antígeno que es portado en la superficie del virus, este (HBsAg) es el primero en detectarse en el suero ó sangre durante el período de incubación de la infección aguda, entre la cuarta y sexta semana del contagio y de la segunda a la octava antes que la ictericia. Es bueno mencionar que dicho antígeno se presenta en la superficie del hepatocito y cuando la acumulación de éste es demasiada, parte del mismo es liberada al torrente sanguíneo, lo que indica replicación activa. El antígeno central (HBcAg), no se presenta libre en la sangre, pero si expresado en la superficie del hepatocito, este antígeno también despierta una respuesta inmune fuerte dado que la puede inducir tanto por las células T como por

las células B (es decir puede o no ser timo dependiente), la presencia del Ac-HBs (anticuerpo del HBsAg), es un buen síntoma cuando se presenta a tiempo corto de iniciado el cuadro. Tanto el HBcAg como el HBsAg en la superficie de la célula hepática, predispone al hígado para su necrosis por el sistema inmune del paciente. Dicha necrosis es retardada por el HBV, induciendo la producción y liberación del HBsAg y HBeAg del hígado al torrente sanguíneo con lo que logra entretener al sistema inmune. Este HBeAg es timodependiente, es decir que necesita la presencia de las células T para que la producción de Ac se de, por lo anterior, se marca la especial trascendencia en la determinación de manifestaciones clínicas y el curso de la infección por el HBV, aunque hay muchos detalles que no se conocen, existen otros que están demostrados, como que la respuesta inmunitaria de mediación celular en contra de los antígenos del virus en la etapa aguda es mayor que en la forma crónica, pero no se sabe lo que sucede en los portadores persistentemente sintomáticos, también la demostración de un grado considerable de citotoxicidad en leucocitos ; polimorfonucleares, células B y un poco en células T, es conocida por el hallazgo de DNA viral en las mismas células. Otra cosa que se conoce sobre esta infección es que enfermedades como el síndrome de Down, leucemias, lupus eritematoso sistémico, diabetes, etc. predispone a la persistencia del HBV y de su HBsAg circulante en el mismo paciente. (22, 31, 46, 60).

- MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL HBsAg .

El desarrollo de las ciencias y la tecnología, facilitó la rápida evolución de metodología para detectar el HBsAg de tal manera, que el método utilizado por Blumberg de doble difusión en agar, actualmente es sustituido por métodos que resultan más rápidos, sensibles y específicos. Los métodos en la actualidad se clasifican en tres grupos que son : Primera , Segunda y Tercera generación. Esta clasificación es en función a la sensibilidad, tiempo que se tarda la misma en dar resultado, el costo y la especificidad de la prueba. De la selección anterior, los de tercera generación son los más modernos y sus ventajas y desventajas entre las pruebas que componen este grupo se describen a continuación. (35).

-TERCERA GENERACIÓN .

En este grupo se encuentran los métodos más actualizados y considerados de alta sensibilidad.

-Hemaglutinación : Es un método sencillo , funcional, consistente en la aglutinación de los eritrocitos especialmente tratados ó en la inhibición de la misma en caso que la muestra sea negativa, pero pequeñas variaciones en la recubierta de los eritrocitos, dan lugar a grandes errores tanto falsos positivos como negativos.

-Inmunofluorecencia : Un método clásico dentro de este grupo dado que es muy sensible pero no es apropiado para trabajo rutinario en la detección del antígeno de Australia. Este se fundamenta en la utilización de Acs. marcados ITF o FIT que se adhieren al HBsAg insertado en la membrana celular y que por fluorescencia se detecta cuando la muestra es positiva. es muy utilizado en estudios de biopsias hepáticas en enfermos crónicos.

-Análisis radioinmunológico (R. I. A.) : La elevada sensibilidad y especificidad son sus primordiales ventajas de este método. Que utiliza materiales radioactivos además de instalaciones especiales y requiere de contar con personal capacitado para el manejo de material radioactivo, esto limita un poco el empleo rutinario del mismo , pero es muy buen método.

-Análisis inmunológico ligado a una enzima. La sensibilidad de esta método es comparable con el R.I.A. pero, presenta además grandes ventajas sobre el anterior. no requiere del uso de isótopos, el equipo para su manejo no es muy costoso, y se puede utilizar como estudio de rutina por su facilidad, rapidez para obtener los resultados , porque con tan solo con un cambio de color la muestra positiva es detectada cualitativamente ó cuantitativa si se utiliza un espectrofotómetro.

- VACUNA CONTRA EL H.B.V.

La hepatitis de tipo " B " , es una enfermedad de consecuencias graves y en ocasiones fatal. Aunque la mayoría de los pacientes infectados se recuperan, aún después de una larga y penosa incapacidad, un porcentaje importante desarrollan complicaciones, las cuales son más graves en los pacientes hospitalizados, los que ya tienen una afección en su salud y que por medio de una transfusión sanguínea, supuestamente benéfica, son infectados por el H.B.V. y así ven complicado su restablecimiento. (42).

Una elevada incidencia de contagios se observa entre grupos de personas (formadas como grupo de alto riesgo), cuya profesión los obliga a estar en contacto con sangre u otros fluidos corporales de individuos aparentemente sanos, dado que gran parte de los portadores del H.B.V. son asintomáticos. Este grupo de alto riesgo lo forman : Médicos, Dentistas, Enfermeras, Personal del Banco de sangre (Laboratoristas y Químicos), y de todas aquellas personas que directamente ó indirectamente, esta expuestas a los fluidos corporales de portadores del H.B.V. (3, 6, 7, 32, 42, 54).

El problema es que no existe un tratamiento específico en contra del H.B.V. y la enfermedad una vez desencadenada, pero se han elaborado algunas vacunas contra dicho virus el H.B.V. de carácter preventivo, una de ellas la cual es fruto de la biotecnología, fue obtenida por ingeniería genética en 1986. Esta vacuna ha brindado protección confiable bajo el esquema de tres

dosís aplicadas en el transcurso de seis meses más un refuerzo a los cinco años, el método de obtención de esta vacuna, nos hace eliminar la posibilidad de que la misma contenga contaminantes como el virus de la Inmuno Deficiencia Humana. la vía de administración de la vacuna es por la región deltoidea del músculo deltoides, la vacuna de los infantes en regiones con altos ó intermedios índices de infección, es recomendada por la Organización Mundial de la Salud (O. M. S.) (1, 22, 27, 9, 50, 56,).

. O B J E T I V O S .

En base a la información planteada anteriormente en relación a la determinación del antígeno de superficie del virus de la Hepatitis tipo " B ", tomando en cuenta la metodología más idónea para tal efecto, y conociendo su importancia en las pruebas transfusionales, planteamos los siguientes objetivos.

- Detectar el ANTIGENO DE SUPERFICIE del virus causal de la Hepatitis " B " (POR EL METODO DE E.L.I.S.A.) en DONADORES de sangre del H.T.O.L.V. para evitar la transmisión del virus por este medio.
- Analizar los datos obtenidos para determinar la INCIDENCIA y FRECUENCIA de la seropositividad al HBsAg e indagar si existe relación con la EDAD, SEXO y GRUPO SANGINEO.

-MATERIAL Y METODO .

Este trabajo se realizó en el módulo de pruebas especiales, que esta integrado al laboratorio de análisis clínicos del Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes (H. T. O. L. V.), del Instituto Mexicano del Seguro Social (I. M. S. S.), bajo previa autorización del C. JULIO RAMOS ORTEGA director del Hospital, y el C. GUILLERMO MARTÍNEZ LÓPEZ jefe del laboratorio clínico del mismo lugar.

La detección del HBsAg fue considerada desde el día 1' de Noviembre de 1987 al 31 de octubre de 1990 y realizada con la técnica MICROELISA de ORGANON TEKNIKA.

- MATERIAL BIOLÓGICO .

Los donadores fueron principalmente familiares de los pacientes del mismo hospital, así como algunos donadores altruistas, ya que la disposición establecida por la Secretaría de Salubridad y Asistencia (S. S. A.) (diario oficial de Mayo 1986), prohíbe la comercialización de sangre en el país, evitando con ello a los donadores profesionales.

-MANEJO DEL DONADOR .

Generalmente de dos a tres días antes que se efectuó la donación, se da por escrito a los familiares del paciente, las siguientes indicaciones :

tener un ayuno de 4 horas y no mayor de 6.

pesar más de 50 Kg.

tener una edad entre los 18 y los 60 años.

no practicar la prostitución y no ser homosexual ó bisexual.

En el momento previo a realizar la donación, se practica un examen médico (que consta ; en la determinación de presión sanguínea, peso, estatura, y un cuestionario en el cual se trata de indagar sobre las enfermedades padecidas, vacunas recibidas, etc.), sin dejar de insistir sobre el antecedente de las relaciones homo y bisexuales, en el supuesto caso de ser positivo ó que no cumpla los puntos anteriores, se rechaza su donación.

-MANEJO DE LA MUESTRA.

Minutos antes de la extracción de la sangre de donación, al donador, se le extrae una muestra de sangre aprox. 5 ml. y se determina a la misma, la concentración de hemoglobina, hematócrito, grupo sanguíneo, Rh, siendo estos otros parámetros que si no son los requeridos la donación se rechaza. Posteriormente y a más tardar 24 horas después del sangrado se realiza la detección de *Brucella abortus*, anticuerpos contra el *treponema palidum*, antígeno de superficie del H.B.V., y anticuerpos contra el V.I.H. dichas determinaciones se hacen con el suero de las muestras previas.

- MANEJO DEL MATERIAL BIOLÓGICO .

Se muestreo una población que comprende a los donadores de sangre que asistieron al H.T.O.L.V. entre el 1 de Noviembre de 1987 al 31 de Octubre del 1990, teniendo un total de 7094 estudios

realizados.

Por la gran facilidad de contaminación, al manejar las muestras, reactivos, recipientes de desecho y soluciones que sirven para desinfectar el material, los ensayos se realizaron en un lugar exclusivo para ello. En lo que respecta a la protección de los que realizamos la prueba, utilizamos batas quirúrgicas, guantes desechables, lentes de seguridad y cubrebocas, además de tener cuidado de que no exista la presencia de vapores reactivos ó polvos, dado que se puede dar una activación del conjugado (ver método).

-MÉTODOS DE E.L.I.S.A.

Se fundamenta en la realización de una reacción tipo sandwich (anticuerpo-antígeno-anticuerpo), la cual produce al efectuarse un color amarillo que es notorio y valorable.

Lo primero es dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente, para evitar la condensación de los mismos. Casi todos los reactivos del equipo están listos para ser usados, solo hay que preparar la solución de lavado, el cromógeno, y el peróxido de Urea. De la forma en que se describe en seguida.

La solución de lavado ó buffer de lavado, es a base de fosfatos mismos que en el Kit, se encuentra en una solución concentrada y para ser utilizado, se realiza una dilución 1:25 con agua destilada y desionizada a temperatura ambiente.

Las tabletas de peróxido de urea, se tienen que disolver con 10 ml. de agua desionizadas por cada comprimido, para ser utilizadas.

El cromógeno o sustrato, se prepara con 2.5 ml. de agua desionizada, a la que agregamos un comprimido de OPD (orto fenil diamina), más 0.1 ml. de solución de peróxido de Urea.

El equipo que se necesita además de el normal en un laboratorio, es el lavador, lector de la muestra y el termo bloque ó incubadora.

El procedimiento del ensayo es el siguiente : En el fondo del pozo se encuentra recubierto con anti-HBs (anticuerpo que reconoce al HBs), cuando la muestra (suero ó plasma) se pone en contacto con el pozo, y en la misma hay HBsAg (y por lo tanto el HBV), este será capturado por el anticuerpo presente en el fondo del pocillo, ambos formaran un complejo el cual queda adherido al mismo. A la reacción anterior se toma un tiempo de 60 min. a 37°C al termino del cual se extrae el sobrante de la reacción y se lava el pocillo en cuatro ocasiones con solución de lavado. En seguida se adiciona 0.1 ml. del conjugado (anticuerpos marcados con una enzima y que se encuentra listo para ser utilizado), que se ponen en contacto con el complejo del pocillo por un espacio de 60 min. a 37°C, estas indicaciones son las ideales para que en caso de existir el complejo y el conjugado, reaccionen formando el sandwich (Ac- Ag- Ac), el cual queda también en el pozo. Al termino del tiempo anterior, se extrae el sobrante y se repite el lavado del pocillo. Cuando el proceso de lavado termina, el sustrato (0.1 ml.) se coloca al pozo por espacio de 30 min. a temperatura ambiente y en oscuridad, para facilitar la degradación del sustrato por su correspondiente enzima (presente en el conjugado). La reacción

finaliza cuando se añade al pocillo 0.1 ml. de H₂SO₄ 4 N. y se realiza la interpretación del resultado por el método cuali ó cuantitativo (fig 8).

-INTERPRETACIÓN .

Como mencionamos, hay dos formas de realizar la interpretación sobre la presencia del HBsAg en la muestra, la cualitativa que consiste en tan solo comparar la coloración del pozo de la muestra con los pozos positivos (que en un inicio de la prueba le agregamos 0.1 ml. de suero control positivo débil) y negativo (que al igual agregamos suero control negativo).

La forma cuantitativa se presenta cuando al pocillo de la muestra así como a los testigos positivos fuertes, débiles y negativos, se le cuantifica su absorbancia a una longitud de onda de 492 nm. entonces, determinamos la media de las absorbancias para los controles positivos débiles (PD) y los negativos (N).

Con las medias anteriores, se calcula el valor de corte que es un parámetro de referencia establecido por los dos controles (positivo y negativo) dados por el laboratorio fabricante, dicho valor se calcula así :

$$\text{Valor de Corte} = 0.5 (N + PD)$$

La utilización de este parámetro es :

si $S >$ al valor de corte entonces $S =$ Positiva

si $S <$ al valor de corte entonces $S =$ Negativa

donde $S = a$ la absorbancia de la muestra

Un resultado positivo, implica que la muestra contiene muy probablemente el HBsAg.

Mientras que una negativa, significa que la muestra no contiene HBsAg o que lo contiene por debajo del límite de detección del equipo.

En lo referente a la Frecuencia e Incidencia Acumulada, fueron calculadas de la siguiente manera :

Frecuencia = $\frac{\text{(Numero de donadores positivos en un tiempo)}}{\text{(Numero total de donadores en el mismo Tiempo)}}$

Incidencia = $\frac{\text{(Numero de donadores positivos en el año(s))}}{\text{(Numero total de donadores para el año (s))}}$

Acumulada

fig 8.- Representación de las reacciones que se efectuan en la prueba . E . L . I . S . A .



a) Unión del Anticuerpo (Anti-HBs) con su Antígeno (HBsAg)



b) Enlace entre el complejo anterior (anti-HBs+HBsAg) y el Anticuerpo marcado con la enzima.



c) Reacción entre la enzima y su correspondiente substrato



e) Producción de color mediante el paso anterior y fin de la reacción con ácido sulfúrico.

-RESULTADOS .

Los resultados de este trabajo realizado en el Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes e iniciado en Noviembre de 1987 y concluido en Octubre de 1990, Periodo que comprende tres años con un total de 7094 muestras o sueros de donadores familiares de sangre, encontrándose en total 150 positivos a la detección del HBsAg, por la técnica de microelisa. Este número nos indican una frecuencia de 2.11 % y una tasa de incidencia acumulada del 211 por cada 10,000 donadores de sangre (tabla 5; graf 1).

El total de estudios realizados (7,094), para fines didácticos, prácticos y un mejor entendimiento, fue dividido en dos poblaciones (tabla 6 ; graf 2).

Una que comprende a donadores del sexo femenino con un total de 917 muestras, siendo positivas 21 de ellas, arrojando una frecuencia del 2.29 % así como una tasa de incidencia acumulada de 229 por 10,000 donadoras.

En la población masculina representada por 6,177 muestras, 129 de estas positivas, dan un 2.23 % de frecuencia y una tasa de incidencia acumulada de 223 por 10,000 donadores masculinos de sangre.

El ultimo año (de Noviembre 1989 a Octubre del 1990), se tomo para tratar de establecer correlación entre la edad y el tipo sanguíneo del donador con la positividad al antígeno Australia. En este lapso fueron estudiados 3,291 donadores de los cuales 83 fueron positivos, obteniendo una frecuencia de 2.52 % y una tasa

Tabla 5.- FRECUENCIA E INCIDENCIA AL HBsAg DE DONADORES DE SANGRE
POR AÑOS .

Año *	Negativos	Positivos	Frecuencia en %	Inciden- cia por 10,000	Total
87 - 88	1386	16	1.14	114	1402
88 - 89	2350	51	2.12	212	2401
89 - 90	2903	83	2.58	258	2986
Total	6639	150	2.11	211	7094

* de Noviembre a Octubre
1987 1988

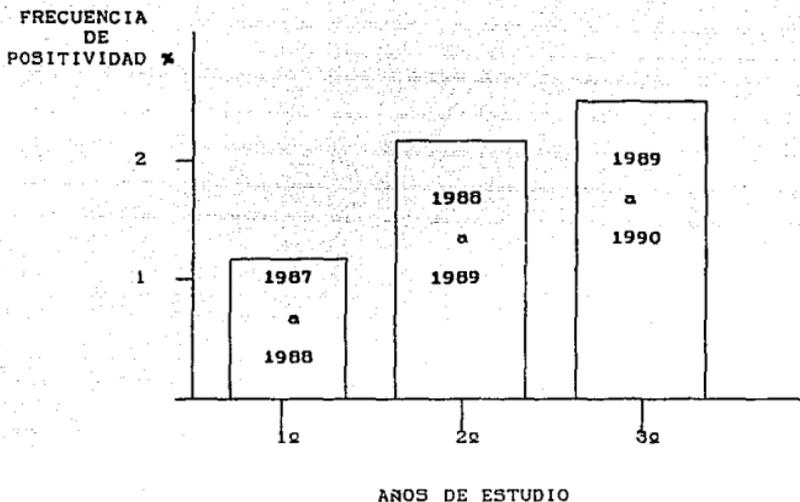


Gráfico 1 .- FRECUENCIA DE POSITIVIDAD AL HBsAg EN DONADORES DE SANGRE.

En el que podemos observar el aumento de la frecuencia conforme transcurren los tres años del estudio

Tabla 6.- FRECUENCIA DE POSITIVIDAD AL HBsAg EN DONADORES DE SANGRE FEMENINOS Y MASCULINOS DEL H.T.O.L.V.

Año *	Positivos Fem ; Masc	Negativos Fem ; Masc	Frecuencia en % Fem ; Masc	Total de Fem ; Masc
87 - 88	2 ; 14	213 ; 1173	0.9 ; 1.2	215 ; 1187
88 - 89	8 ; 43	334 ; 2016	2.3 ; 2.0	342 ; 2059
89 - 90	11 ; 72	310 ; 2593	3.1 ; 2.5	360 ; 2931
Totales	21 ; 129	857 ; 5782	2.3 ; 2.2	917 ; 6177

* de Noviembre a Octubre.

Fem = Sexo Femenino

Masc = Sexo Masculino

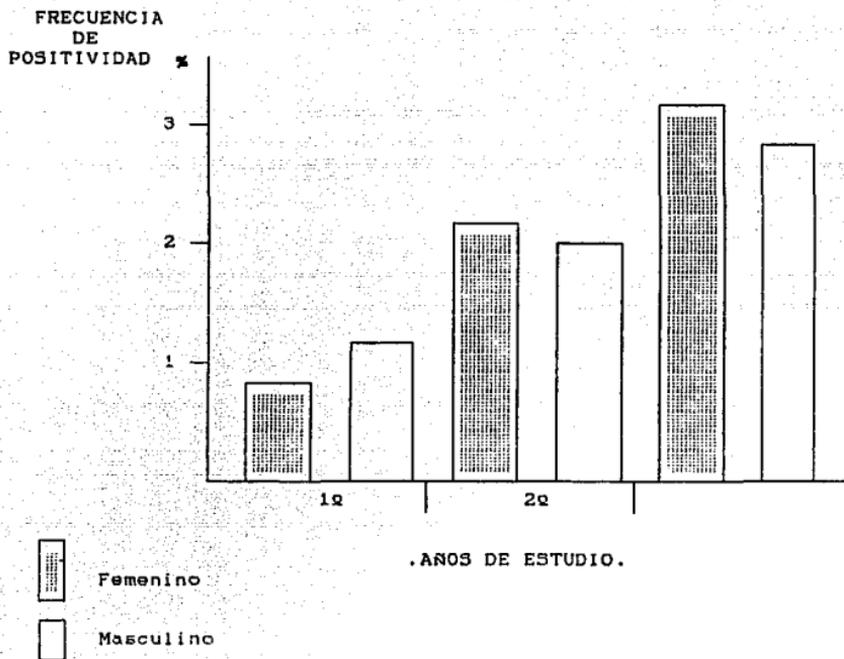


Grafico 2.- TENDENCIA DE LA POSITIVIDAD EN FUNCION AL SEXO.

Se puede observar en el grafico un aumento de la positividad al HBsAg para ambos sexos pero en el caso del femenino la magnitud es mayor.

de incidencia igual a 252 por 10,000 donadores. como puede ser visto (en la tabla 7), 11 casos positivos correspondieron a un grupo de 349 donadores del sexo femenino lo que da un porcentaje del 3.05 siendo este mayor que el reportado para los varones en los que 72 muestra positivas de un total de 2,929 dan un 2.45 % . En la misma tabla podemos apreciar que la positividad más grande correspondió a los varones entre los 48 y 57 años con el 6.01 % del total, para esta misma edad pero del sexo femenino el porcentaje es de 5.26 . En lo referente a la década de 58 a 67 años, los resultados no son muy significativos dado que solo en total tenemos 21 donadores en la misma (graf 3).

Por lo que toca al grupo sanguíneo, y sin ser considerado al factor Rh el mayor porcentaje correspondió a hombres del grupo " B " con un valor de 5.3 y 3.12 % para el sexo femenino, en el grupo " AB " de 43 sueros, solo 2 resultaron positivos dando un por ciento de 4.65, para el sexo femenino (del grupo "AB"), ninguna fue positivas de 10 analizadas.

En lo que hace al grupo " O " el porcentaje para las mujeres fue de 3.08 y en los varones de 2.48, notándose la inversión a comparación con los grupos " B " y " AB ". Para el grupo " A ", en donde obtuvimos 3.29 % de positividad para las mujeres y 1.30 % en los varones (tabla 8; graf 4).

Al dividir a nuestros donadores tomando en cuenta el factor Rh, para el ultimo año de estudio, del total (3291) muestras, 3173 fueron Rh positivo de ellas 80 positivas a la detección del HBsAg con un 2.52 % de frecuencia. para el Rh negativo, de 118

Tabla 7. DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA Y FRECUENCIA AL HBsAg EN DONADORES* POR DIFERENTES EDADES Y SEXOS

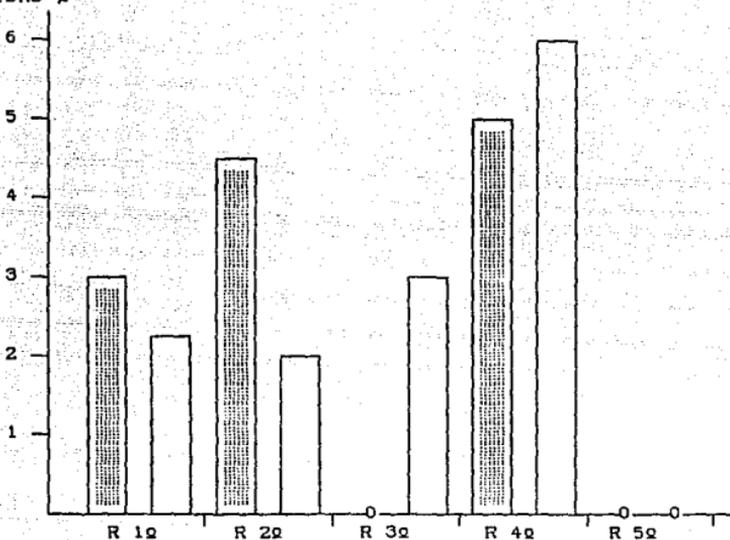
Rango de Edades en Años	Negativos	Positivos	Frecuencia	Inciden- cia por 10,000 D	Total
	Fem;Mas	Fem;Mas	Fem ;Mas	Fem ;Mas	
18- 27	125;1313	4 ;30	3.1;2.2	310;220	129;1343
28- 37	126;1000	6 ; 21	4.5;2.0	454;200	132;1021
38- 47	79; 401	0 ; 13	0.0;3.1	0.0;310	79; 414
48- 57	18; 125	1 ; 8	5.3;6.0	530;601	19; 133
58- 67	1; 20	0 ; 0	0.0;0.0	000;000	1; 20
Total	349;2859	11 ; 72	3.0;2.4	305;245	360;2931

* De Noviembre 1989 a Octubre 1990.

Fem = Sexo Femenino

Mas = Sexo Masculino

POSITIVIDAD
DE
POSITIVIDAD %



RANGOS DE EDAD



Femenino



Masculino

R 1a = Primer rango ; 18 - 27 años
 R 2a = Segundo " ; 28 - 37 "
 R 3a = Tercer " ; 38 - 47 "
 R 4a = Cuarto " ; 48 - 57 "
 R 5a = Quinto " ; 58 - 67 "

Grafico 3.- FRECUENCIA DE POSITIVIDAD AL HbSAg EN DONADORES
 POR SEXO Y RANGO DE EDAD.

Se puede notar un porcentaje mayor de positividad para el 4a rango de edad y en este caso es mayor para el sexo masculino.

Tabla 8. REACTIVIDAD DE DONADORES* AL HBsAg EN RELACIÓN A LOS GRUPOS SANGUÍNEOS

Grupos sanguíneos	Negativos Fem;Mas	Positivos Fem;Mas	Frecuencia en % Fem;Mas	Inciden- cia por 10,000 D Fem;Mas	Total
" A "	88;683	3 ; 9	3.3;1.3	330;130	91 ;692
" B "	31;214	1 ; 12	3.1;5.3	312;530	32 ;226
" AB "	10; 41	0 ; 2	0.0;4.6	000;465	10 ; 43
" O "	220;1921	7 ; 49	3.0;2.4	308;248	227;1973
Totales	349;2859	11 ; 72	3.0;2.4	305;245	360;2931

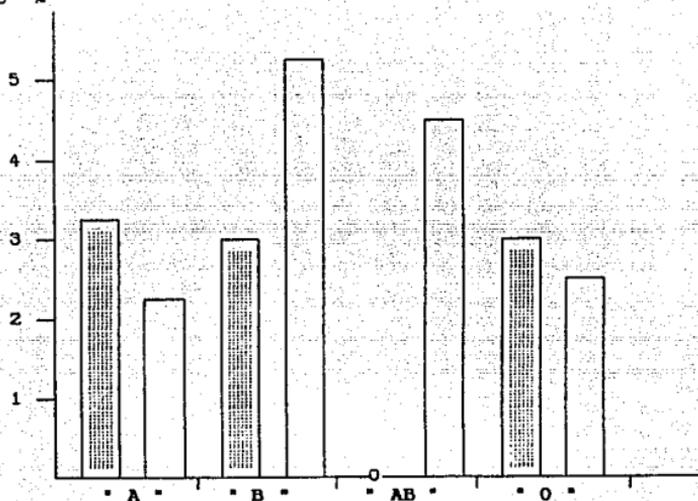
*De Noviembre 1989 a Octubre 90.

Fem = Sexo Femenino

Mas =Sexo Masculino

D = Donadores

FRECUENCIA
DE
POSITIVIDAD %



. GRUPOS SANGUINEOS .



Femenino



Masculino

Gráfico 4.- FRECUENCIA DE POSITIVIDAD AL HBsAg EN
DONADORES DE SANGRE POR GRUPO SANGUINEO.

En este gráfico, podemos observar el gran porcentaje de positividad para el grupo " B " del sexo masculino, de la misma manera resulta notorio el mismo dato pero para el grupo " AB ".

sueros 3 dieron detección positiva con un valor de 2.54 %.

-ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Como podemos observar en los resultados anteriores, hasta el año de 1990 Octubre, la tendencia de la positividad del HBsAg es ascendente, la población que muestreamos es abierta, las personas se presenta como posible donador de sangre porque se creen sanas (o en buen estado de salud), pero la alta tasa de incidencia y la frecuencia obtenida (tabla 7) nos indica lo contrario y muestra la importancia de nuestro trabajo de tesis. El Hospital en estudio es de tercer nivel (de especialidad), esto quiere decir que en el mismo se admiten a pacientes asegurados de cualquier punto de la república, pero principalmente se trabaja para lo habitantes de la zona aledaña del D.F. y por ello los donadores en su mayoría provienen de la misma, dadas las condiciones precarias de sanidad, el valor obtenido en nuestro trabajo no es del todo irreal .(gráfico 1).

Como podemos observar en la tabla 8 y gráfico 2, la frecuencia mayor es la reportada para el sexo femenino y su tendencia es más ascendente que la masculina. Esto es comprensible si tomamos en cuenta que el contacto con familiares que padezcan la enfermedad es una vía de transmisión, además la mujer es la enfermera sin protección del hogar y la relación sexual hombre mujer es buena forma de transmisión del H.B.V.

Para el tercer año de estudio y definiendo para este la importancia del sexo conjuntamente con la edad del donador, podemos observar en la tabla 7 , gráfico 3 . Que el curso de la frecuencia es hacia el incremento conforme la edad del donador aumenta, y que de igual manera es más notorio para el sexo femenino. Podemos apreciar que el rango con mayor importancia es de los 48 a 57 años. Lo anterior se antoja normal cuando tomamos en cuenta que la edad no es otra cosa más que el tiempo de exposición a la infección y que conforme esta transcurre, aumenta el riesgo de sufrir el daño . en lo que respecta a el sexo ya comentamos el análisis. (tabla 9 , gráfico 3).

Por lo que hace a los grupos sanguíneos la tabla 10 y gráfico 4, ilustran uno valores importantes para el grupo sanguíneo " B " y de este el sexo masculino el más afectado. En orden de importancia el que le sigue es el grupo " AB " con una frecuencia significativa para los hombres. Para el sexo femenino del grupo " A " los resultados son significativos tanto como los obtenidos para el grupo " O " en el mismo sexo. Estos resultados no quieren decir que exista una susceptibilidad del grupo de sangre " B " o " AB " para el ataque del HBV, lo que si debe de entenderse es que todos los grupos tienen la misma posibilidad a ser infectados solo que la baja cantidad de personas de dichos grupos (en la población de todo México) hacen que estos se miren como no esperados. Para el factor Rh negativo, esperaríamos un valor bajo pero el obtenido que parece alto, se puede explicar igual que lo anterior.

-CONCLUSIONES.

- De 1987 a 1990, se da un incremento de la frecuencia e incidencia a la detección del HBsAg en donadores de sangre del H.T.O.L.V.

- Hasta 1990 se encontró una incidencia acumulada de 211 por 10,000 donadores y una frecuencia del 2.11 %.

- El sexo femenino es el más susceptible aparentemente a resultar positivo al efectuarse la detección del HBsAg del H.B.V.

- La positividad al antígeno de superficie del H.B.V. parece aumentar conforme a la edad de los donadores.

- La prueba de E.L.I.S.A. resulto ser muy apropiado para la detección del HBsAg, por su fácil manejo, acoplamiento en el laboratorio y alta sensibilidad.

- El grupo de sangre tipo " B " al parecer es el más susceptible a ser positivo en la detección del HBsAg.

- La transmisión del H.B.V. postransfusional esta disminuyendo gracias a que ahora se realiza la detección de sus marcadores en los donadores de sangre.

- BIBLIOGRAFÍA.

1.- Anteproyecto de plan de vacunación a médicos residentes del primer año para la prevención de la hepatitis " B " en siete hospitales de la S.S.A. en el Distrito Federal. Editado por S.S.A. México 1991.

2.- AYALA JUAN JACOBO ., Frecuencia de marcadores de la hepatitis " B " en pacientes hemofílicos., Rev. Med. IMSS, vol 2, # 6, 1985, p. 481-486.2.- WATERSON ANTONY.,

3.- BARRIGA ANGULO., Exposición ocupacional de la Hepatitis viral tipo " B " en un centro médico., Rev. Med. IMSS., vol 22, 1984, p. 160

4.- BLUMBERG, SUTNICK, LONDER and WILLAMON., Prospect., Virol 7, 1971, p. 223-240.

5.- B.K. RAWAL, SPARIDA, Symptomatic reactivation of Hepatitis " B " in pregnancy., The Lancet. vol 337, Feb 9 , 1991, p. 364

6.- BUSTAMANTE CALVILLO., Frecuencia del Antígeno de Australia en una población hospitalaria ., Rev, Mex, Pediatr. # 41, 1972, p. 623.

7.- BUSTAMANTE CALVILLO M.E., RUIZ GOMEZ J., Encuesta serológica en niños de la ciudad de México.X. frecuencia de Antígeno Australia en una población hospitalaria., Rev. Med. Pediatr, vol 41, 1972, p. 623.

8.- BUSTAMANTE CALVILLO ELENA., TERESA ALVARES MUNOZ., ONOFRE MUNOZ., Epidemiologia, vol 2, Mayo # 5, 1987, p. 49-55.

9.- CARRERE MARINA ., Encausse les hepatites savoir les eviter., Sante Magazine, 1991, p. 64-68.

10.- CHOOQUI LIM , KUOG., Isolation of c-DNA clone derived from a blood - borne No A - No B, viral Hepatitis genome., Science. vol 244, 1989, p. 359.

11.- C.L. GITNICK, Hepatitis modern clinical concepts., continuing education in medicine.

12.- CONRAD M.E., Viral Hepatitis and other Infectious disorders., Sem. Hematol., vol 18, # 2, 1981, p. 122-143.

13.- DAMARIUS., Medicina Interna., Ed. Mariu, vol 1, 1975, p. 1245-1275.

14.- DANE D.S., CAMERON CH., BRIGGS M., Virus - Like particles in serum of patients with Australia-Antigen-Associated Hepatitis., The Lancet, April 4, 1970, p. 695-698.

15.- DICK S.J., TAMBORRO CH., Hepatitis " B " antigen in urban caught. Mosquitoes., JAMA, vol 229, 1974, p. 1627.

- 16.- D.I. HOAR., T. BOWEN., D. MATHERSON., and M.C. POON., Hepatitis " B " virus DNA is enriched in polymorphonuclear leukocytes., Blood, vol 66, # 6, dec 1985, p.1251-1253.
- 17.- DON GANEN and HAROLD E. VARMUS., The molecular biology of the Hepatitis " B " virus., Ann. Rev. Biochem, # 56, 1987, p. 651-693.
- 18.- DUPUY J.M., FROMMELD., Severe viral Hepatitis type " B " in infantes., The Lancet, January 25, 1975, p. 191-194.
- 19.- EDITORIAL., The A to F of viral Hepatitis ., The Lancet, vol 336, Nov 10, 1990, p. 1158-1160.
- 20.- EDITORIAL., Hepatitis B crónica., Infectologia , año 10, # 10, Oct 1990, p. 565-567.
- 21.- EUROPA ASSOCIATION of the LIVER., The A to F of viral Hepatitis., The Lancet, Nov 10, 1990, p. 1158-1160.
- 22.- FERRARI CARLO ., AMALIA PENNA Y ANTONI BERTOLETTI., Cellular Immune response to Hepatitis " B " virus - Encoded antigen in acute and chronic Hepatitis " B " virus Infection., J. of Immunology. vol 145, Nov 15, # 10, 1990, p. 3442- 3449.
- 23.- GARCÍA BUENO M.J., G.A. MARTÍNEZ NÚÑEZ., Hepatitis postransfusional un serio problema., The Lancet, vol 337, Feb 9,

1991, p. 379.

24.- GOLDFIELD M., BILL J., The control of transfusion associate Hepatitis antigen In ., Fromklin Institute Press., 1978, p. 405-414.

25.- HANS J.SCHLICHT., JOCHEN SALFELD., HEINZ SCHALLER., The duck Hepatitis " B " virus PRE-C region encodes a signal sequence which is essential for synthesis and secretion of processed core proteins but. not for virus formation., J. Virol, vol 61, # 12, dec 1987, p. 3701-3709.

26.- HURTADO M.R., BORBOLLA J.R., Hepatitis " B " carrier rate in family program of blood donation in México., Rev. Inves. Clin.,

27.- INFORME DE LA REUNIÓN SOBRE PROGRAMAS DE VACUNACIÓN CONTRA LA HEPATITIS TIPO " B " EN LAS AMÉRICAS., Marzo 15., 1991.

28.- JAY H., HOOFNAGLE M.D., Posttransfusion Hepatitis " B "., Transfusión, vol 30, junio # 5, 1990, p. 384-386.

29.- J. DROURET., N.LE MARREC., Blood donors positive for HBsAg and negative for anti-HBc antibody., Vox Sang, # 49, 1985, p. 26-33

30.- JIN TOWN WANG., TEH-HONG WANG., Detection of Hepatitis " B " virus DNA by polymerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for Hepatitis " B " surface antigen., The Journal

of infecto Diseases, vol 163, Feb 1991, p. 397-399.

31.- J. WAI-KUO SHIH and JOHN L. GERIN., Immunochemistry of Hepatitis " B " surface antigen (HBsAg).. The Journal of Immunology ., vol 115, 3 Sep, 1975, p. 634-639.

32.- KERSHENOBICH DAVID., RAFAEL HURTADO., Seroprevalencia de marcadores del virus de Hepatitis " B " en profesionales de la salud., Rev. Invest. Clin, vol 42, # 4 Oct-Dec, 1990 p. 251-256.

33.- KEIJI VEDA., TOSHIKI TSURIMOTO., Thee envelope proteins of Hepatitis " B " virus : Larg S , Middle S , and Mayor S . , The Journal of virology, July, 1991, p. 3521-3529.

34.- KINGSLEY L.A., RINALDO C.R., Sexual transmission efficiency virus among homosexua men., JAMA., vol 264, # 2, Jul, 1990, p. 230-234.

35.- KRUGMANS., GOCKE DAVID A., Hepatitis viral ., Ed Interamericana, 1979, p. 1-30.

36.- LANDA L., Seroepidemiología de la Hepatitis " B "., Gac. Med. Mex., vol 111, 1976, p. 85.

37.- LEHNE CARLOS , JOSÉ A. MOLLINEDO., Hepatitis en los pacientes de transplante renal., Rev. Med. IMSS. vol 2, # 1, 1985, p. 43-48.

- 38.- LIA KWEE., ROBERT LUCITO., Alternate translation on Hepatitis " B " virus X mRNA produces multiple polypeptides that differentially transactivate class II y III promoters ., Journal of Virology, vol 66, # 7, July, 1992, p. 4382-4389.
- 39.- LISKER MELMEN MAURICIO ., Marcadores serológicos de las hepatitis virales., Rev. Invest. # 42 suplemento, 1990, p. 3-9.
- 40.- LOM ORTA HORACIO., FRANCISCO RAMOS NIEMBRO., Nomenclatura actual de Hepatitis ., Rev. Med. IMSS., # 29, 1991, p. 1-3.
- 41.- MARIN LÓPEZ EDUARDO ., MARÍA DE LA TORRE., Características clínicas de las Hepatitis crónicas., Rev. Invest. Clín., vol 42, 1990, p. 10-16.
- 42.- MENDOZA BECERRIL IGNACIO., JUAN JACOBO A. GAYTAN., Hepatitis viral " B ": exposición ocupacional en personal de un hospital de tercer nivel ., Rev. Med. IMSS., vol 23, # 1, 1985,
- 43.- MILICH C., A. PENNA., A. BERTOLETTI., Antibody production to the nucleocapsid and envelope of the Hepatitis " B " virus primed by a single synthetic T cell site., Nature, vol 329, 1987, p. 547.
- 44.- MILICH DAVID R., JOYCE E. JONES., Importance of subtype in the response to PRE-S (2) region of the Hepatitis " B " surface antigen., The J. of Immunology, vol 144, # 9, may 1, 1990, p. 3544-

3551.

45.- MORIATY A.M., ALEXANDER R.A., Hepatitis " B " protein X.,
Science, vol 227, 1985, p. 429-433.

46.- NASSAC MICHAEL., The Arginine-rich domain of the Hepatitis " B " virus core protein is required for pregenome encapsidation y productive viral positive strand DNA synthesis but not for virus assembly., J. of Virology, vol 66, # 7, July, 1992, p. 4107-4116.

47.- NEIL S. SILVERMAN., M.D; MARILYN J. DARBY., Hepatitis " B " prevalence in an Unregistered prenatal population., JAMA , vol 226, # 20, Nov 27. 1991, p. 2852-2855.

48.- PIERRE TIOLLAIS., CHISTINE POUCEL & ANNE DEJEAN., The Hepatitis " B " virus., Nature, vol 317, Oct 10, 1985, p. 489-495.

49.- PIËT M.P.J., S. CHIN., A.M. PRINCE., The use of tri (n-butyl) phosphate detergent mixtures to inactivate Hepatitis viruses an human Immunodeficiency virus in plasma and plasma's subsequent fractionation., Transfusión , vol 30, # 7, 1990, p. 591-598.

50.- PRINCE A.M., METSELAAR D., Hepatitis " B " antigen in wild caught mosquitoes in Africa., The Lancet, Agost 5, 1972, p. 247-250.

- 51.- REDEKER A.G., Viral Hepatitis clinical aspects ., Am. J. Med.Sci.,vol 270, 1975, p. 9.
- 52.- RIZZETO M., Immunofluorescence detection of new antigen antibody system (delta/anti-delta) associated whit. Hepatitis " B " vhr~P, and TARRY I., The virus of hepatitis type " B " ., The New England of Medicine, Nov 18, 1976, p. 1168-1175.
- 53.- TALAVERA MARÍA DE LOS ÁNGELES., RITA DÍAZ RAMOS., Hepatitis " B " en el embarazo., Infectología, año 8, # 2, Febrero, 1988, p. 101-109.
- 54.- VALDESPINO JOSÉ LUIS., Epidemiología de las hepatitis virales en México., Epidemiología, vol 19, Marzo, 1991, 9-11.
- 55.- VALDOVINOS DÍAZ Ma., PAEZ RODRÍGUEZ O., Interpretación clínica de los antígenos y anticuerpos en el suero., Rev. Gastroenteral, México, vol 50, 1985, p. 227.
- 56.- VOLKER BRUSS and DON GANEM., Mutational Analysis of Hepatitis " B " surface antigen particles assembly and secretion., J. Virology, vol 65, # 7, July 1991, p. 3813-3820.
- 57.- WATERSON ANTONI., The mystery of Australian Antigen., New Scientist, Nov 1976., p. 470-471.

58.- W.F. CARMAN ., M.R. JACYNA., Mutation preventing formation of Hepatitis " B " antigen " e " in patients with chronic Hepatitis " B " Infection. The Lancet, Sep 9, 1989, p. 588-590.

59.- W. SZMUNESS., R.L. HIRSCH., A.M. PRINCE., Hepatitis " B " surface antigen in Blood donors: Future observation ., The J. Infections Diseases, vol 131, # 2, Feb 1975, p. 111-118.

60.- YASUHIKO TSUTSUMI., SHINICH KAKUMU ., In vitro production of antibody to Hepatitis " B " core and " e " antigens by peripheral blood mononuclear cell in patients with chronic Hepatitis " B " virus Infection. The J. of Immunology, vol 144, # 6, March 15 1990, p. 2389-2393.