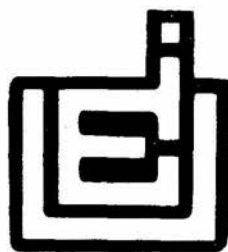




**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

CAMPUS IZTACALA



400282  61060

**SEROEPIDEMIOLOGIA DE HEPATITIS " B " EN  
MADRES GESTANTES DEL VALLE DE MEXICO**

*B01222/96*  
*Ej. 2*

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

MARTIN GONZALEZ ROMERO

AVENIDA DE LOS BARRIOS S/N, LOS REYES IZTACALA EDO. MEX. 1995

**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 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.

## SINODALES DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

- M. EN C. RAFAEL JIMENEZ FLORES.**  
**BIOL. DAVID GONZALEZ PANTALEON.**  
**M. EN C. MARTHA O. SALCEDO ALVAREZ.**  
**M. EN C. LETICIA MORENO FIERROS**  
**Q.B.P. MARIA TERESA ALVAREZ Y MUÑOZ**

## SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TRABAJO

**Centro Medico Nacional Siglo XXI. Unidad de Investigación Médica de Enfermedades  
Infecciosas y Parasitarias. Sección de Virología. I.M.S.S.**

**ASESOR: Q.B.P. MARIA TERESA ALVAREZ Y MUÑOZ.**  
**SUSTENTANTE MARTIN GONZALEZ ROMERO.**

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Universidad Nacional Autónoma de México  
por el hecho de permitirme estudiar y formarme en sus  
aulas.

Al Campus - Iztacala (Facultad de Biología), por  
haberme brindado la oportunidad de iniciar y conducir mi  
carrera como profesionalista.

Al Centro Médico Nacional Siglo XXI. Unidad  
de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y  
Parasitarias. Laboratorio de Virología, por llevar a cabo  
la realización y desarrollo de Tesis.

D.B.P. MARSA TERESA ALVAREZ Y MUÑOZ  
Jefe del Laboratorio de Virología.  
Unidad de Investigación Médica de Enfermedades  
Infecciosas y Parasitarias. I.M.S.S. Por la confianza e  
integración al presente trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres por su apoyo, ayuda, comprensión y confianza; durante mi formación académica.

A mis hermanos: Carlos, Guillermo, Gabriel, Laura y Eduardo por su apoyo.

A la memoria de mis Abuelos.

A mi esposa Catalina por su comprensión, apoyo y participación.

A mis Familiares, Tios, Primos, Sobrinos y a todos las personas que participaron directa e indirectamente en mi formación como profesionista.

## INDICE

	Pagina
Introducción.....	1
Antecedentes.....	4
Objetivo - Justificación.....	19
Material y Métodos.....	20
Resultados.....	29
Discusión.....	39
Conclusiones.....	42
Bibliografía.....	44

## **INTRODUCCION**

La hepatitis viral constituye un problema de Salud Pública en el mundo.

El término "Hepatitis Viral", se aplica a la infección de hígado que es causada principalmente por los virus de la Hepatitis A, B, C, D y E entre otros (1).

### **HEPATITIS VIRAL TIPO B**

El virus de la hepatitis B (HVB) pertenece a la familia Hepadnaviridae. Es un virus esférico con DNA de doble cadena circular en forma incompleta, con cuatro marcos de lectura que se superponen (Genes: S, C, P, y X), que codifican para cinco proteínas: antígeno de superficie (HBsAg), antígeno core (HBcAg), antígeno "e" (HBeAg), DNA polimerasa y una proteína X de función no establecida (2).

Un aspecto relevante en la epidemiología del virus de la hepatitis B es la existencia de portadores asintomáticos, pues mantienen la infección en la población o en subgrupos especiales (3). Se estima que en el mundo existen actualmente un total de 300 millones de personas portadoras del virus (HVB) (4).

Existen diferentes factores de riesgo para contraer la infección por el virus B, como son: el uso de drogas intravenosas, el contacto con personas portadoras del virus, la historia de hepatitis aguda y el contagio post-transfusional (5).

Se conoce que este virus se transmite por vía horizontal y vertical, de madres infectadas a sus infantes y de éstos a otros miembros de la familia (6).

La realización de pruebas prenatales específicas, como la determinación de marcadores serológicos del virus en toda mujer gestante permitirá identificar mujeres portadoras sanas de los antígenos virales (HBsAg y/o HBeAg y DNA viral), y determinar el riesgo que esto implica, ya que estas serán infecciosas, por lo que sus productos deberán seguir un tratamiento de inmunoprofilaxis mediante la aplicación de la vacuna específica (7).

En México Landa L. (8) al estudiar marcadores para HVB en una muestra de población abierta con 19 249 sueros, se encontró una prevalencia de portadores sanos del antígeno de superficie (HBsAg) del 0.29 % y de anticuerpos (anti-HBs) del 6.38 %; Barriga y col. identificaron 1.5 % de portadores en una muestra de 914 sueros para HBsAg, en personas adultas de la Ciudad de México (9).



Alvarez-Muñoz M.T. y cols. (10), en un estudio realizado en la frontera Sur de México (Chiapas), encontraron una prevalencia de anticuerpos anti-core (anti-HBc) del 91 %, el antígeno de superficie (HBsAg) se presentó en un 40 % en comunidades mexicanas y en el 17.3 % en campamentos guatemaltecos, el estudio abarcó un total de 1009 sueros.

También se ha descrito una prevalencia elevada de portadores crónicos de HBsAg en países de Asia y África con 12 % en adultos de Senegal y Etiopía (11).

En Indonesia Brown P. y cols. encontraron una prevalencia de anticuerpos para HVB del 38 % (anti-HBs y anti-HBc), el estudio abarcó 315 sueros pertenecientes a personas de diferentes edades y localización geográfica (12).

## **ANTECEDENTES**

### **Virus de la hepatitis B (HVB)**

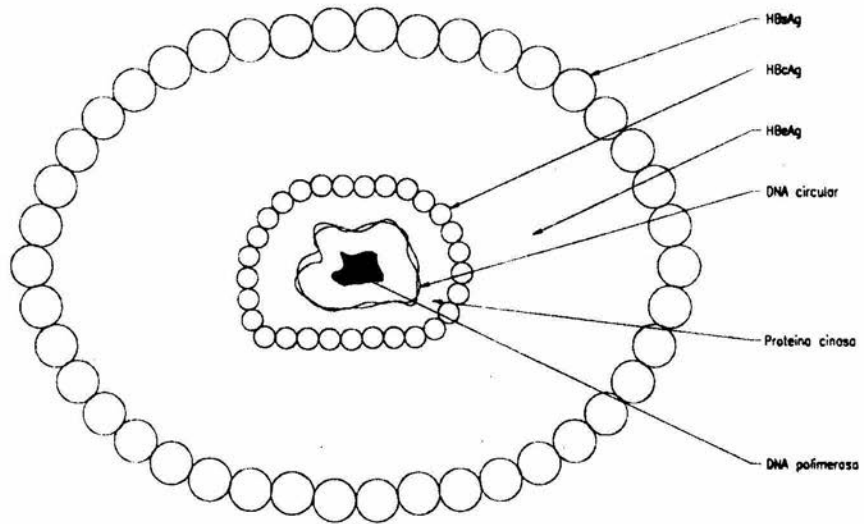
De la población mundial de 5 billones de individuos, 3.5 billones viven en áreas donde la endemicidad del virus de la hepatitis B es moderada o alta (2 % de portadores crónicos de HVB), y más de 122 millones de productos nacen cada año con riesgo substancial de convertirse en portadores crónicos y de los cuales mueren aproximadamente 1.3 millones a causa de secuelas de la infección (13).

El aislamiento de la partícula Dane (HVB), se realizó desde 1970, conociéndose en la actualidad como virus de la hepatitis B, el cual pertenece a la familia Hepadnaviridae. Es un virus esférico con DNA de doble cadena circular en forma incompleta, con cuatro marcos de lectura que se superponen (Genes: S, C, P, y X), que codifican para cinco proteínas: antígeno de superficie (HBsAg), antígeno "e" (HBeAg), antígeno core (HBcAg), DNA polimerasa y una proteína X de función no establecida, Figura 1.

El ácido nucleico del virus esta formado por una molécula de DNA circular, pequeña y parcialmente de doble hélice. La cadena más larga L (-), tiene una longitud de aproximadamente 3200 nucleótidos, mientras que la cadena corta S (+), tiene una longitud variable pudiendo ser hasta 50 % más corta que la L (-). El traslapamiento de los extremos 5' de ambas cadenas hace posible el mantenimiento de la forma circular del genoma. En todos los Hepadnavirus podemos encontrar una secuencia que se repite DR1, DR2 y que muy probablemente implica una función biológica determinada (14, 15).

Sobre la cadena L (-) se han identificado cuatro "regiones de transcripción" (Open Reading Frames, ORF), que representan genes potenciales.

Virus de la hepatitis B (HVB)  
Particula Dane



9

FIGURA No. 1

Esta pequeña molécula de DNA es capaz de codificar varias proteínas debido al importante traslapamiento que existe entre los distintos ORF. La totalidad del genoma que codifica a Pre-S1, Pre-S2 y al gen S, se traslapa con la región P, que a su vez traslapa parcialmente a la región X y al gen C.

### **Región env**

Es la región que codifica la envoltura del virus, aquí se localiza el gen S, que codifica al antígeno de superficie (HBsAg), anteriormente conocido como antígeno Australia, con un total de 226 aminoácidos y un peso molecular aproximado de 25 300. Esta proteína recibe el nombre de "proteína mayor", denominada así no por ser la más grande de las proteínas codificadas por esta región (de hecho es la más pequeña), sino por encontrarse en mayor concentración en la partícula viral.

El gen Pre-S2, codifica un pequeño polipéptido de solo 55 aminoácidos, tiene una utilidad como marcador de diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, además de tener propiedad de

aumentar la respuesta inmunológica hacia el virus, propiedad que comparte con Pre-S1. La lectura del gen Pre-S2 va seguida de la del gen S, codificándose la "proteína mediana". Finalmente, la "proteína larga" que se forma por la lectura de los genes Pre-S1, Pre-S2 y S.

**Falta página**

**N° 8**

### **Región P**

Es la región más larga de todas, traslapando completamente a Pre-S1, Pre-S2 y S, y parcialmente a C y a la región X. Codifica la DNA polimerasa endógena, proteína de 832 aminoácidos, un análisis de la secuencia de esos aminoácidos a puesto en evidencia algunas curiosas homologías con la secuencia de la transcriptasa inversa de varios retrovirus oncógenos.

### **Región X**

Codifica una proteína de 145 a 154 aminoácidos, el polipéptido X posee propiedades transactivadoras de la transcripción, que regulan positivamente promotores del HVB, de otros virus y del genoma celular. Se ha postulado que su disfunción podría estar involucrada en la genesis del hepato-carcinoma celular.

### Cuadro Clínico

En el mundo se producen al año varios millones de infecciones por el virus de la hepatitis B, la mayoría de estos casos (75 % a 90 %) serán infecciones subclínicas.

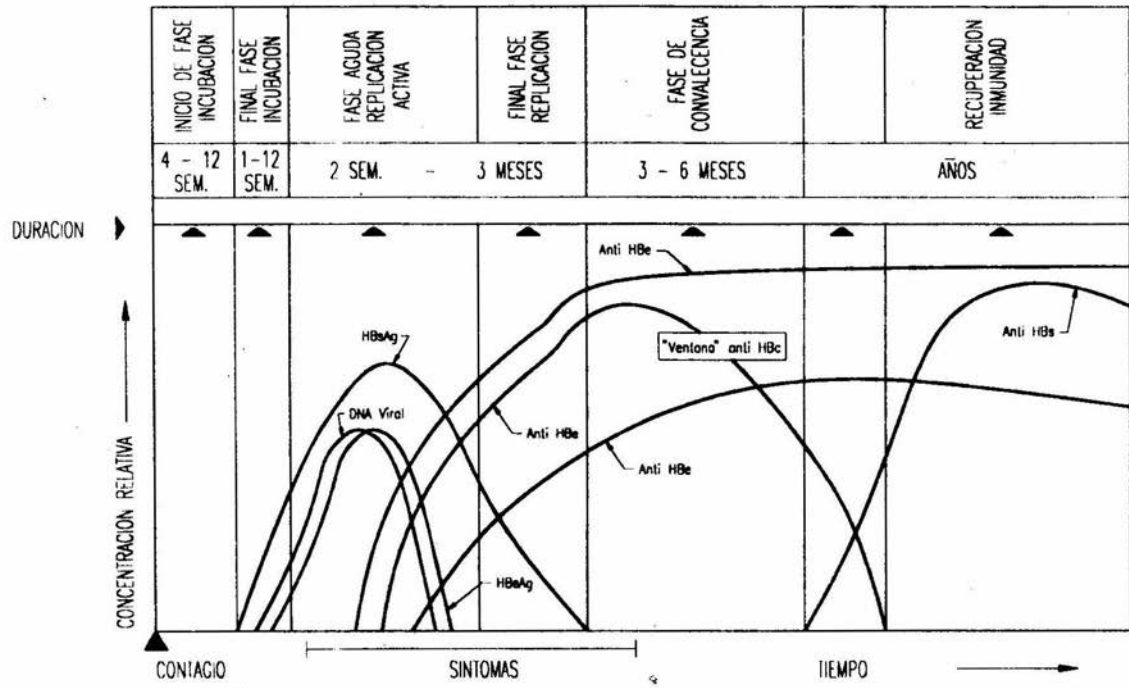
El cuadro clínico al cual da origen es variable y va desde la forma subclínica con solo alteración de las transaminasas, hasta el cuadro agudo caracterizado por ictericia y en menos de 1.5 % por una hepatitis fulminante. De un 2-10 % del total de los infectados evolucionan a estado de portadores crónicos, con el consecuente riesgo de desarrollar cirrosis y carcinoma primario hepático.

Ante un cuadro clínico de hepatitis, el diagnóstico etiológico esta basado en la determinación de diferentes marcadores presentes en el suero del paciente. El antígeno de superficie aparece durante el período de incubación y desaparece al final del período agudo de la enfermedad. Los anticuerpos contra el HBsAg (anti-HBs) son detectados al disminuir el HBsAg y se consideran neutralizantes del virus, relacionándose con la resolución de la infección. Los anticuerpos contra el HBcAg (anti-HBc) aparecen tempranamente durante la fase aguda, desapareciendo los de la clase IgM al final del período de convalecencia y la clase IgG se mantiene durante toda la vida.



Otro marcador es el antígeno "e" (HBeAg), el cual es considerado como un indicador de replicación viral y su presencia en el cuerpo indica una alta posibilidad de transmisión del virus. La aparición de los anticuerpos correspondientes (anti-HBe) coincide con la desaparición del HBeAg, Figura 2 (16).

FIGURA No. 2  
CUADRO CLINICO



PERFIL SEROLOGICO DEL 75 % - 80 % DE LOS PACIENTES CON HEPATITIS B AGUDA

## **EPIDEMIOLOGIA**

Se sabe que alrededor de 300 millones de personas en el mundo son portadoras del virus de la hepatitis B (HVB), y aproximadamente un 40 % de ellos adquieren el virus como resultado de la transmisión perinatal y un 35-40 % son infectados durante la edad preescolar. El HVB es adquirido durante la edad adulta en únicamente 10-15 % de los portadores crónicos (17). Las personas con una infección crónica juegan un papel crucial en la epidemiología del virus, por dos razones: 1) Tienen el riesgo de complicación crónica, incluyendo hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepato celular primario (CHP). 2) Sirven como una fuente de infección para otros individuos (18).

Existen diferentes factores de riesgo para contraer la infección del virus HVB como son: el uso de drogas intravenosas, el contacto con personas portadoras del virus, la historia de hepatitis aguda y el contagio post-transfuncional. Se conoce además que el virus se transmite por vía horizontal y vertical, de madres infectadas a sus infantes y de estos a otros miembros de la familia.

La transmisión perinatal (transmisión vertical) de HVB ocurre en un 10-15 % de los niños nacidos de madres que se encuentran agudamente infectadas con el virus al momento del nacimiento o cuando son portadoras crónicas del antígeno de superficie del virus, este porcentaje de transmisión se incrementa en un 100 % en los hijos de madres con antígeno "e" positivo (HBeAg), y que además presentan positividad para el HBsAg. La transmisión de madres a hijos se realiza probablemente durante el periodo del parto, mediante la aspiración de secreciones vaginales, sangre materna o líquido amniótico infectado, sin embargo, se ha encontrado la presencia de HBsAg en calostro materno lo que apoya una transmisión perinatal (19, 20, 21).

La frecuencia de portadores asintomáticos del HBsAg del virus HVB varía en diferentes poblaciones, desde 0.1 a 0.5 % en Estados Unidos de América y Europa, hasta 10 a 15 % en algunos países del Asia y África. La prevalencia en México por estudios seroepidemiológicos es de aproximadamente 5 a 6 % (22).

Los métodos de transmisión varían geográficamente y están generalmente relacionados con la incidencia de infección. En áreas de incidencia alta de HVB, la transmisión es usualmente de forma vertical de madre a hijo u horizontal dentro de la familia. En áreas de prevalencia intermedia esta se difunde horizontalmente, y la infección ocurre en la infancia, adolescencia y en el estado adulto. En áreas de baja prevalencia, el virus HVB es primeramente una enfermedad de adolescentes y adultos jóvenes y se transmite sexual o parenteralmente (23).

Los trabajos de Tong M.J. y col. (24), y Stevens C.E. y col. (25), indican que la mujer que presenta hepatitis B aguda durante el primero y segundo trimestre del embarazo raramente transmite el HVB a sus hijos, en contraste, cuando la infección aguda ocurre durante el tercer trimestre, el riesgo para el infante puede ser substancial. El riesgo de una infección neonatal por el virus de la hepatitis B, bajo estas circunstancias puede exceder el 50 %.

Lingao A.L.; Torres N.T. y col. (26) en las Filipinas realizaron entre 1981 y 1983 un estudio de seguimiento de transmisión del virus de la hepatitis B de madre a hijo, obteniendo de un total de 527 sueros una prevalencia para el antígeno de superficie del 8.5 %. Siete de 17 infantes nacidos de madres portadoras del HBsAg, llegaron a ser HBsAg positivos dentro de los primeros 12 meses de vida. El estudio epidemiológico llevado a cabo en estas áreas señala que el riesgo de llegar a ser HBsAg se incrementa 20 veces en el infante al nacer de una madre con HBsAg positiva, en comparación con aquel que nace de una madre que presenta un HBsAg negativo. Este riesgo se incrementa en un 91-95 % cuando la madre es portadora del HBeAg (antígeno "e"). Sin embargo, el riesgo de una posible transmisión es menor si la madre presento HBsAg positivo y anticuerpos para el antígeno "e" (anti-HBe). Estos resultados condujeron en las Filipinas a planear campañas de vacunación para prevenir la infección perinatal por HVB.

Es indudable que la infección neonatal, por el virus HVB tiene una importancia fundamental, ya que establece un círculo entre la madre infectante (portadora crónica), y el recién nacido, el cual se convertirá en portador crónico, facilitando además el contagio a otros sujetos de la comunidad. Finalmente, tanto la madre infectante como el producto se convertirán en pacientes crónicos con posibilidad de desarrollar cirrosis hepática, incluso hepato-carcinoma y muerte por insuficiencia hepática (27).

Landa L. en México (8), estudio 19 249 sueros procedentes de ocho diferentes áreas geográficas de la República Mexicana. Todos estos sueros se trabajaron por el método de contrainmuno-electroforesis, para detectar la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis. Los resultados obtenidos de prevalencia para el HBsAg en las 8 diferentes áreas geográficas de la República Mexicana, fueron desde 0.10 - 0.38 %, dando un promedio del 0.29 %; dentro de las zonas de mayor prevalencia se encontraron la costa de: Oaxaca a Nayarit y de Tabasco a Campeche. Se estudio además 1 649 sueros de cuatro áreas diferentes de la Ciudad de México, la frecuencia de anticuerpos contra el antígeno "s" (anti-HBs), fue de 3.91 % a 7.48 %, con un promedio del 6.48 %, siendo el área de Netzahualcoyotl la de mayor porcentaje (7.48 %) y la de menor fue el área de San Angel (3.91 %), el porcentaje fue analizado en base a las condiciones sanitarias de cada área de trabajo. Barriga A. y col.(9) identificaron 1.5 % de portadores de HBsAg en una muestra de población de 914 sueros de personas adultas de la Ciudad de México .

Alvarez-Muñoz M.T. y col.(10), efectuaron un estudio serológico de hepatitis B y Delta en el Sureste de Chiapas, México. El estudio abarco individuos de comunidades mexicanas y campamentos de refugiados guatemaltecos, encontrándose una prevalencia para anticuerpos anti-HBc del 91.1 % en ambas poblaciones; para el antígeno de superficie (HBsAg) se reporta una variación, siendo esta para comunidades mexicanas del 4.2 % y del 17.3 % en campamentos guatemaltecos, identificándose un mayor porcentaje (14 %) en aquéllos casos en que convivían seis o más personas por cuarto, lo contrario cuando habitaba un menor número de personas por cuarto (6.7 %). Respecto a la presencia del antígeno "e" (HBeAg), también existieron diferencias, de 98 sueros positivos para HBeAg, 85 correspondieron a guatemaltecos (35.3 %) y 13 a mexicanos (7.7 %), el estudio abarco un total de 1009 sueros.

## JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

En el mundo aproximadamente 3.5 billones de individuos viven en áreas donde la endemicidad del virus de la hepatitis B es moderada o alta (mayor 2 % de portadores crónicos de HVB) y más de 122 millones de productos nacen cada año con un riesgo substancial de convertirse en portadores crónicos del HVB (11).

Actualmente existen medidas de prevención de importancia capital, como son: el rastreo de marcadores del HVB en mujeres embarazadas y la integración de esquemas de inmunización contra la hepatitis B a los hijos de madres portadoras del virus HVB (15).

En México a pesar de que las hepatitis están consideradas como un problema de Salud Pública (1-5 % de portadores crónicos de HVB), no existen suficientes registros seroepidemiológicos para la planeación e instalación de medidas de salud que lleven a la solución de este problema en grupos de riesgo.



## **OBJETIVO GENERAL**

Dado que la mayor parte de los portadores sanos del virus HVB son infectados por transmisión vertical y que el riesgo de persistencia del virus es inverso a la edad de infección, este trabajo tuvo como objetivo general, el conocer la prevalencia de marcadores serológicos para el virus HVB en una cohorte de madres gestantes del Valle de México (presencia de anticuerpos anti-core, antígeno "s", antígeno "e").

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1° - Determinar en madres gestantes asintomáticas a través de la realización del análisis inmunoenzimático la prevalencia de:

- A) Mujeres embarazadas que presenten anticuerpos para el virus B de la hepatitis (anti-HBc+)
- B) Portadoras sanas del antígeno HBsAg y/o HBeAg del virus HVB

- 2°- Determinar en madres gestantes con HBsAg y/o HBeAg factores de riesgo (edad, número de gesta, condición socio-económica, transfusiones, etc..) para adquirir una infección por HVB
- 3°- Integrar a toda madre gestante sana que resulte positiva a los antígenos virales a un esquema de inmunización para el producto del parto.

### **MATERIAL Y METODOS**

Para llevar a cabo el estudio seroepidemiológico de HVB en una cohorte de madres gestantes sanas (sin cuadro clínico de hepatitis) del Valle de México, se realizó la recolección de una muestra de sangre, tomada en el momento que acudió a la primera consulta prenatal. En los sueros se realizó la determinación de los anticuerpos core (anti-HBc), en los que resultaron positivos para este marcador, se investigaron los marcadores: HBsAg y/o HBeAg, anti-HBs, anti-HBc IgM.

Las áreas hospitalarias involucradas en el estudio fueron : el Instituto Nacional de Perinatología de la S.S.A. (INPer); los Hospitales Generales de Zona del IMSS números: 15, 31, 35, 43 75 y 78 (áreas de Netzahualcoyotl e Iztapalapa).

Las muestras serológicas que se recolectaban en cada hospital eran registradas y transportadas en termos con hielo al laboratorio de Virología de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en donde fueron almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su estudio.

A las madres identificadas como portadoras asintomáticas del virus, es decir que tuvieron la presencia de HBsAg o únicamente de anticuerpos anti-core se les integro al estudio, por lo que fueron visitadas en su domicilio e invitadas a participar en esta investigación mediante una detallada explicación del objetivo de esta, así mismo, se procedió a la toma de una segunda muestra serológica, de tal modo de llevar a cabo la confirmación de la presencia del marcador identificado previamente.

En cada uno de los sueros, se investigo por medio de la técnica de Ensayo Inmuno Enzimático (EIA). (Lab. Abbott, Chicago ILL), los siguientes marcadores: anti-HBc (CORZYME), anti-HBs (AUSAB), HBsAg (AUSZYME MONOCLONAL), HBeAg (HBeAg rDNA), anti-HBc IgM (CORZYME).

## **METODOS INMUNO ENZIMATICOS EMPLEADOS (EIA)**

El alto costo, los riesgos inherentes y la inestabilidad de los reactivos para la RIA estimuló la búsqueda de otros marcadores que pudieran usar con los reactivos serológicos : haptenos, antígenos y anticuerpos (36).

La técnica de ELISA fue descrita casi al mismo tiempo en 1971 por dos equipos de trabajo diferentes, el de Engvall y Perlman en Suecia y el de Van Weemen y Shuurs en Holanda (37).

La ELISA es un inmuno ensayo que permite determinar la concentración de un antígeno o un anticuerpo mediante el uso de uno de ellos en fase sólida y el otro en solución, detectándose la formación del complejo antígeno-anticuerpo mediante un trazador enzimático. Las ventajas que ofrece el analisis inmunoenzimático (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) son: especificidad, sensibilidad, rapidez, economía y seguridad.

La razón por la cual se utilizo la técnica de Ensayo Inmuno Enzimático (EIA), fue por su alta especificidad y sensibilidad (los antígenos y haptenos pueden demostrarse cuando se presentan en cantidades de nanogramos o de picogramos), así como por su inocuidad (no emplea material radioactivo).

**Procedimiento de anti-HBc (CORZYME)**; Se basa en "el principio de competencia".

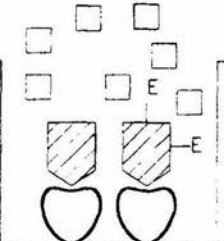
El suero o plasma del paciente es incubado con la esfera recubierta con HBcAg y con el conjugado de peroxidasa (anti-HBc: HRPO). la presencia de anti-HBc en la muestra competira con el conjugado por los sitios antigénicos de unión en la esfera (HBcAg). Posteriormente se agrega el sustrato (OPD- ortofenilediamina), el cual se oxidará por acción de la peroxidasa y se producirá un desarrollo de color, si existe mayor concentración de anti-HBc en la muestra la prueba positiva dará una absorbancia menor.

**Procedimiento de anti-HBs (AUSAB)**; se utiliza "el principio del sandwich". El suero o plasma del paciente (anti-HBs) se incuba con la esfera recubierta con HBsAg, durante la incubación los anticuerpos presentes se unen al antígeno en fase sólida. En una segunda incubación se adiciona el conjugado de: biotina (B-HBsAg) y anti-biotina conjugado con peroxidasa (anti-B: HRPO), que se unen al complejo (Ag-Ac) en la superficie de la esfera. Se agrega el sustrato (OPD- ortofenilediamina), el cual se oxidará por acción de la peroxidasa y se producirá un desarrollo de color proporcional a la cantidad de anti-HBs presente en la muestra.

a)  ESFERA RECUBIERTA CON HBcAg

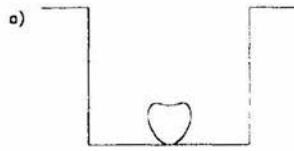
b)  SUERO + CONJUGADO

INCUBACION  
LAVAR

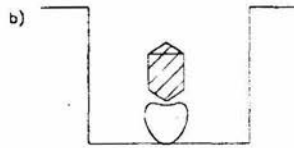
c)  ADICION DEL SUSTRATO

HIDROLISIS DEL SUSTRATO = COLORACION  
MAYOR ANTI-HBc-, MENOR COLOR

ELISA  
PRINCIPIO DE COMPETENCIA



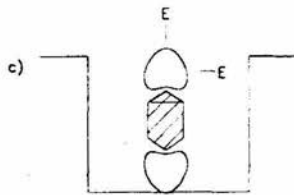
ESFERA CON HBsAG



AGREGAR SUERO (ANTI-HBs)

INCUBACION

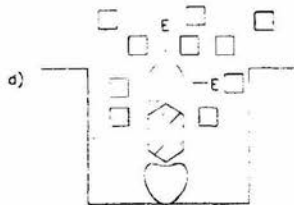
LAVAR



AGREGAR DEL SUSTRATO

INCUBACION

LAVAR



ADICIONAR DEL SUSTRATO

CANTIDAD DE HIDROLISIS = PROPORCIONAL A LA CANTIDAD  
DE ANTI-HBs (COLOR)

ELISA  
PRINCIPIO DEL SANDWICH

**Procedimiento de HBsAg(AUSZYME MONOCLONAL)**; Se basa en "el principio del sandwich", en este caso el suero o plasma del paciente y el conjugado de peroxidasa (anti-HBs: HRPO), se incuban con la esfera recubierta con anti-HBs, si hay presencia del antígeno en la muestra se forma el sandwich (anti-HBs-HBsAg-anti-HBs: HRPO), se adiciona el sustrato (OPD- ortofenilediamina) el cual se oxidará por acción de la peroxidasa y se producirá un desarrollo de color amarillo-anaranjado.

**Procedimiento de HBeAg (HBeAg r DNA)**; el método emplea "el principio del sandwich" en el cual las esferas recubiertas con el anticuerpo (anti-HBe) se incuban con el suero o plasma del paciente, si esta presente el antígeno, se une a la esfera, durante una segunda incubación es agregado el conjugado de peroxidasa (anti-HBe: HRPO), para formar el sandwich (anti-HBe-HBeAg-anti-HBe: HRPO). Se adiciona el sustrato (OPD- ortofenilediamina) sobre el cual va actuar la enzima y por acción de la peroxidasa (oxidación) se producirá un desarrollo de color amarillo cuya intensidad es proporcional a la cantidad de HBeAg unido a la esfera.



**Determinación de anti-HBc (CORZYME-M)**; el suero o plasma del paciente (anti-HBc-IgM) se incuba con la esfera recubierta con anticuerpos (anti gamma humana) en contra de los IgM humanos, en este caso si se encuentran presentes los anticuerpos IgM del paciente, tienen la función de "antígeno" al unirse a los anticuerpos de la esfera, en la segunda incubación se agrega el antígeno HBcAg, que es específico para unirse a los anti-HBc-IgM del paciente (método de doble sandwich), en la tercera incubación se adiciona el complejo: anticuerpos "c"-peroxidasa (anti-HBc: HRPO), finalmente para completar el "sandwich" se agrega el sustrato (OPD- ortofenilediamina), sobre el cual va a reaccionar la enzima y por acción de la peroxidasa se producirá un desarrollo de color, el cual es proporcional a la cantidad de anti-HBc-IgM presente en la muestra.

Al concluir el desarrollo de cada una de las pruebas, se efectuaron las lecturas de densidad óptica en el lector Abbott Quantum II. Modo A. Versión 1.22

Para cada una de las técnicas realizadas se contaba con controles negativos y positivos (estándares de referencia), los cuales permiten establecer los valores de corte (D.O.) para cada una de las pruebas en cada ensayo efectuado. Cabe mencionar, que al término de cada incubación, las placas que contenían las perlas eran lavadas con el sistema para lavar perlas (Abbott- Quik Wash).

La recolección y realización de esta investigación abarco del mes de mayo de 1993 a enero de 1994.

## RESULTADOS

El número de sueros que proporcionó cada uno de los Hospitales Generales de Zona del IMSS y el INPer dependió del número de mujeres gestantes que acudieron a su primera consulta prenatal, así tenemos que durante el periodo de recolección de muestras se obtuvo un total de 6254 sueros con cantidad y calidad adecuada (sin contaminación y sin hemólisis), la aportación de sueros por hospital se expresa en la Gráfica N°1.

Los diferentes Hospitales del IMSS involucrados en el estudio fueron agrupados por área geográfica, estudiándose dos diferentes zonas: 1) Zona Iztapalapa: Hospitales Generales de Zona números 15, 31, 43. 2) Zona Netzahualcoyotl: Hospitales Generales de Zona números 35, 75, 78. Del Sector Salud, participó el Instituto Nacional de Perinatología, en vista de que a este hospital acuden gestantes de diferentes áreas del Valle de México. La Zona de Iztapalapa aportó 2683 sueros (42.9 %), Netzahualcoyotl 2447 sueros (39.13 %), y el INPer 1124 sueros (17.97 %), Gráfica N°2.

Los 6254 sueros fueron clasificados y estudiados por grupo etéreo, (Cuadro N°1). El mayor número de sueros correspondió a la intervalo de edad 20-24 años, el grupo con menor concentración fue el de 50-54 años.

La frecuencia de marcadores serológicos para HVB en los 6254 sueros fue tabulada por número de casos estudiados, zona de estudio, frecuencia de positividad y finalmente esta relación se expresó en porcentaje para cada intervalo de edad. La frecuencia más alta correspondió al grupo de 25-29 años (45 casos-2.5 %), seguidos por los intervalos de 20-24 años (21 casos-0.99 %), 30-34 años (17 casos-1.62 %), 35-39 años (15 casos-3.81 %), 40-44 años (8 casos-6.72 %) y 15-19 años (8 casos-1.10 %). En los grupos de 10-14, 45-49 y 50-54 años no existió presencia de marcadores para HVB (Cuadro-Nº2)

El grupo con mayor número de casos positivos para HVB, correspondió a gestantes del área de Iztapalapa (53 casos 1.98 %), en segundo lugar a gestantes del área de Netzahualcoyotl (33 casos 1.35 %) y por último el INPer (28 casos 2.5 %).

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes áreas estudiadas. El método estadístico empleado fue JI Cuadrado (Cuadro Nº2).

De acuerdo a la zona estudiada, así como el porcentaje obtenido para cada perfil serológico, la frecuencia de cada uno de los marcadores para el virus de la hepatitis B en los 6254 sueros de madres gestantes sanas se observa en el Cuadro Nº3.

Se puede observar que del total de sueros analizados, 6141 fueron negativos (98.2 %), correspondiendo a Iztapalapa 2630 sueros, Netzahualcoyotl 2441 sueros y el INPer 1097 sueros.

La frecuencia de infección por HVB (anticuerpos contra el antígeno core del virus), fue del 1.82% con un total de 114 casos positivos para este marcador, perteneciendo a Iztapalapa 53 sueros (1.98%), a Netzahualcoyotl 33 sueros (1.35 %), y finalmente el INPer 28 sueros (2.5 %).

A una infección previa para HVB habían seroconvertido (anti-HBc+ y anti-HBs) un 0.96 % de las gestantes (60 casos), de los cuales correspondieron a Iztapalapa 23 casos, para Netzahualcoyotl 15 casos y al INPer 22 gestantes, Gráfica 3.

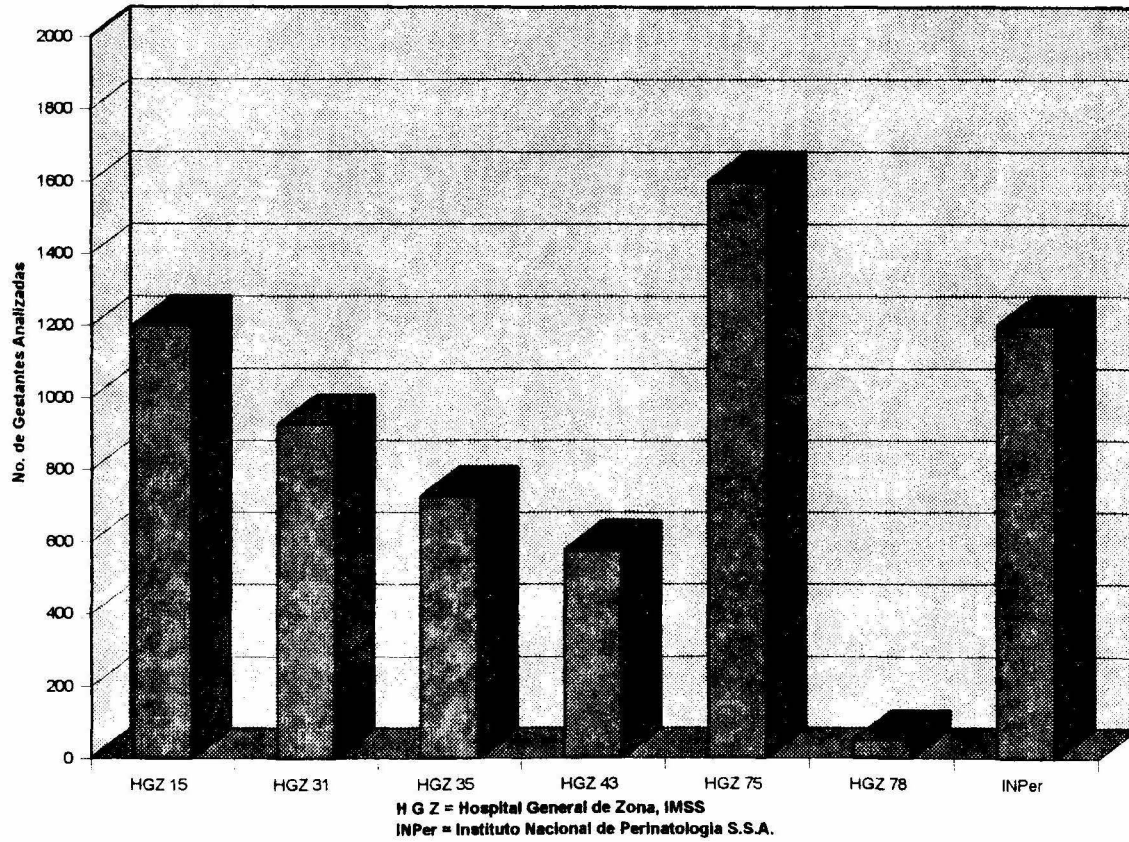
La existencia de positividad solamente para anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti-HBs) fue del 0.03 % (2 sueros), los cuales pertenecieron a la zona de Iztapalapa; en las muestras de la zona Netzahualcoyotl y del INPer no se presentó este perfil serológico.

El número de portadoras sanas del antígeno de superficie del virus (HBsAg+) fue de dos gestantes, teniendo además positivos los anti-HBc, representando una prevalencia del 0.03 %, las gestantes correspondieron, una a la zona de Netzahualcoyotl y la otra al INPer, este último caso con domicilio en la Delegación Gustavo A. Madero.

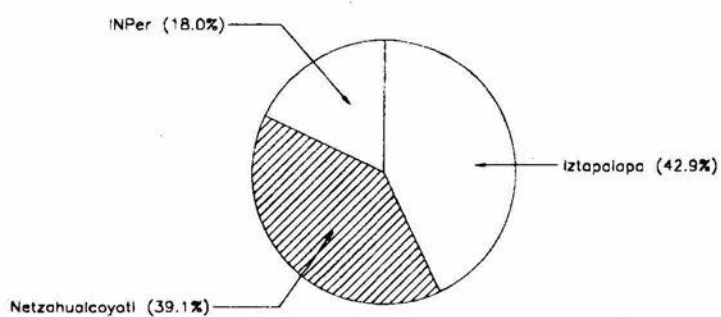
Las mujeres embarazadas con marcador (HBsAg+) para el virus B, habían estado expuestas a factores de riesgo para adquirir esta infección (transfusiones y cirugías previas).

De acuerdo al número de casos positivos y negativos de madres gestantes sanas asintomáticas en las diferentes zonas estudiadas (Cuadro N°3), se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la menor seroprevalencia; Netzahualcoyotl (1.35 % vs. 2.5 %) en el Instituto Nacional de Perinatología (método empleado II Cuadrado). La alta prevalencia de marcadores serológicos en el INPer se debe a que este centro hospitalario recibe pacientes de alto riesgo.

**Gráfica No. 1**  
**Número y procedencia de las muestras analizadas**



Zonas de procedencia de las madres estudiadas  
(porcentaje)



Instituto Nacional de Perinatología (INPer)

1124 sueros

Zona de Netzahualcoyotl

2447 sueros

Zona de iztapalapa

2683 sueros

GRAFICA N°2



**C U A D R O N o . 1**

**Número de mujeres estudiadas por grupo etáreo**

<b>GRUPO (años)</b>	<b>NUMERO</b>	<b>PORCENTAJE %</b>
10 - 14	22	0.35
15 - 19	726	11.61
20 - 24	2114	33.8
24 - 29	1807	28.89
30 - 34	1050	16.79
35 - 39	393	6.28
40 - 44	119	1.91
45 - 49	18	0.29
50 - 54	5	0.08
Total	6254	100%

## CUADRO No. 2

Prevalencia de marcadores serológicos para HVB por Zona y Grupo Etáreo

Grupo de edad	Iztapalapa	Netzahualcoyotl	INPer	Total	
	HVB + / estudiados	HVB + / estudiados	HVB + / estudiados	Frecuencia	%
10 - 14	0 / 4	0 / 2	0 / 16	0 / 22	0.00
15 - 19	5 / 349	2 / 240	1 / 137	8 / 726	1.10
20 - 24	9 / 1019	10 / 853	2 / 242	21 / 2114	0.99
25 - 29	28 / 761	12 / 757	5 / 289	45 / 1807	2.50
30 - 34	6 / 400	6 / 403	5 / 247	17 / 1050	1.62
35 - 39	5 / 119	2 / 137	8 / 137	15 / 393	3.81
40 - 44	0 / 23	1 / 141	7 / 55	8 / 119	6.72
45 - 49	0 / 6	0 / 11	0 / 1	0 / 18	0.00
50 - 54	0 / 2	0 / 3	0 / 0	0 / 5	0.00
<b>Total</b>	<b>53 / 2683</b>	<b>33 / 2447</b>	<b>28 / 1124</b>	<b>114 / 6254</b>	
<b>%</b>	<b>1.98*</b>	<b>1.35*</b>	<b>2.5*</b>	<b>1.82</b>	

\*I.C. = 95%

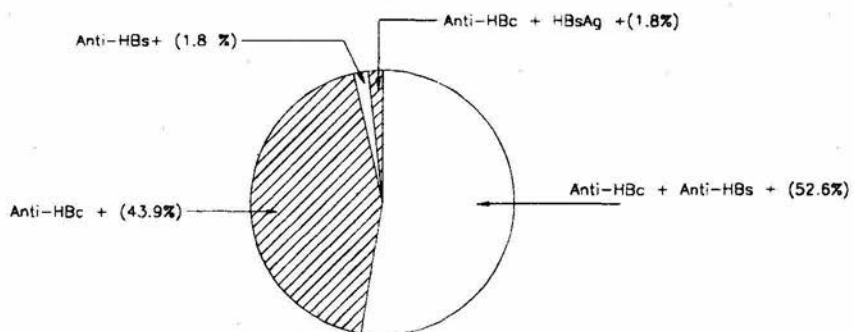
P = 0.01

## CUADRO No. 3

## Seroepidemiología para hepatitis B en 6254 madres gestantes

Marcadores serológicos	Iztapalapa	Netzahualcoyotl	INPer	Porcentaje
No. de casos				
Negativos	2360	2414	1097	98.2
Anti-HBc +	28	17	5	0.78
Anti-HBc+, Anti-HBs+	23	15	22	0.96
AntiHBs+	2	0	0	0.03
Anti-HBc+ , HBsAg+	0	1	1	0.03
Total de positivos	53	33	28	1.14
%	1.98	1.35	2.5	1.82
Total de estudiados	2683	2447	1124	6254

## Marcadores Serologicos de Hepatitis B en Mujeres Gestantes



PERFIL SEROLOGICO PARA HEPATITIS B EN 114  
MUJERES EMBARAZADAS SANAS

GRAFICA N°3

## DISCUSION

La frecuencia de negatividad encontrada para los marcadores de HVB fue del 98.2 %, de un total de 6254 sueros procedentes de madres gestantes sanas asintomáticas para este virus, lo cual indica que en nuestro medio la infección por HVB en la mujer en edad reproductiva es muy baja.

El 98.2 % de los sueros negativos de las madres gestantes sanas para HVB, probablemente correspondía a mujeres con un grado social, cultural y socio-económico medio, aunado a tener acceso a un Hospital General de Zona. Se ha reportado que en condiciones precarias de vida el riesgo de presentar marcadores para el virus de la hepatitis B es muy alto (18).

La frecuencia del 98.2 % de negatividad para el HVB encontrada en este trabajo, es apoyado en lo ya descrito por Mara, J. y col. (5) en donde las mujeres de origen México-Americanas, presentaron menor prevalencia de infección para el virus de la hepatitis B, que otras mujeres de origen Latino, e incluso es inferior al de las gestantes de los Continentes Asiático y Africano (22).

La prevalencia de anticuerpos anti-core (anti-HBc), fue del 1.82 % (114 casos) en una cohorte de madres gestantes asintomáticas sanas. Este marcador es referido como el marcador universal en estudios epidemiológicos y de diagnóstico, debido a que permanece más tiempo que los otros anticuerpos (anti-HBs, anti-HBe) (30,31).

La presencia de este marcador en la muestra serológica indica que la gestante se encuentra en una fase de recuperación o inmunidad.

La presencia de anticuerpos los anti-HBc y anti-HBs, en los sueros de las madres gestantes fue del 0.96 % (60 casos), trabajos anteriores indican que cuando se presentan ambos marcadores es indicativo de recuperación de una infección por el virus de la hepatitis B (32, 33).

La presencia de mujeres gestantes asintomáticas sanas con presencia de antígeno de superficie (HBsAg) fue del 0.03 % (2 casos). La prevalencia reportada, es menor en relación a áreas urbanas con baja endémicidad para el HVB (0.34 y 0.15 %), reportadas por Krugman. (34).

Las muestras positivas para el HBsAg en las gestantes asintomáticas, señalan que la paciente se encuentra en una fase de portadora de la fracción antigénica "s" del virus HVB.

En los casos positivos para el antígeno de superficie (HBsAg +) de las madres gestantes, no se encontraron factores de riesgo, tales como: transfusión, contacto sexual, uso de drogas intravenosas, número de gesta; por lo cual que se desconoce la posible vía de contagio.

Las madres gestantes sanas asintomáticas que resultaron positivas para el antígeno HBsAg, fueron integradas a un esquema de inmunización para el producto del parto.

## CONCLUSIONES

- 1.- La prevalencia de gestantes con marcadores de HVB fue del 1.82 %, esta prevalencia se encuentra dentro de los límites descritos por Krugman para áreas urbanas de baja endemicidad.
- 2.- La frecuencia de gestantes sanas asintomáticas con marcadores para HBsAg fue del 0.03 %, lo que indica que la transmisión vertical o perinatal no es el principal mecanismo de diseminación de HVB en los grupos familiares analizados.
- 3.- La frecuencia de negatividad del 98.2 % para HVB en la población femenina analizada en edad reproductiva indica una población con baja infectividad por este virus.
- 4.- Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de antecedente de HVB en las gestantes clasificadas como de alto riesgo (INPer), en relación a las dos áreas restantes estudiadas.
- 5.- La frecuencia de infección por HVB aumento con la edad , hasta alcanzar un 6.72 % entre los 40-44 años.



6.- Como un mecanismo de control epidemiológico de la transmisión perinatal de la hepatitis B, se sugiere la investigación de marcadores serológicos sólo en mujeres gestantes que tengan factores de riesgo para adquirir este tipo de infección, aplicando la vacunación específica para la hepatitis B a los productos que así lo requieran, así como a miembros del grupo familiar susceptibles de adquirir la infección.

7.- La realización de esta investigación permitió obtener información en nuestro medio acerca de la importancia de la infección por el virus de la hepatitis B en la mujer en edad reproductiva.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Krugman S.; Gocke J.D. 1979. Hepatitis Viral, primera edición ed. Interamericana 10-16.
- 2.- Hollinger F.B. Hepatitis B virus. En Fields B.N., Knipe D.M. 1990. Virology. segunda edición ed. Raven Press. New York 2171-2276.
- 3.- Tong M.J. 1989. Hepatitis B vaccination of neonates and childrens. Am. J. Med. 87 (suppl. # A): 335.
- 4.- Alvarez-Muñoz M.T. y col. 1991. Hepatitis B y Delta: prevalencia de marcadores seroepidemiológicos en donadores de sangre voluntarios y su grupo familiar. Gaceta Médica de México 127 (5):399-404.
- 5.- Mara J., Dinsmoor M.D., Ronald S., et. al. 1990. Prevalence of asymptomatic hepatitis B infection in pregnant Mexican-American women. Obstet. Gyne. Col. 76 (2): 239 240.

- 6.- Kook CH.W., Young J., Sik, S.H., et. al. 1985. Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus: A comparison between the efficacy of passive and active-passive immunization in Korea. *J. Inf. Dis.* 151. (2): 280-286.
  
- 7.- MMWR. 1988. Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus: En Leands. Prenatal screening of all pregnant women for hepatitis B surface antigen. *JAMA* 260 (2): 165-171.
  
- 8.- Landa L. y col. 1976. Seroepidemiología de la hepatitis B. *Gaceta Médica México* 111 (2): 108-113.
  
- 9.- Barriga A.G., Estrada C.M., Trejo Y.S. y col. 1985. Avances recientes en seroepidemiología de hepatitis viral. B en México. *Infectología* 3 (3): 79.
  
- 10.- Alvarez-Muñoz M.T., Bustamante-Calvillo M.E. et. al. 1989. Seroepidemiology of the hepatitis B and delta in the Southeast of Chiapas, México. *Archiv. Invest. Med. (Mex)* 20: 189-195.
  
- 11.- Tsega E., Mengesha B., et al. 1986. Hepatitis A, B and Delta infection in Ethiopia: a serologic survey with demographic data. *Am. J. Epidem.* 123: 344-351.

- 12.- Brown P. et. al. 1985. Serologic markers of hepatitis A and B in the population of Bali, Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34(3): 616-619.
- 13.- Maynard J.E., Kans M.A., Alter M.J., Hadler S.C. 1988. Control of hepatitis B by immunization: Global perspectives. In Alan R., *Viral hepatitis and liver disease*. eds. Liss Inc. New York 967-969.
- 14.- Picazo de la Garza J.J., Romero V.J. 1991. *Hepatitis y Sida*. Gráficas Laga. S.L. Madrid 26-73.
- 15.- Lau Y.N.J. and Wright T.L. 1993. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. *Lancet* 342: 1335-1339.
- 16.- Robinson W.S. 1990. Hepatitis B virus and hepatitis Delta virus. En Mendel G.L. *Principles and practice of infectious diseases*. 3ed. Churchill Livingstone. New York 1204-1230.
- 17.- Sherlock S. 1990. Hepatitis B: the disease. *Vaccine* 8 (suppl): 56-59.
- 18.- Craig N., Shapiro M.D. 1993. Epidemiology of hepatitis B. *Pediatric. Infect. Dis. J.* 12: 433-437.

- 19.- Palmer R., Hwang L.Y. 1983. Postnatal infectivity of hepatitis B surface antigen-carrier mother. *J. Inf. Dis.* 147: 185-190.
- 20.- Lee A.K. Henrietta M.H. 1978. Mechanisms of maternal-fetal transmission of hepatitis B virus. *J. Inf. Dis.* 138: 668-671.
- 21.- Mitsuda T., Mor T., Ookawa N., et. al. 1989. Desmostration of mother infant transmission of hepatitis B virus by means of polymerase chain reaction. *N. Eng. J. Med.* 11: 886-887.
- 22.- Kumate J., Gutiérrez G., Onofre M., Santos J.I. 1992. Hepatitis en: *Manual de Infectología*. Editores Mendez. México 148-164.
- 23.- Perrillo R.P. 1993. Hepatitis B: transmission and natural history. *Gut.* 34 (2 suppl): S48-49.
- 24.-Tong M. J., Thursby J., Rakela. et al. 1981. Studies on the maternal-infant transmission of viruses which cause acute hepatitis. *Gastroenterology* 80: 999-1004.

- 25.-Stevens C. E., Beasley J. et al. 1975. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. N. Engl. J. Med. 292: 771-774.
- 26.- Lingao, A. L., Torres, N. T., Muñoz, N. 1989. Mother to child transmission of hepatitis B virus in the Philippines. Infection 17 (5): 275/5-279/11.
- 27.- Guha D.K., Mahajan J., Aggarwal S.K. 1988. Vertical transmission of hepatitis B virus (special article). Indian Pediatric. 25: 409-416.
- 28.- Maynard J.E. 1990. Hepatitis B: global importance and need for control. Vaccine 8: 518-520.
- 29.- Jefatura de Servicios de Salud Pública, Subdirección General Médica IMSS 1993. Manual del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Hepatitis Virales. México.
- 30.- Lander J. J., et al. 1978. Anticore antibody screening of transfused blood. Vox Sag 34: 77-80.
- 31.- Krugman S. et al. 1979. Viral hepatitis, type B. N. Engl. J. Med. 300 (3): 101-106.

- 32.- Dominguez T. M. A., Ramos D. R., 1988. Hepatitis B en el embarazo. *Infectología* 5: 84-86.
- 33.- Magnus O. L., et al. 1975. A new antigen-antibody system clinical significance in long-term carriers of hepatitis B surface antigen. *JAMA* 231 (4): 356-359.
- 34.- Krugman S. y Gocke, D. J. 1979. Hepatitis viral. primera edición, Ediciones Nueva Editorial Interamericana México 77
- 35.- Chisari V.F., Ferrari C., 1995. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* 13: 29-60.
- 36.- Barret T.J. *Inmunología Médica*. Editorial Interamericana. Edición 5. 1990: 204-208.
- 37.- Engvall E., Perlmann P., 1972. Enzyme-linked immunoadsorbent assay ELISA III quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled antiimmunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.* 109: 129.