



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



T E S I S

Prevalencia de Hepatitis B en donantes de sangre total del Banco de Sangre del Hospital General Regional 25 identificados a través de pruebas simultáneas de HBsAg y Anti-HBc

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIOLÓGICO**

P R E S E N T A :

Flores Pichardo Miriam

305062886

Orientación: Bioquímica Clínica

Director: Dra. Araceli Patricia Plasencia Mota

Asesor: QFB Natalia Hernández Méndez

México 2014



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.

*La sabiduría suprema es tener sueños bastante grandes
para no perderlos de vista mientras se persiguen.*

William Faulkner

Agradecimientos

A mis padres porque gracias a ellos y su apoyo he alcanzado la meta que me propuse al comenzar este camino, y sé que junto a ellos soy más fuerte.

A mi hermano Jorge que siempre ha estado junto a mí en silencio acompañándome y apoyándome en momentos difíciles, haciéndome reír, siendo mi cómplice de travesuras y juegos durante una vida.

A mi hermano Roberto que a su manera me ha enseñado a comprender las cosas más importantes de la vida, incitándome a ser siempre mejor, a luchar por lo que quiero y a ser Feliz. A mis padres y hermanos los amo siempre.

A la Dra. Araceli por aceptarme dentro de su grupo de trabajo, por apoyarme siempre, por todas sus enseñanzas académicas y de vida, los consejos y la confianza que puso en mí, con usted aprendí que a la vida y a las adversidades hay que sonreírles en todo momento y no dejarnos caer.

A mis amigos Alex, Sara, Isaac, Jony y Kari que gracias a ustedes y su hermosa compañía los momentos más difíciles de la carrera se tornaron divertidos, gracias por sus bromas, su compañía, los juegos, y los muchos momentos que no puedo enumerar y que estarán en mi memoria siempre, ustedes son y serán parte de mi familia.

Bety a ti también muchas gracias por todos los momentos que compartimos, por estar siempre conmigo, por los ratos de ocio en el pasto (que sabes que adorábamos), por desvelarte conmigo y por escuchar mis muchos traumas y hacerme olvidarlos y dibujar una sonrisa en mi rostro, sabes que te quiero.

También quiero agradecer a mis nuevos amiguitos no menos importantes, Dalia, Yess, Armando, Rouss y Sergio que me han hecho más liviano el estrés del trabajo que se vuelve más pesado cuando tienes una tesis que escribir (jeje), espero que sea una amistad para siempre.

A quienes aun en la distancia y a pesar de los años siguen presentes en mi vida: Lidia, Marcos y Jesús.

A todos ustedes mil gracias por compartir mi vida, mis ilusiones, mis alegrías y mis lágrimas, aún nos queda un largo camino que recorrer y espero que en el mío estén siempre junto a mí.

Miriam

Contenido

1. Introducción	1
2. Marco teórico	3
2.1. Propiedades del VHB	5
2.1.2. Antígenos del VHB	8
2.2. Epidemiología	11
2.3. Mecanismos de transmisión del VHB	14
2.3.1 Transmisión perinatal del VHB	15
2.4. Prevención	16
2.5. Historia natural de la enfermedad	17
2.6. Hepatitis B oculta o fase HBsAg negativo	21
2.6.1 Bases moleculares de HBOc	22
2.6.2 Prevalencia HBOc	23
2.7. Diagnóstico de la infección por VHB	24
2.7.1 Diagnóstico de HBOc	26
3. Planteamiento del problema	27
4. Objetivos	28
5. Hipótesis	28
6. Diseño experimental	28
7. Resultados	33
8. Discusión	39
9. Conclusiones	45
10. Referencias	47

Introducción

Una de las primeras medidas tomadas para evitar la infección postransfusional del virus de la hepatitis B (VHB) fue la detección del denominado antígeno de superficie, anteriormente llamado antígeno Australia (HBsAg) como marcador serológico en el suero de los donantes de sangre, con el cual disminuyó significativamente la transmisión de este virus por vía transfusional. Algunas pruebas comerciales para la detección de HBsAg, han mejorado mucho en los últimos años, tanto en sensibilidad como en especificidad y cuando son utilizados en el tamizaje serológico de donantes de sangre consiguen identificar un buen número de los casos de personas infectadas por el virus B. Aun así, existen casos de portadores de hepatitis B en los que el HBsAg presenta resultados negativos, debido a los bajos títulos presentes en las muestras analizadas o debida a la presencia de mutantes del VHB²⁶.

México se ha considerado como área de baja endemia, es decir < de 2% de su población ha sido infectada por el VHB, esta se ha medido a partir del número de sujetos reactivos al HBsAg, sin embargo existen sujetos que no presentan reactividad a este marcador, pero que han estado en contacto con el virus o pudieron incluso haber sufrido infección aguda sin mostrar síntomas o haber sido diagnosticados, y en algunos casos poseen aún material genético del virus con capacidad infectiva para ellos mismos y para aquellos sujetos que entren en contacto con algún fluido proveniente de estos portadores, es por esto que a pesar de los logros obtenidos en las pruebas serológicas para el diagnóstico de VHB, el número de pacientes infectados con este virus después de haber recibido una transfusión sanguínea o de algún otro hemoderivado no ha disminuido en la misma proporción que en otras infecciones como lo es VIH o VHC, y que en los últimos años el porcentaje de infección postransfusional por estos virus ha disminuido de manera significativa.

Estas condiciones permitieron inferir antes de su plena identificación la existencia de la hepatitis B oculta (HBOc) estudiada y plenamente definida en los

últimos años, y cuyo método específico de diagnóstico es demostrar la presencia de material genético viral en tejido hepático de sujetos HBsAg negativos. Con la finalidad de identificar una prueba accesible y confiable para el tamizaje de sujetos candidatos a donación de sangre total o sus componentes, se ha planteando la detección de anticuerpos contra el antígeno core del VHB (anti-HBc) simultáneamente con HBsAg. En la detección de HBOc

Esto motivó la implementación de la detección simultánea de ambos marcadores como pruebas de tamizaje de los donantes de sangre total del banco de sangre del Hospital General Regional 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social en la Ciudad de México D.F. (BSHGR25) y así evitar la transfusión de hemoderivados potencialmente infectantes con VHB.

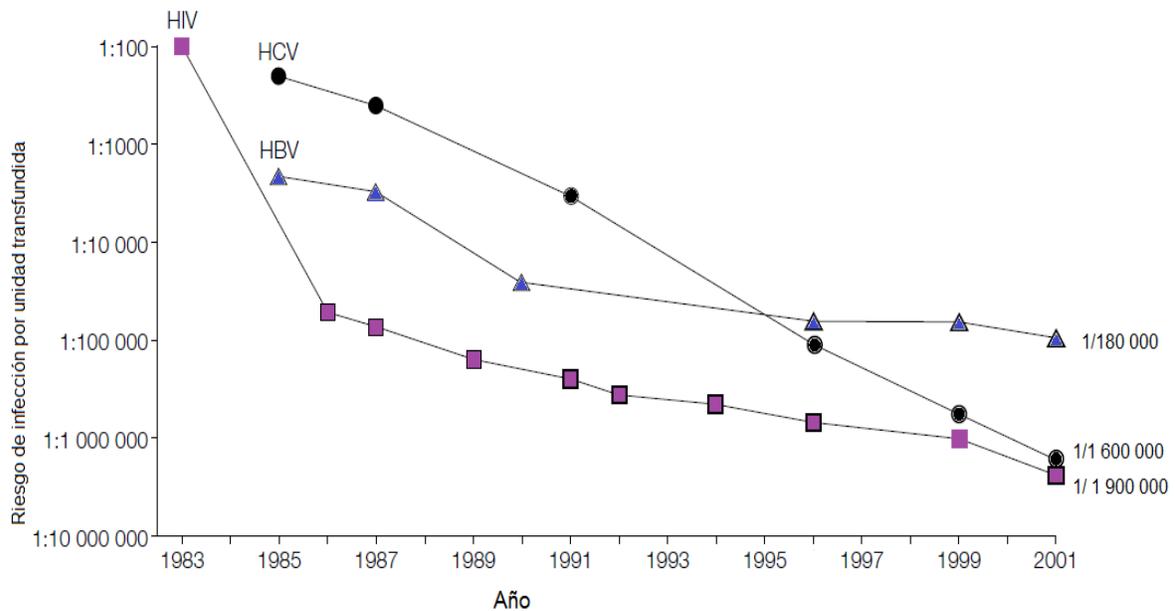
1. Marco teórico

En el campo de la medicina transfusional la preocupación más importante relacionada al uso de las transfusiones es el riesgo de transmitir infecciones por esta vía. Por esta razón en los últimos años se han puesto en práctica varias medidas que están encaminadas a obtener componentes sanguíneos más adecuados para la terapéutica transfusional.¹

Con la evolución de la tecnología en la determinación de los marcadores serológicos, en la década pasada se disminuyó considerablemente la incidencia de infecciones transmitidas por esta vía y, consecuentemente, la seguridad sanguínea aumentó. En lo que respecta a la seguridad transfusional en México, desde 1993 a los bancos de sangre se les exige efectuar el tamizaje para detectar VIH, VHC y VHB en todos los candidatos a donar sangre.²

Durante las últimas décadas se ha experimentado un descenso importante en el número de unidades transfundidas contaminadas con el VHB, VHC y VIH, esto gracias a los avances alcanzados en las pruebas de detección serológica de dichos agentes. No obstante en el caso del VHB la disminución no ha sido tan significativa como en el caso del VHC o del VIH, siendo casi once veces más probable contraer VHB que VIH durante una transfusión de algún hemocomponente o hemoderivado (Figura 1)¹.

Figura 1: Evolución del riesgo de infección por VIH, VHC, y VHB por unidad transfundida¹.



La hepatitis vírica es una enfermedad transmisible, aguda y crónica, que ha alcanzado especial importancia en todo el mundo. La morbilidad y mortalidad que causa ocupa un lugar significativo. Se considera un problema trascendente de salud pública. Las hepatitis víricas se clasifican en varios tipos, de acuerdo con las infecciones que las causan, las cuales tienen diferencias en su etiología y sus características epidemiológicas: esto es, sus mecanismos de transmisión y los aspectos inmunológicos, clínicos y hepatológicos. La transfusión sanguínea constituye una de las muchas rutas de transmisión del virus de la hepatitis B (VHB). La infección se ha incrementado durante las últimas décadas y es endémica en muchos países.^{3,4}

2.1. Propiedades del VHB

El VHB es un virus altamente infeccioso que pertenece a la familia Hepadnaviridae. Representa al prototipo del género Orthohepadnavirus. El virión es esférico, de 40-45 nm de diámetro, en ocasiones pleomórfico. En la actualidad se conocen ocho genotipos del virus que se denominan de la A a la H, estos genotipos tienen diferente distribución geográfica, incluso diferente presentación clínica; siendo el genotipo H el que prevalece en México, a diferencia de otras regiones del mundo.^{5,6}

Se caracteriza por ser un virus de DNA circular de doble cadena, el cual se replica a través de un RNA intermediario mediante transcripción reversa. El genoma del VHB se puede integrar en los cromosomas del hospedero, pero no es un requisito para la replicación viral. En vivo, el hígado es el principal órgano de replicación del virus. La partícula viral madura está compuesta de una nucleocápside que contiene 240 subunidades proteicas y encierra el genoma del virus; rodeada por una bicapa de lípidos en la cual se incorporan las proteínas de la envoltura de 7 nm de anchura, formada por constituyentes de la membrana del retículo endoplásmico (RE) o del aparato de Golgi del hepatocito infectado y por tres glicoproteínas (gp) del propio virus que se anclan en la membrana y se proyectan hacia el exterior de la partícula. Dentro de la nucleocápside, se encuentra el genoma viral que contiene toda la información genética organizada.^{5,6,7,8,9}

Este complejo es rodeado por los antígenos del core: antígeno core (HBcAg) y antígeno e (HBeAg). Por su parte el antígeno de superficie (HBsAg) se encuentra en la parte exterior embebido en la envoltura lipídica (Figura 1).⁶

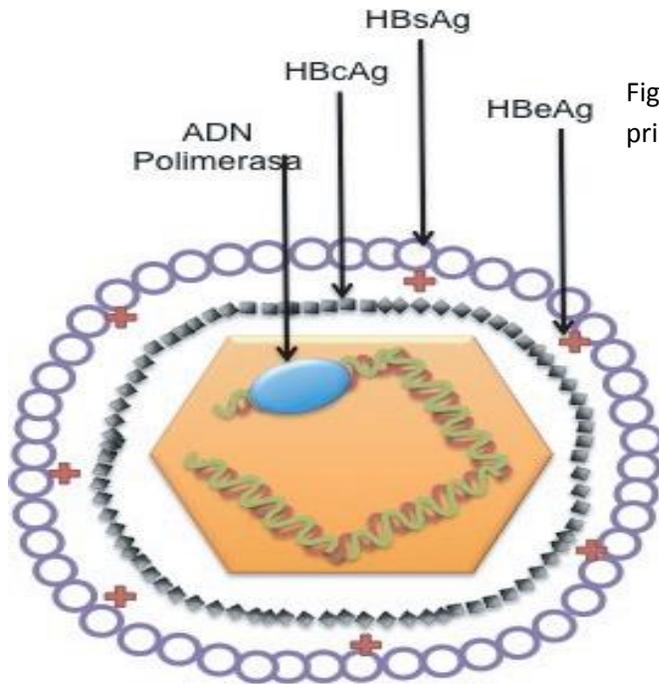
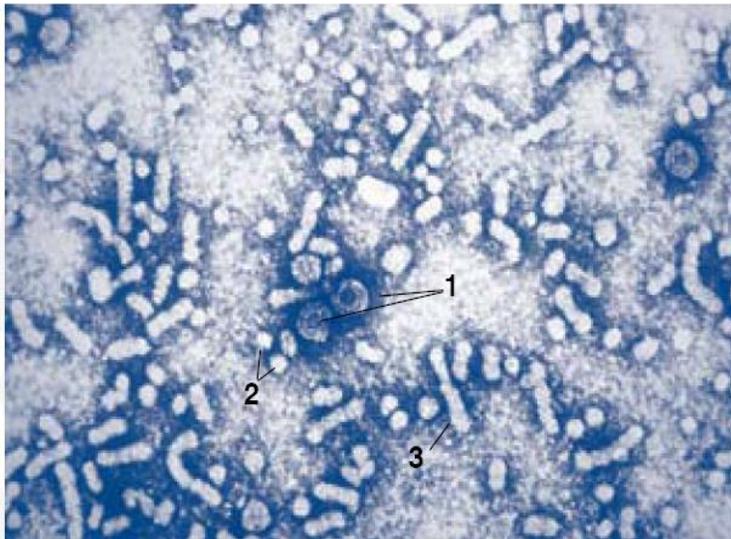


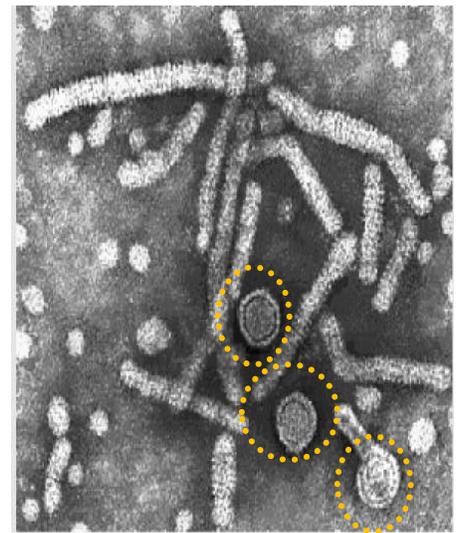
Figura 2. Virus de la Hepatitis B. Componentes principales del virus: HBsAg, HBcAg y HBeAg⁵

Al microscopio electrónico es posible observar partículas de distintas formas en sangre de pacientes con hepatitis B aguda y a veces crónica, son llamadas partículas de Dane (figura 3 a y b)^{3, 6}.



3(a)

Figura 3(a): Morfología de VHB bajo el microscopio electrónico, en donde se observan las partículas de Dane (1) y envolturas víricas vacías (2, 3).



3(b)

3(b): Partículas de Dane.

El genoma del VHB está constituido por ADN parcialmente bicatenario, de aproximadamente 3200 pares de bases. El mismo contiene la información genética de 7 proteínas virales comprendidas en 4 marcos abiertos de lectura. El gen S contiene la información de las 3 proteínas de la superficie o envoltura viral, estas son las proteínas S, M y L. La proteína S constituye el 90% del contenido proteico de la envoltura. Las proteínas M, L y S poseen el mismo sitio de terminación en el genoma y diferentes sitios de iniciación de la transcripción. Como consecuencia, las proteínas M y L comparten los 226 aminoácidos de la proteína S, y adicionalmente cuentan con extensiones de 55 y 174 aminoácidos, respectivamente.⁹

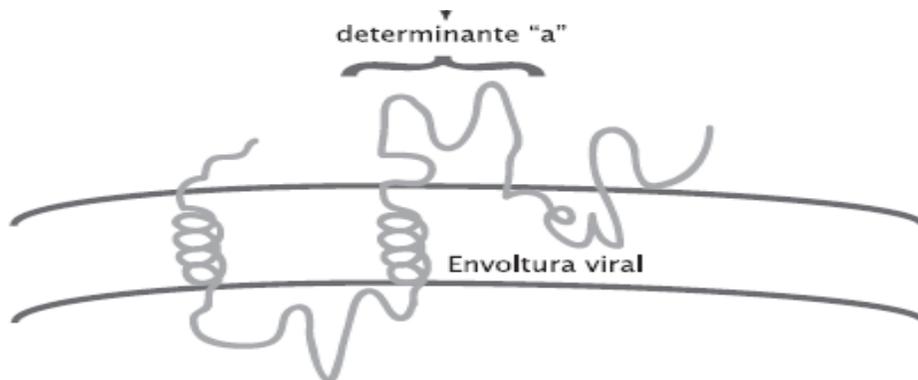
Por otra parte, se denominan gen C y gen P a los genes que contienen la información de las proteínas de la nucleocápside y de la polimerasa viral, respectivamente. El gen X codifica para dos proteínas que actúan como potenciadores y activadores de la transcripción del genoma viral.⁹

2.1.2. Antígenos del VHB

HBsAg

Es una proteína altamente hidrofóbica de 226 aminoácidos, este antígeno contiene cuatro regiones transmembranales que atraviesan la envoltura viral. Entre la región de aminoácidos del 100 al 160, se localiza en la parte externa de la envoltura viral el determinante "a" del HBsAg, (figura 4). Este determinante evoca una respuesta inmune humoral dominante e intensa ya sea por una infección activa o en respuesta a la vacuna; los anticuerpos que se forman en respuesta a este determinante, juegan un papel muy importante en la protección del hospedero contra el virus. Así también, los anticuerpos que se utilizan en el diagnóstico serológico para la detección del HBsAg reconocen al determinante "a". La presencia de este antígeno en circulación sanguínea es a partir de los 22 días post-infección y continúa circulante aún en fases tardías de la hepatitis B en la mayoría de los pacientes con infección por el VHB, característica que le permite ser el principal marcador serológico de hepatitis B. Los principales lípidos presentes en esta partícula son los fosfolípidos, el colesterol, ésteres del colesterol y triglicéridos. Se ha sugerido que la partícula del HBsAg se organiza como una bicapa lipídica discontinua en interacción con agregados proteicos.^{7,9}

Figura 4: Antígeno de superficie del VHB y su distribución en la envoltura viral.⁷



El HBsAg tiene la capacidad de inducir una fuerte respuesta inmune específica de anticuerpos y de células T auxiliaadoras en personas sanas. Adicionalmente, se ha demostrado que existen epítopes del HBsAg que pueden ser presentados por moléculas de HLA clase I, aun cuando esta proteína es procesada por las células presentadoras de antígenos (CPA) como una proteína exógena. Esta propiedad permite al HBsAg no adyuvado inducir una respuesta citotóxica (CTL) específica para epítopes generados por vías alternativas de procesamiento, posibilitando la expansión del repertorio de células citotóxicas específicas para el HBsAg.⁹

HBcAg

Este polipéptido con simetría icosaédrica de 27 nm de diámetro está formado por 183 aminoácidos, varias subunidades de esta proteína (alrededor de 180), se ensamblan por sí mismas dando lugar a la estructura viral conocida como cápside la cual se encarga de empaquetar el RNA pregenómico (RNApg) y a la polimerasa viral. Este empaquetamiento es indispensable para que se efectúe el ciclo de replicación del VHB. Este polipéptido se sintetiza en el núcleo de la célula hepática y no es posible hallarlo aisladamente en el suero del enfermo, sino formando parte de la partícula de Dane. Su poder inmunógeno induce la producción de anticuerpos de las clases IgG e IgM en la infección aguda y crónica por VHB.^{7, 10}

HBeAg

El gen que codifica para el HBcAg del VHB contiene dos codones de iniciación en fase. La transcripción a partir del segundo codón resulta en la expresión del HBcAg, proteína de 183 aminoácidos con una talla de 22 Kda, la cual interviene en la formación de la cápside. La transcripción a partir del primer codón produce una proteína de 25 Kda, la cual además de los 183 aminoácidos del HBcAg presenta 29 aminoácidos adicionales en la región amino-terminal. Esta región, de naturaleza hidrofóbica, funciona como un péptido señal que guía a la proteína

precure al retículo endoplasmático donde es procesada, sufriendo rupturas proteolíticas en los aminoácidos 10 y 149, dando como resultado una proteína de 159 aminoácidos y 17 Kda de talla, la que es secretada a la sangre. El producto secretado es lo que se conoce como antígeno de secreción del VHB o HBeAg.^{7, 9}

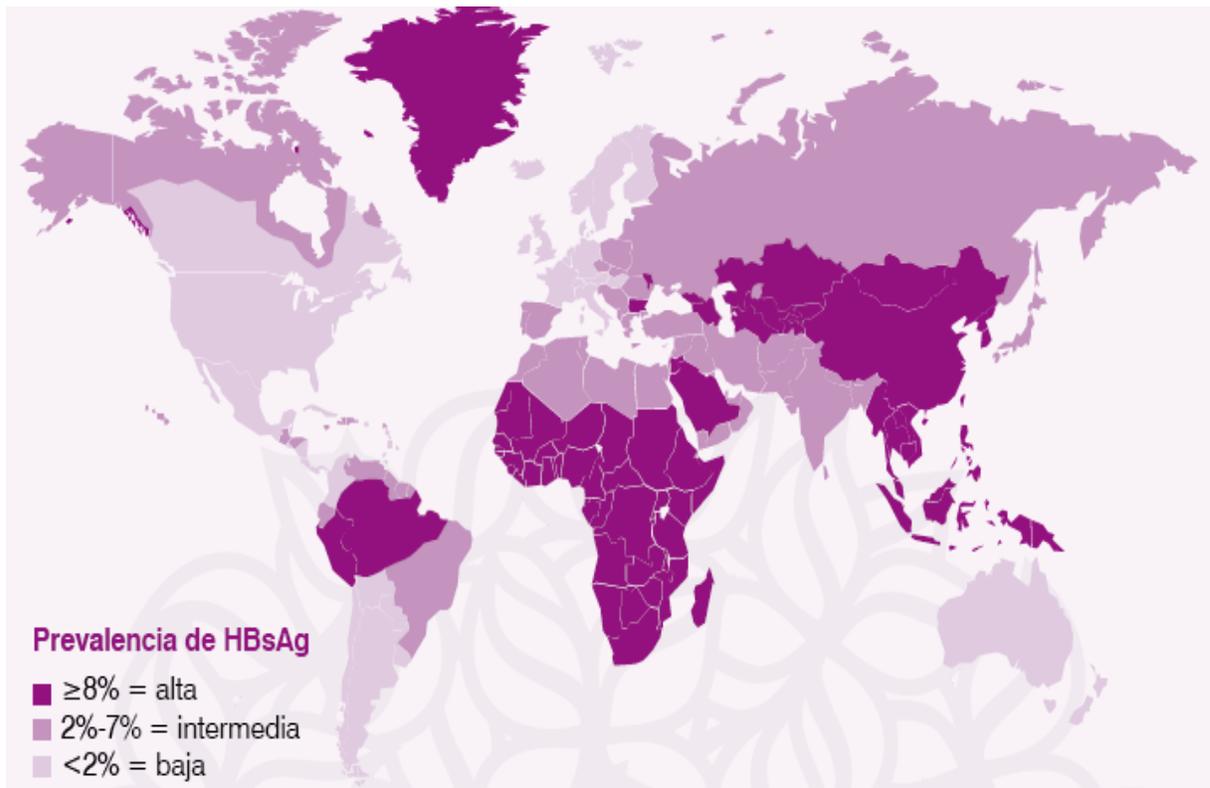
El HBeAg es esencial para el establecimiento de una infección persistente. También se conoce que este antígeno es capaz de cruzar barrera placentaria induciendo tolerancia al VHB, en neonatos que son infectados por sus madres a la hora de nacer. Una serie de observaciones clínicas sugieren que el HBeAg juega un papel importante en la cronicidad del VHB. Por ejemplo, se ha comprobado que la infección neonatal con un virus mutante HBeAg-negativo incrementa la probabilidad de infección aguda fulminante.^{7, 9}

2.2. Epidemiología

La hepatitis B es un problema de salud pública en el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que 2 000 millones de personas han sido infectadas con el virus de la hepatitis B y más de 360 millones son portadoras crónicas; cerca de un millón de personas mueren anualmente por esta enfermedad. La infección por el virus de la hepatitis B es la causa infecciosa más importante de enfermedad hepática aguda y crónica en el mundo y una de las principales causas de cirrosis y carcinoma hepatocelular.^{11, 12}

La prevalencia e incidencia epidemiológica de la infección, así como de sus secuelas no siguen un perfil uniforme de endemidad. Entre los países del continente asiático existe una alta endemidad (>8%), que también se presenta entre las poblaciones indígenas del Amazonas en Sudamérica y Alaska en Norteamérica. En contraste, existen zonas de endemidad intermedia (>2-7.9%) en Europa y baja (<2%) en países como Estados Unidos y Canadá (figura 5). México se ha considerado como una zona de baja endemia; no obstante recientemente se ha demostrado que en el país existen zonas de alta endemia, principalmente en poblaciones indígenas, al igual que en Centro y Sudamérica.^{6, 11,}

12, 13



Los estudios epidemiológicos más recientes muestran que México hay por lo menos tres millones de personas adultas que se han infectado (anti-HBc positivos) y de estos un mínimo de 300 000 portadores activos (HBsAg positivos) podrían requerir tratamiento. No obstante, si consideramos a la población indígena como zona de alta endemia, entonces el número de pacientes que se han infectado podría aumentar hasta 7 u 8 millones de mexicanos y a cerca de un millón de portadores activos.¹²

Se ha descrito que desde 1976 la seroprevalencia del VHB en México se ha mantenido baja y estable, situación que se puede deber a dos factores específicos. Primero, a las limitaciones de sensibilidad y especificidad de las pruebas inmunológicas que se han utilizado hasta la fecha, y, segundo, a que no se ha logrado un control real de los factores de riesgo en la población. Respecto al primer punto se tienen evidencias de que en México predomina el genotipo H del VHB, a diferencia de otras regiones del mundo. La variabilidad genética del VHB

genotipo H podría ser la causa que explicara la poca sensibilidad y especificidad de las pruebas inmunológicas utilizadas hasta la fecha, ya que las mismas se han diseñado, al igual que la vacuna contra el VHB, con base en los genotipos D y A, los cuales no son los que más prevalecen en nuestro país. En relación con el segundo punto, se sabe que en México, a diferencia de otras partes del mundo, la transmisión del VHB se debe a la exposición de las personas a fluidos biológicos y material quirúrgico contaminado en quirófanos y consultorios dentales, así como a las relaciones sexuales sin protección.¹²

2.3. Mecanismos de transmisión del VHB

Existen tres formas fundamentales de transmisión de la hepatitis B:

1. Percutánea: contacto con sangre o productos sanguíneos, agujas contaminadas, jeringas, instrumentos quirúrgicos, hemodiálisis, abuso de drogas intravenosas, cirugía oral, tatuajes, perforaciones, acupuntura, entre otras.
2. Contacto íntimo o sexual.
3. Transmisión perinatal.

Teniendo en cuenta estos mecanismos de transmisión, se recomienda investigar para hepatitis B a los siguientes grupos de riesgo:

1. Nacidos en áreas endémicas para hepatitis B
2. Aquellos que realicen prácticas sexuales promiscuas (sin tomar en cuenta la orientación sexual)
3. Trabajadores sexuales
4. Drogadictos intravenosos
5. Pacientes VIH positivos
6. Mujeres embarazadas
7. Aquellos sujetos que hayan tenido o tengan contacto familiar, íntimo o sexual con individuo VHB positivo.
8. Recién nacidos de madres con HBsAg (+)
9. Personas que están en frecuente contacto con sangre, líquidos corporales o material contaminado, ya sea en razón de su enfermedad (hemofílicos, politransfundidos, hemodializados) o debido a su profesión (personal de salud)
10. Viajeros a zonas de alta endemia, en especial si la estadía es mayor de 6 meses.^{10, 13, 14}.

2.3.1 Transmisión perinatal del VHB

En los recién nacidos, la transmisión es vertical, de madre a hijo. En los demás casos, es horizontal, por vía parenteral o no parenteral.

El periodo de mayor riesgo de transmisión vertical, es el parto (85% de las infecciones perinatales) y solo del 5-15% se da durante el embarazo¹³. Sin embargo la cesárea no ha mostrado eliminar el riesgo de adquirir infección perinatal por VHB.

De estos los casos más frecuentes de transmisión vertical durante el embarazo se dan durante el tercer trimestre, alcanzando tasas de infección del 80-90%, en comparación con el 10% si es transmitida durante el primer trimestre.

Durante la gestación, la placenta impide el paso del VHB completo y del HBsAg. En las mujeres con HBeAg, el antígeno pasa la placenta y puede detectarse en dos tercios de los recién nacidos, a títulos que no guardan correlación con el título materno. El paso transplacentario de HBeAg puede ser el motivo de la tasa alta de cronicidad de la hepatitis B y peculiar evolución inmunotolerante cuando hay transmisión vertical del VHB a partir de madres HBeAg positivo; en el niño no infectado, el HBeAg transferido deja de detectarse entre los 6 y 12 meses de vida^{14, 15}.

Las madres coinfectadas con el VHC o el VIH además del VHB también tienen más probabilidades de transmitir la hepatitis B a su hijo¹⁶.

En ausencia de profilaxis, ocurre infección perinatal en 80 a 90% de los casos, mientras que con profilaxis se reduce a 8 a 30% (hijos de madres con replicación viral especialmente alta). La profilaxis tiene una eficacia de 99 a 100% en la prevención de la infección vertical de niños de madre anti-HBe positivo. En el cuadro 1 se muestra el pronóstico postnatal dependiendo de la serología materna y la profilaxis neonatal.¹⁴

Aunque el HBsAg puede encontrarse en la leche materna, no hay evidencia que la infección de VHB puede transmitirse a través de la lactancia materna^{14,16}

Cuadro 1. Infección por virus de hepatitis B y embarazo: pronóstico postnatal según serología materna e inmunoprofilaxis neonatal

Serología materna	Hijo con inmunoprofilaxis pasiva-activa
HBeAg(-); HBsAg(+)	Riesgo de infección crónica disminuye a <1%, disminuye el riesgo de desarrollar hepatitis aguda y fulminante
HBeAg(+); HBsAg(+)	Riesgo de infección crónica disminuye a 10-15% (90% cronicidad sin profilaxis)

2.4. Prevención

- Aplicar la vacuna contra la hepatitis B.
- Los niños nacidos de las madres infectadas por el VHB deben recibir la vacuna contra la hepatitis B e inmunoglobulina anti-VHB (IgHB) el mismo día del nacimiento.
- Practicar relaciones sexuales con protección, usando condones y barreras de látex.
- No compartir jeringas.
- Los profesionales del tatuaje, la perforación corporal y la acupuntura deben utilizar agujas nuevas con cada cliente.
- Los profesionales de la manicura y las barberías deben desinfectar los utensilios entre uno y otro cliente o bien emplear artículos desechables de un solo uso.
- No compartir artículos personales como navajas de afeitar, cepillos de dientes, cortaúñas o aretes.
- Practique medidas de precaución universales en los centros de salud, incluyendo el uso de guantes de látex.

- Desechar adecuadamente las agujas, vendas usadas; así como limpiar y desinfectar los líquidos corporales que se derramen.
- Cubrir todos los cortes, heridas y erupciones.
- Si el paciente presenta infección aguda por VHB, administrar a la pareja sexual vacuna anti-VHB en esquema de 3 dosis e IgHB.^{16, 17}

2.5 Historia natural de la enfermedad

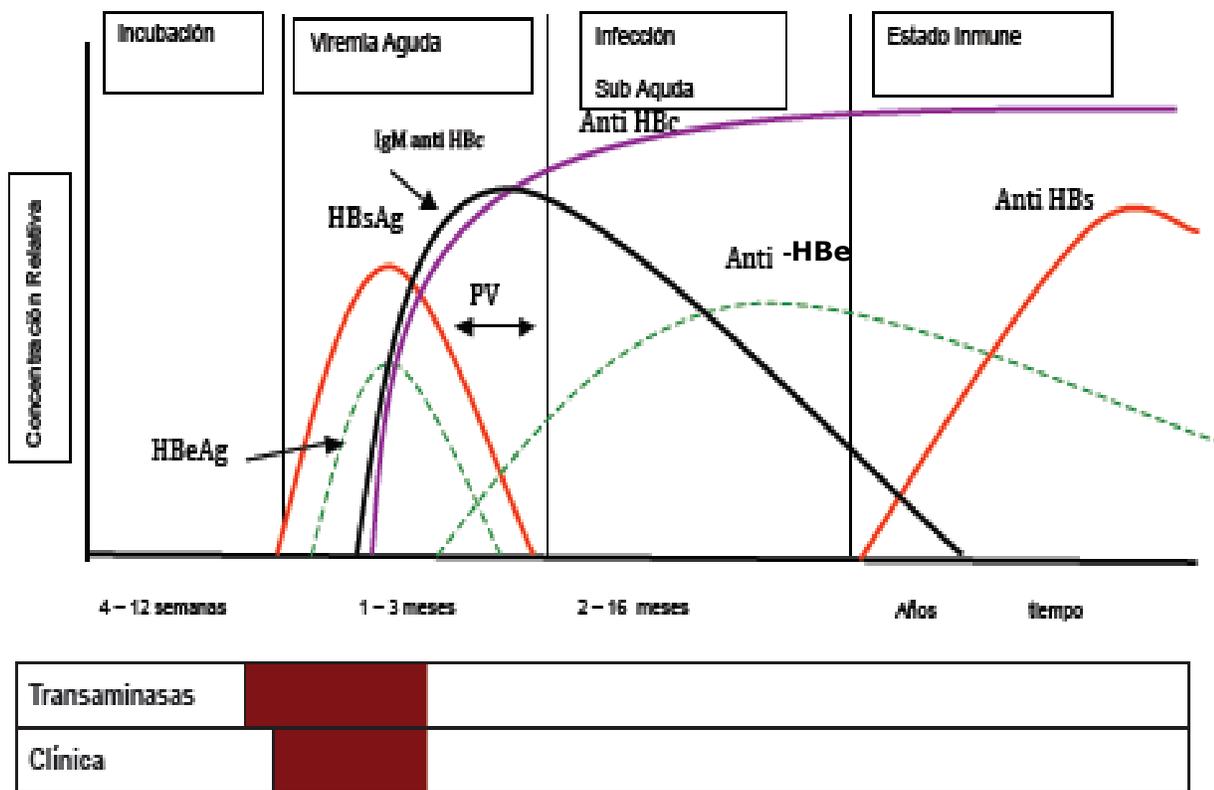
El periodo de incubación de hepatitis B es largo va de 45 a 160 días; 120 en promedio, y generalmente es insidiosa la aparición de los datos agudos de la enfermedad; en el adulto la infección habitualmente no se asocia con una enfermedad sintomática^{4, 18}.

Los síntomas pueden durar de algunas semanas a varios meses e incluyen: Fiebre, cansancio, pérdida de apetito, náuseas, vómitos, dolor abdominal, orina de color oscuro, heces de color gris, dolor en las articulaciones e ictericia¹⁹.

La historia natural del virus demuestra que cuando se presenta una infección aguda, menos del 2% evoluciona a falla hepática fulminante. La mejoría de hepatitis aguda en adultos es de 90 a 95%, y sólo un 5-10% desarrolla infección crónica; en niños, en la temprana infancia hasta un 50% desarrolla cronicidad, y hasta un 90% de recién nacidos de madres infectadas puede evolucionar a cronicidad si no se hacen las medidas preventivas adecuadas. En la infección aguda el primer marcador serológico en aparecer es el HBsAg de 30 a 60 días después de la infección, seguido por el anti-HBc de tipo IgM, aproximadamente uno a dos meses después, como respuesta a la infección, lo cual usualmente coincide con el aumento de las transaminasas en la sangre. Al momento de presentarse la ictericia la mayoría de los pacientes tienen niveles detectables tanto de HBsAg como de anti-HBc IgM. El HBeAg también puede ser detectado en paciente con infección aguda. Los niveles circulantes de ADN virales son altísimos, con valores entre 200×10^6 – 200×10^{12} UI/mL, lo que lo convierte en un virus con capacidad infectiva muy alta. El segundo anticuerpo en detectarse es el

anti-HBe, que representa un signo pronóstico deseable, ya que su producción es precursora de la desaparición de HBeAg y, por tanto de la infectividad. Al disminuir los niveles circulantes del virus, aparecen los niveles de anti-HBs. En un pequeño porcentaje de pacientes puede haber un periodo de transición en el cual no se detecte HBsAg ni anti-HBs, periodo conocido como “ventana core”, en este si se detecta anti-HBc IgM. Luego de la recuperación de la infección aguda, se puede detectar en la mayoría de los pacientes el anti-HBs y el anti-HBc de por vida, lo anterior se explica en la figura 6, la cual nos muestra la evolución de la infección aguda y sus marcadores en cada fase.^{6, 13, 20}.

Figura 6: Evolución serológica típica de una infección aguda por el VHB.¹⁰

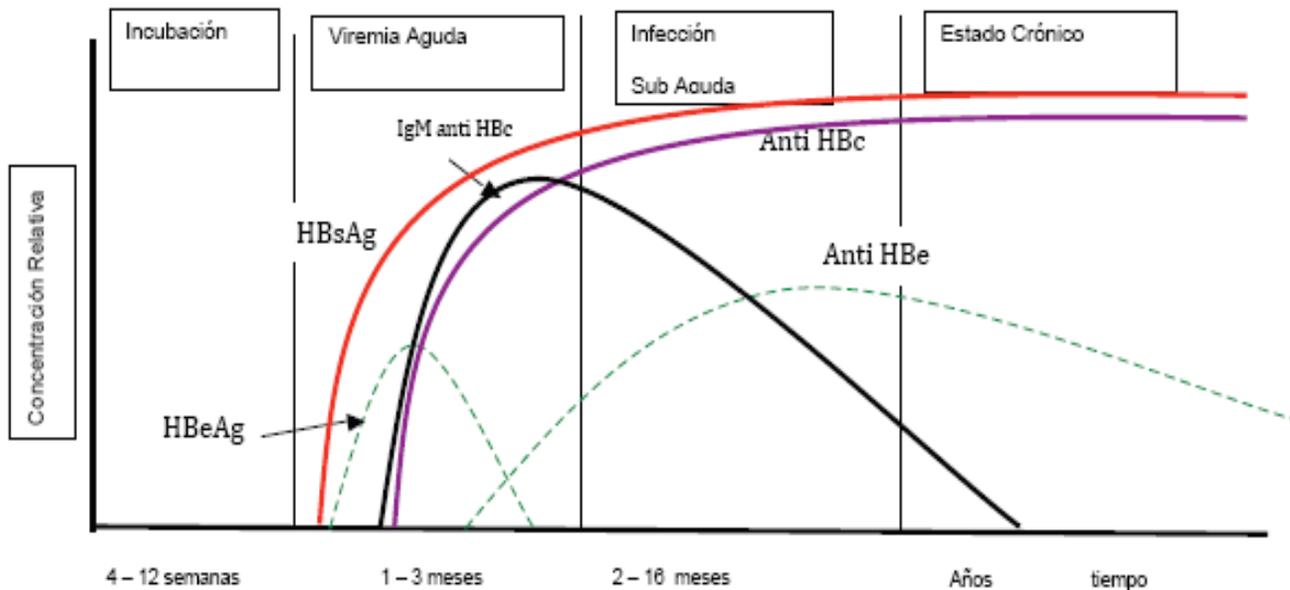


PV: Período de ventana

En el caso de la hepatitis crónica, el paciente no forma anticuerpos anti-HBs y los anti-HBe aparecen tardíamente. Aunque los antígenos HBsAg permanecen en la sangre por muchos años, la función hepática es normal, el paciente se mantiene sano y representa poco o ningún riesgo para los demás. En la figura 7 se muestra gráficamente la evolución serológica típica de la infección crónica de Hepatitis B.

Las secuelas de la infección crónica por el VHB comprenden un amplio rango clínico que va de un estado de portador crónico inactivo al desarrollo de cirrosis, descompensación hepática y carcinoma hepatocelular²⁰.

Figura 7: Evolución serológica típica, progresión a infección crónica por VHB¹⁰



La hepatitis fulminante es muy rara en pacientes pediátricos, y los casos reportados en su mayoría han sido en infantes nacidos de madres portadoras crónicas de HBsAg y HBeAg negativo. La hepatitis fulminante se presenta en menos del 1% de los casos con una mortalidad de 70%. La explicación para la forma fulminante en infantes y adultos es diferente; mientras que en los primeros se aduce que la ausencia de HBeAg en la sangre materna representa una falla para inducir una tolerancia inmunológica, permitiendo así un vigoroso aclaramiento inmune del VHB en el hígado del infante; en el adulto se relaciona a una respuesta

inmune aumentada con un rápido aclaramiento viral, que significa que el HBsAg y el ADN VHB en el suero, pueden ser indetectables en el momento de la presentación clínica y el diagnóstico se hace solo por la presencia de anti-HBc IgM.²⁰

2.6. Hepatitis B oculta o fase HBsAg negativo

La hepatitis B oculta puede definirse como la presencia de ADN del VHB en sangre o tejido hepático de individuos en los cuales no se detecta HBsAg en sangre, y además puede o no detectarse anti-HBc o anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti-HBs).^{11, 21, 22}

En la actualidad la incorporación del diagnóstico molecular al estudio de las hepatitis virales ha permitido la identificación directa de los virus, así como el análisis de la estructura genómica, lo cual permite identificar genotipos y subtipos del mismo virus.¹²

La hepatitis B oculta en individuos aparentemente sanos, se encuentra principalmente en cuatro condiciones clínicas:

- Individuos recuperados de la infección con presencia de anti-HBs,
- Hepatitis crónica relacionada con mutantes del virus que no son reconocidas por los anticuerpos monoclonales o policlonales de las pruebas serológicas utilizadas,
- Hepatitis crónica en “portadores sanos” con anti-HBc total con la presencia de anti-HBe o sin ella, y
- Portadores sanos sin ningún marcador de infección detectable excepto el ADN del VHB.¹¹

Existen varias explicaciones propuestas para la persistencia del ADN-VHB en individuos HBsAg seronegativos que incluyen:

- Integración del genoma viral en cromosomas del hospedero;

- Mutaciones en región de hélice del gen S (que causarían fallas en el diagnóstico);
- Periodo de ventana siguiente a la infección aguda;
- Confección con VHC que compite con VHB;
- Inmunosupresión del hospedero;
- capacidad pobre de detección de HBsAg en laboratorios; así como kits de pruebas serológicas con baja especificidad y sensibilidad para HBsAg, entre otros.⁵

2.6.1 Bases moleculares de HBOc

Las bases moleculares de la presencia de HBOc están relacionadas con la persistencia del ADNccc (ADN covalente circular cerrado) durante periodos prolongados en el núcleo de los hepatocitos. El ciclo de vida del virus es un paso fundamental para el establecimiento del HBOc. El ADNccc, una forma replicativa intermedia, persiste en el núcleo de la célula como un episoma cromatinizado muy estable y sirve como templado para la transcripción genética.⁵

Tanto la estabilidad y persistencia del ADNccc como la vida media larga del hepatocito implican que la infección con VHB posiblemente continúe de por vida en el hospedero. Sin embargo, la HBOc parece estar más ligada a fuerte supresión de la replicación viral, a la expresión genética y a la secreción del virus; en lugar de alta capacidad de integración de su genoma^{5, 23}.

Los niveles bajos de la actividad replicativa serían el resultado de la presencia de partículas defectuosas, mutaciones en las regiones del control de la transcripción o en dominios de la polimerasa que conducen a ineficiente replicación en conjunto con liberación discordante del HBsAg por los hepatocitos. Muchos reportes han encontrado rearrreglos en los genes pre-S1 y S, asociados con expresión reducida de HBsAg.

Las mutaciones en la región del epitopo “a” del gen S se encuentran frecuentemente en muestras de pacientes con HBOc y con diferentes enfermedades hepáticas.

Aunque las bases moleculares para la persistencia del ADN del VHB en ausencia de niveles detectables de HBsAg permanecen sin definir completamente, tampoco se descarta el papel que juega la respuesta inmunológica en la contención de la infección. Se presume que la presión inmunológica humoral y celular sobre las proteínas de recubrimiento del VHB son los principales mecanismos que generan HBOc.

La coinfección con el VHC y con el VHD es otro factor viral asociado al mecanismo generador de HBOc. Se ha demostrado que la tasa de aclaramiento del HBsAg es 2.5 veces mayor en casos positivos para VHC/HBsAg que en aquellos con sólo infección con VHC, sugiriendo que el VHC es el virus hepatotrópico más importante que potencia el aclaramiento del HBsAg en la hepatitis B crónica. Incluso existe una correlación inversa entre la concentración del RNA del VHC y el ADN del VHB.

En personas que han recibido transfusiones sanguíneas infectadas con VHC y VHB, la aparición inicial del HBsAg es a menudo retrasada y posteriormente seguida de un intervalo de detección del HBsAg, y una reducción en los niveles pico del ADN del VHB.⁵

2.6.2 Prevalencia HBOc

La prevalencia de hepatitis B oculta varía según la endemia de VHB en la región: en áreas de baja prevalencia, en no más de 5 % de las unidades de sangre negativas para HBsAg y positivas para anti-HBc, se encuentra ADN del virus de la hepatitis B, mientras que en zonas de alta prevalencia, se encuentra ADN viral en 4 a 25 % de las unidades negativas para HBsAg y positivas para anti-HBc.^{5, 11, 24}

México se ha considerado como una zona de baja endemia; no obstante recientemente se ha demostrado que en el país existen zonas de alta endemia,

principalmente en poblaciones indígenas, al igual que en Centro y Sudamérica. Recientemente se ha descrito una alta frecuencia de hepatitis B oculta en poblaciones indígenas en México; Puesto que la población indígena de México rebasa los 12 millones, el impacto epidemiológico del VHB podría ser mayor de lo que se ha considerado hasta la fecha.¹²

2.7 Diagnóstico de la infección por VHB

En un primer contacto con el virus surgen los síntomas asociados y se producen antígeno y anticuerpos únicos, que hacen posible el diagnóstico del tipo de hepatitis y determinan el estado de infección y el posible pronóstico.

El diagnóstico de laboratorio se basa en la cuantificación, a partir de suero o plasma, de diferentes marcadores serológicos y virológicos que correlacionan con la enfermedad en sus diferentes estadios. Lo importante es saber hacer una correcta interpretación de los mismos. En el cuadro 2 se muestran los resultados para los marcadores serológicos durante el periodo de incubación y los distintos tipos de infección por VHB.^{10, 13}

Cuadro 2: Marcadores serológicos en diferentes fases de la infección¹⁰.

Tipo de infección	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc		HBeAg	Anti-HBe
			IgG	IgM		
Período de incubación tardío	+	-	-	-	+/-	-
Hepatitis aguda	+	-	+	+	+	-
Hepatitis aguda HBsAg-negativa	-	-	+	+	-	-
Portador	+	-	+++	-	-	+/-
Hepatitis B crónica activa	+	-	+++	+/-	+	-
Hepatitis B crónica pasiva	+	-	+++	-	-	+
Infección VHB pasada recientemente	-	++	++	+/-	-	+
Infección VHB pasada distante	-	+/-	+/-	-	-	-
Vacunación reciente	-	++	-	-	-	-

El marcador serológico que se usa de forma habitual para la detección y diagnóstico de VHB es el HBsAg, es una proteína en la superficie del VHB que puede detectarse en el suero durante el período de infección aguda.¹⁶

Los virus con determinadas mutaciones en el determinante “a” del HBsAg, podrían no ser detectables en el tamizaje de los hemoderivados debido a falsos negativos en la detección de HBsAg.¹⁰

El diagnóstico del estadio de la enfermedad se completa por la evidencia de la lesión hepática con pruebas de laboratorio como las Transaminasas (TGO, TGP) y anatomía patológica. La TGO y la TGP se liberan a la sangre cuando el hígado está dañado. El aumento de las concentraciones de estas enzimas es a menudo el primer signo de problemas en el hígado, y el descenso de las mismas muchas veces indica que el tratamiento está resultando eficaz. Sin embargo, muchas personas con hepatitis B tienen el nivel de enzimas hepáticas siempre normal.^{10, 16}

2.7.1 Diagnóstico de HBOc

Para el diagnóstico certero de HBOc es necesario emplear las técnicas adecuadas que aseguren la presencia del ADN del VHB en el hospedero. Muchas personas han sido diagnosticadas con enfermedades erróneas o incluso no diagnosticadas cuando en realidad un ensayo más sensible para buscar el VHB revelaría otra condición.⁵

Para los ensayos NAT se deben cumplir con condiciones adecuadas desde el aislamiento del genoma viral ya que una característica de la HBOc es manifestar niveles muy bajos del genoma viral.⁵

Todos los ensayos dirigidos hacia el diagnóstico de HBOc debieran emplear primers que contengan al menos tres regiones genómicas del VHB ampliamente conservadas como el gen S, X y core. A pesar de dichos estándares internacionales de calidad para la detección del genoma del VHB sigue existiendo una amplia variabilidad en la cuantificación por diferentes ensayos que ocurren aleatoriamente.⁵

2. Planteamiento del problema

Existe un grupo de sujetos portadores del VHB que son asintomáticos, es decir, personas que a pesar de haber sufrido exposición al agente viral no desarrollaron cuadro clínico compatible con hepatitis, o bien, dicho cuadro clínico pasó desapercibido, así mismo existen portadores dentro de este grupo, los cuales no son detectados mediante pruebas de tamizaje habitual mediante la determinación de HBsAg en suero, sin embargo sí es posible detectar anti-HBc y/o anti-HBs en el suero de dichos portadores, lo que se ha denominado HBOc. Por lo tanto existen donantes de sangre portadores de este virus que no son detectados mediante las pruebas de tamizaje a través del HBsAg que se realiza de rutina en los bancos de sangre; razón que ha influido para una prevalencia subestimada de Hepatitis B en donantes de sangre.

El método más adecuado es la identificación a través de NAT; no obstante una prueba confiable cuando no se cuenta con NAT es la identificación de Anti-HBc.

Al implementar la detección ambas pruebas para la detección del VHB (HBsAg y Anti-HBc) en el BSHGR25, se detectó un aumento en la prevalencia de sujetos portadores del VHB.

¿La determinación simultánea de HBsAg y de Anti-HBc permite identificar un aumento en la prevalencia de Hepatitis B en los donantes del BSHGR25?

3. Objetivos:

4.1 Objetivo general

- Identificar el cambio en la prevalencia de Hepatitis B en los donantes de sangre total del BSHGR25, al implementar el Anti-HBc como marcador serológico adicional al HBsAg.

4.2 Objetivos particulares

- Identificar Hepatitis B oculta en donantes de sangre total del BSHGR25 al adicionar pruebas de tamizaje habitual (HBsAg) la determinación de Anti-HBc.

- Conocer la prevalencia de la infección oculta por el virus de la hepatitis B en donantes del BSHGR25.

4. Hipótesis

- Se identificará un aumento de la prevalencia de infección por VHB al comparar la prevalencia de los donantes portadores de Hepatitis B cuando se determinaba sólo el HBsAg y la prevalencia al sumar la determinación del Anti-HBc al HBsAg

5. Diseño experimental

Estudio observacional, comparativo, transversal, retroactivo, en el que se realizó una revisión de los resultados de serología viral de los donantes de sangre total del BSHGR25.

- Población del estudio

Se estudiaron y analizaron estadísticamente los resultados de serología para hepatitis B de los donantes de sangre total del BSHGR25 del periodo comprendido entre el 1º de enero del 2005 y de diciembre del 2012.

- Criterios de inclusión

Se tomaron en cuenta dos criterios de inclusión:

1.- Estudios de serología viral para la detección de hepatitis B con un resultado definido como negativo o positivo.

2.- Que los reportes de la serología viral estén disponibles en el archivo del BSHGR25.

- Criterios de exclusión

Los resultados que no se incluyeron dentro del estudio fueron los resultados dudosos de serología para VHB.

- Variables

1.- HBsAg, Cualitativa nominal positiva o negativa.

2.- Anti-HBc, Cualitativa nominal positiva o negativa.

6.1 Material y métodos

- Bitácoras de registro de resultados de serología y Base de datos Informática en banco de sangre

Se organizaron y revisaron en orden cronológico las bitácoras de trabajo del área de serología viral del BSHGR25. En ellas se llevó a cabo el registro diario de controles positivos y negativos así como los resultados de los donantes de sangre para VHB, VIH y VHC.

Para el periodo de 2008 a 2012, los resultados para serología viral se extrajeron a partir de las bases de datos electrónicas Hexabank y Emodata.

- Hoja de cálculo para registro y concentración de información

Se utilizó Microsoft Excel para concentrar los datos y cálculo de frecuencias relativas, así como realizar gráficas.

Se diseñó una hoja en donde se concentraron los resultados de serología para cada donador, registrándose por día y mes.

- Procedimiento

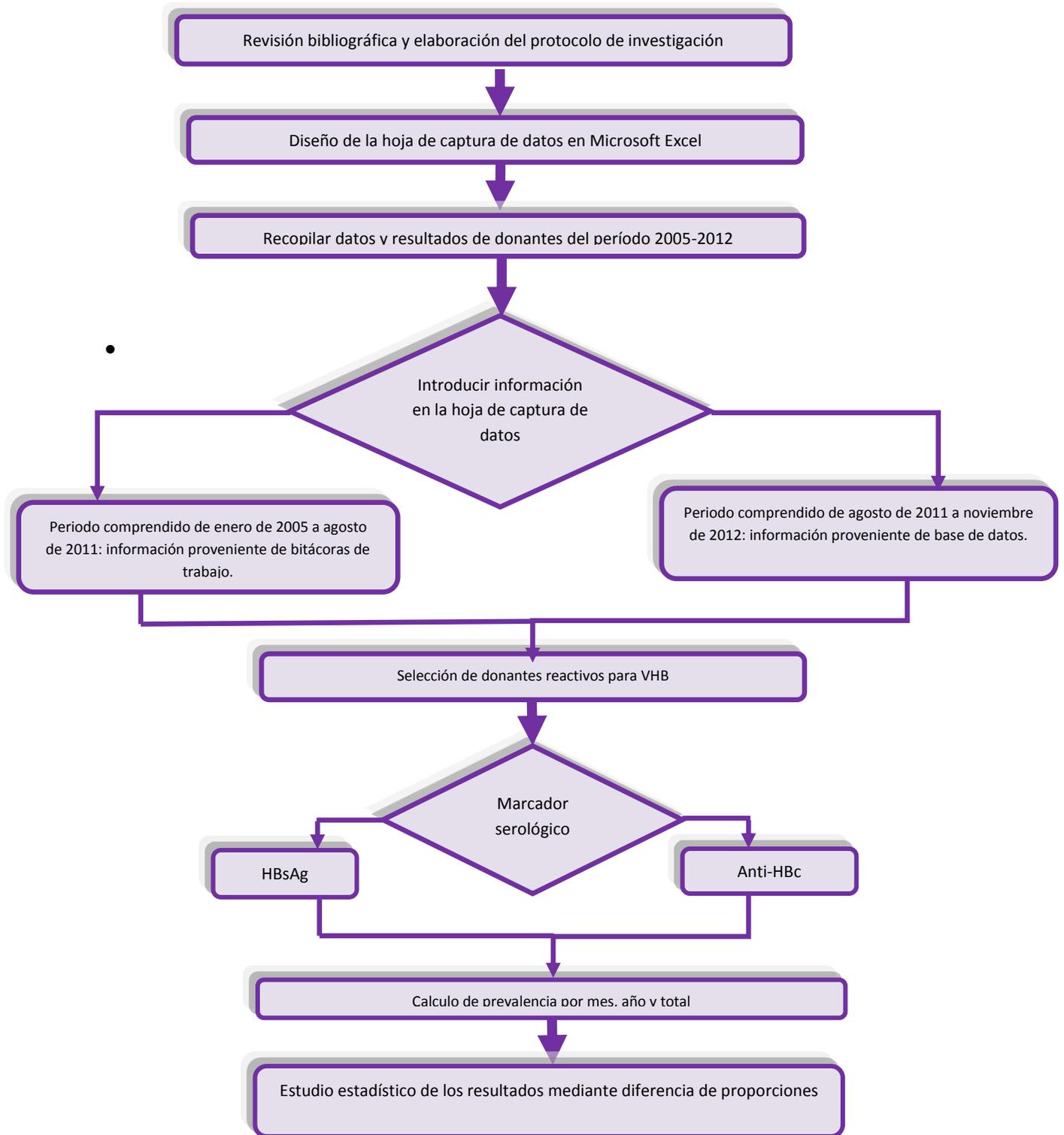
Se recabaron y ordenaron cronológicamente las libretas de serología viral del BSHGR25 y se revisaron para verificar los datos que de ellas se podían obtener.

Una vez realizado lo anterior se diseñó la hoja de cálculo de Microsoft Excel, en donde se concentró la información obtenida de las libretas y en su momento de la base de datos informática. Los datos que se incluyeron en la hoja de cálculo fueron el código del donante, para hepatitis B la reactividad o no reactividad de HBsAg y anti-HBc, así como para VIH y VHC para verificar si existía una confección con otro agente viral. Para mantener la confidencialidad de los resultados de serología, como lo marca la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, no se incluyó el nombre de los donantes.

Se prosiguió a concentrar la información en la hoja de cálculo día por día hasta registrar cada mes. En cada hoja se introdujo en orden cronológico a cada uno de los donantes y los resultados obtenidos, de esta manera se realizó para la información de todo el estudio.

Se marcaron y contaron aquellos donantes que presentaban reactividad a cualquier marcador, posteriormente se prosiguió a calcular frecuencias relativas y graficar los resultados obtenidos.

- Diagrama de flujo



Diseño estadístico

Se utilizaron frecuencias y porcentajes como pruebas descriptivas las cuales se compararon con la prueba de χ^2 . Se consideró una prueba estadísticamente significativa con un valor de $p < 0.05$.

6. Resultados

Durante el periodo en estudio, comprendido entre enero de 2005 a diciembre de 2012, se registraron 47 012 donantes en el BSHGR25, de los cuales 71 presentaron reactividad a HBsAg calculando una prevalencia de 0.15% (IC 95% de 0.12-0.19) de donantes con reactividad a este marcador en el BSHGR25.

La población fue dividida en dos grupos para su estudio y análisis de los resultados:

Grupo I: Todos aquellos sujetos que hayan completado el proceso de donación de enero de 2005 a julio de 2008. El número total de sujetos registrados en este grupo fue de 17 679. Se consideró a este grupo como control ya que para la detección de VHB solo se realizó la prueba de HBsAg, determinándose reactividad a este marcador en 15 de estos sujetos, calculándose una prevalencia de 0.085% (IC 95% 0.042 – 0.127%) de donantes reactivos a HBsAg.

Grupo II: Se consideró dentro de este a todos aquellos sujetos que hayan completado el proceso de donación de agosto de 2008 a diciembre de 2012. Para la detección de VHB de este grupo se analizó la presencia de HBsAg y anti-HBc (IgG +I gM) simultáneamente en las muestras de suero pertenecientes a estos donantes.

El número total de sujetos registrados en este grupo fueron 29 333 con una seroprevalencia identificada a través del HBsAg de 0.19% (IC del 95% 0.15 – 0.23%) y para el anti-HBc de 1.18% (IC del 95% 1.06 – 1.31%). En el cuadro 3 se resumen los resultados obtenidos en este grupo así como en el grupo I.

Cuadro 3: Resultados obtenidos para cada grupo, mostrando prevalencias calculadas, número total de donantes y marcador analizado.

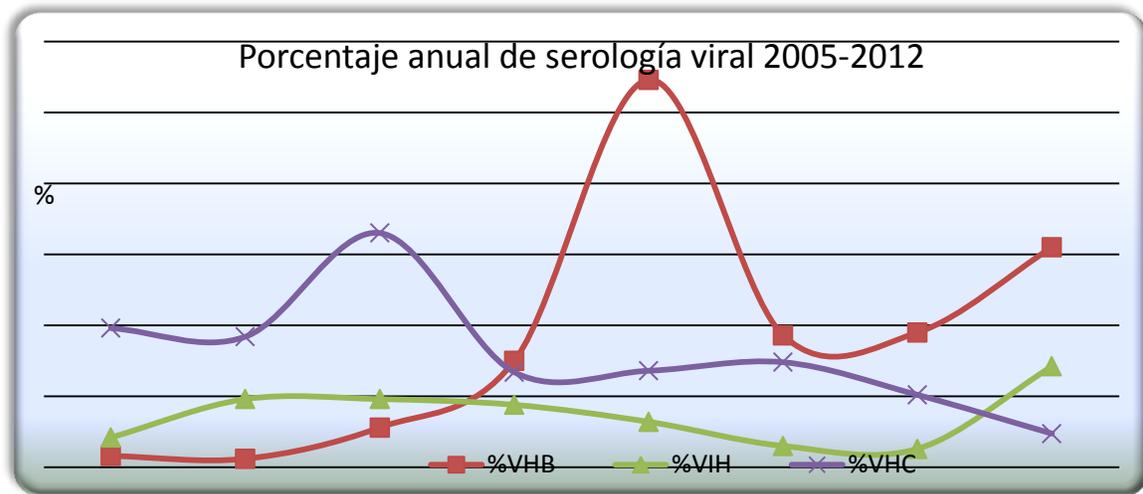
Grupo	Número de donantes	Prevalencia de VHB (%)	Marcador detectado	Número de donantes reactivos	Prevalencia marcador (%)	IC 95%
I	17 679	0.085	HBsAg	15	0.085	0.042 - 0.127
II	29 333	1.37	HBsAg	56	0.19	0.15 – 0.23
			Anti-HBc	347	1.18*	1.06 – 1.31

* Prueba de χ^2 , $p < 0.05$ HBsAg vs Anti-HBc

A cada donante efectivo se le realizan pruebas serológicas de detección de distintos agentes patógenos capaces de ser transmitidos mediante transfusión sanguínea o de algún hemoderivado, dentro del panel de pruebas realizadas en el BSHGR25 se encuentran detección de anticuerpos contra VIH, VHC, además de las pruebas antes mencionadas para detectar VHB.

Para poder comparar el comportamiento de la prevalencia de hepatitis B y corroborar que no existiera algún agente externo que influyera en este comportamiento, se estudió también la frecuencia de detección de sujetos portadores de VHC y VIH.

Figura 8: Comportamiento de la reactividad de VIH, VHC y VHB durante el periodo comprendido de enero de 2005 a diciembre de 2012.

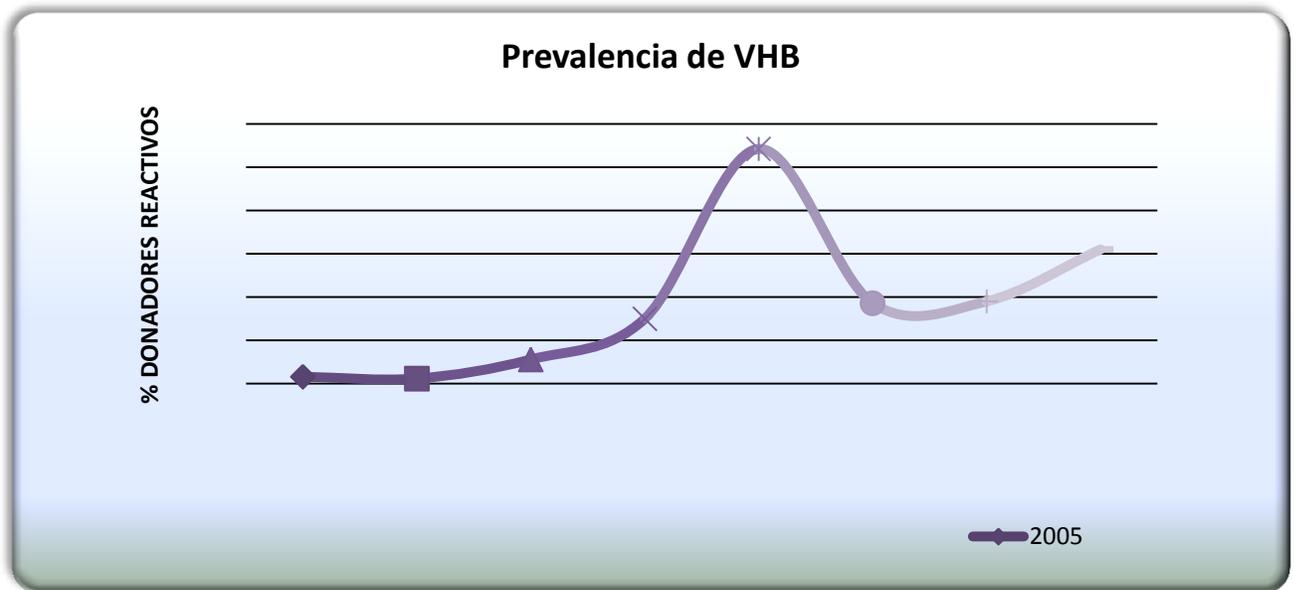


La infección causada por VHB presentó una variación sobresaliente tomando valores que van desde 0.1% hasta llegar casi a 3% durante 2008, a diferencia de la frecuencia que se observó de VIH, la cual se mantuvo con valores menores a 0.5%, excepto durante el año 2012 que alcanzó un máximo llegando a 0.71% nada similar al pico alcanzado por VHB que fue de 2.73%. Sin embargo a diferencia de los dos anteriores la prevalencia de VHC se encuentra en descenso en los donantes de sangre del BSHGR25, la cual en 2005 se encontraba cercana a 1% y en 2012 llegó a 0.24% (Figura 8).

Una vez obtenidos los datos anteriores se realizó el análisis a los resultados de serología correspondientes sólo a Hepatitis B (cuadro 4).

Se muestra el comportamiento de la prevalencia de VHB durante el periodo en estudio, en este se observa de forma clara el aumento en la frecuencia relativa de sujetos reactivos al VHB en la población de donantes de sangre del BSHGR25, al implementarse la prueba de detección serológica de anti-HBc (figura 9).

Figura 9: Frecuencia relativa de VHB en los donantes de sangre del BSHGR25 durante el periodo estudiado.



* Introducción de Anti-HBc como marcador serológico para la detección de VHB

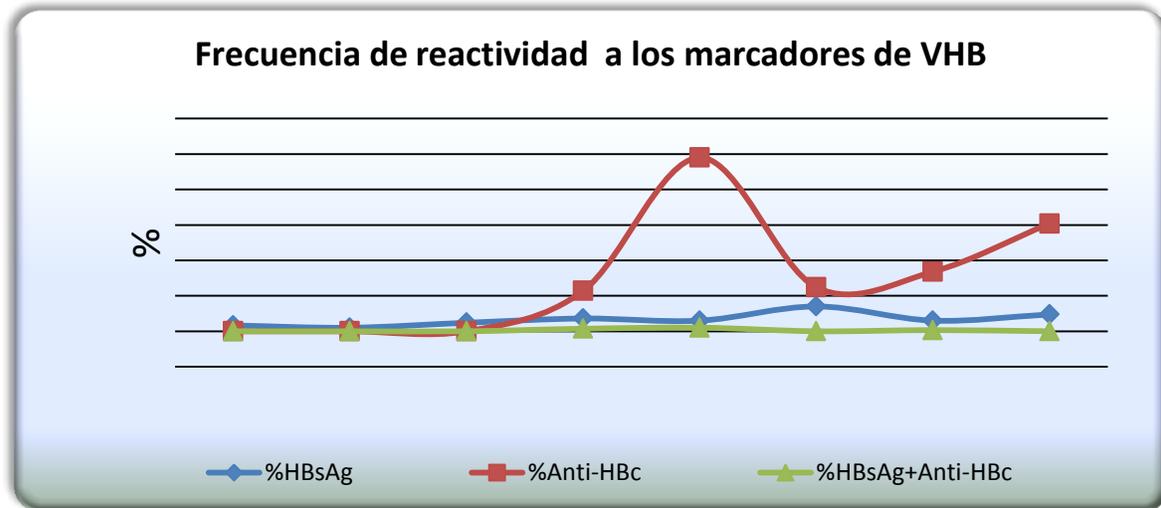
Cuadro 4: Porcentaje de sujetos reactivos a las pruebas de detección de HBsAg y anti-HBc.

AÑO	%VHB	%HBsAg	%Anti-HBc	%HBsAg+Anti-HBc	Donantes
2005	0.082	0.082	NSR	NA	6117
2006	0.05	0.05	NSR	NA	5717
2007	0.12	0.12	NSR	NA	5845
2008	0.75	0.18	0.57	0.04	5579
2009	2.73	0.15	2.45	0.05	5889
2010	0.93	0.35	0.62	0	5448
2011	0.95	0.15	0.84	0.02	6102
2012	1.55	0.24	1.52	0	6315
TOTAL	7.16	1.32	6.00	0.10	47012

NSR: No se realizó

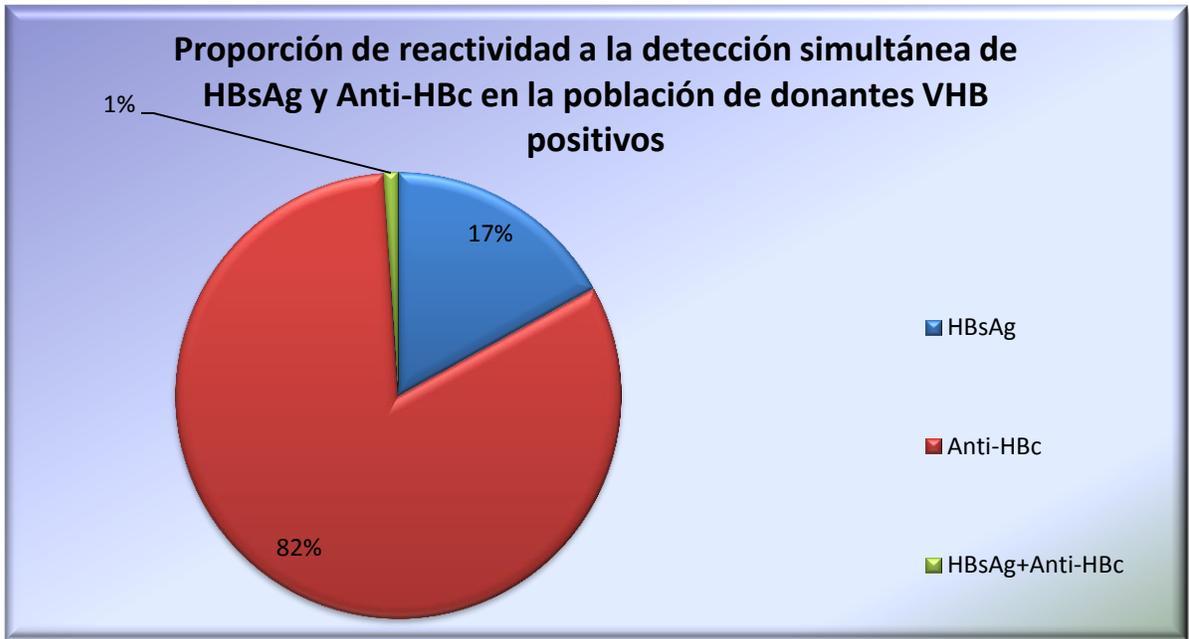
NA: No aplica

Figura 10: Comparación de la frecuencia con la que se presenta HBsAg y anti-HBc. Se muestra la diferencia de prevalencia de estos dos marcadores serológicos para VHB



Durante los siete años incluidos en el análisis la prevalencia de HBsAg se mantiene constante dentro de un rango de variación que va desde 0.08 a 0.35% de donantes con reactividad a este marcador, no así el anti-HBc, el cual muestra un valor aun mas elevado de sujetos con reactividad para este marcador manteniéndose en un rango de 0.57 a 2.45% de portadores de este anticuerpo (figura 10).

Figura 11: Proporción de reactividad a la detección simultánea de HBsAg y anti-HBc en la población de sujetos reactivos a estos marcadores serológicos en el periodo comprendido de enero de 2005 a diciembre de 2012.



8. Discusión

Durante los últimos años se han implementado esquemas de seguridad transfusional que han disminuido la tasa de infección postransfusional de agentes como el VIH y el VHC a valores menores a uno, sin embargo, a pesar de la sensibilización de pruebas serológicas para la detección del VHB, la implementación de interrogatorios así como cuestionarios médicos y últimamente la implementación de pruebas de detección de ácidos nucleicos, la infección postransfusional por este agente no ha desaparecido, incluso no ha disminuido a la misma velocidad que la prevalencia de la infección causada por el VIH o el VHC.²⁵

Se ha demostrado que la disminución en el número de bolsas transfundidas de sangre infectada con el VIH y VHC ha sido progresiva y significativa durante las últimas décadas. Para el año 2003 se calculó que la probabilidad de transfundir un paquete de sangre infectada con estos agentes es de aproximadamente una de cada 1 900 000 bolsas transfundidas en el caso del VIH y de una de cada 1 600 000 bolsas transfundidas para el VHC. Por el contrario, en el caso del VHB la disminución en el número de paquetes de sangre contaminada con este virus ha sido menor que en el caso del VIH y el VHC, existiendo la probabilidad de transfundir una bolsa infectada de cada 180 000 bolsas transfundidas¹.

Sin embargo en el caso del BSHGR25 la prevalencia de VHB ha ido en aumento, ya que en 2005 la frecuencia relativa de sujetos portadores de HBsAg fue de 0.08% y durante los años posteriores el aumento fue gradual hasta llegar a 0.35% en 2010 y 0.24% en 2012, lo anterior es indicativo de que el número de sujetos portadores del virus ha ido en aumento durante los últimos años, sin embargo, después de la implementación de la prueba serológica para la detección del anti-HBc, el porcentaje de donantes portadores del virus aumento de forma dramática llegando a 2.73% en 2009.

Antes de la adición del anti-HBc como prueba de tamizaje en los donantes de sangre, se detectaban aproximadamente entre 3 y 7 sujetos con reactividad para VHB al año, es decir menos de un sujeto reactivo para este agente cada mes;

después de este cambio en el panel de pruebas para la detección de VHB el número de sujetos con reactividad a este llegó a ser desde 40 hasta 161 donantes reactivos por año, observándose meses en los cuales el número de sujetos portadores ya sea de HBsAg y/o de anti-HBc llegó a ser de 20 a 25.

Es necesario mencionar que de la población de sujetos que presentaron reactividad a estos marcadores conformada por 424 donantes, sólo el 18% de ellos presentaron reactividad al HBsAg y cerca del 81% resultó ser reactivo al anti-HBc sin poseer el HBsAg, además existe un grupo reducido de sujetos que poseen ambos marcadores llegando a ser únicamente el 1% del total de esta población.

Para dar una explicación a este comportamiento por parte del VHB se han realizado investigaciones que han arrojado que existen sujetos en los cuales no es posible detectar el HBsAg, y que sin haber presentado actual o anteriormente datos clínicos de la infección son portadores del virus, ya sea por encontrarse en periodo de ventana, o por presentar una entidad denominada hepatitis B oculta, que se define como: la presencia de ADN del VHB en sangre o tejido hepático de individuos en los cuales no se detecta HBsAg en sangre, y además puede o no detectarse anti-HBc y/o anti-HBs.²⁶

Para disminuir el riesgo transfusional de transmitir este virus de forma oculta se han utilizado pruebas de detección de ácidos nucleicos, sin embargo el costo de estas pruebas es muy elevado e incosteable para muchos establecimientos y por ello no se incluye dentro de las pruebas de tamizaje para los donantes de sangre, salvo aquellos casos en que las instituciones cuenten con los recursos necesarios.

La OMS estima que menos del 2% de la población de México se encuentra infectada con el VHB⁶, lo que convertiría a México en una zona de baja endemia, sin embargo, estudios realizados por distintos investigadores muestran que esta cifra se encuentra subestimada. Es difícil definir concretamente la prevalencia VHB, considerando que se ha demostrado que la distribución de este agente no se distribuye de forma heterogénea, por el contrario existen distintos factores como la edad, sexo, nivel socioeconómico, lugar de residencia, entre otros favorecen este

comportamiento en la epidemiología de esta infección³⁶. Valdespino JL y col.³⁴ demuestran lo anterior, aportando la prevalencia de Anti-HBc y HBsAg y la variación de la misma en diferentes sectores de la población mexicana, analizando los distintos factores que pudieran afectar o modificar la prevalencia.

Lo anterior explica la diferencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo y lo reportado en la literatura.

En 2008 la prevalencia del HBsAg calculada para los donantes de sangre del BSHAGR25 fue de 0.18%, muy similar a la reportada por Arroyo J y col.³⁵ la cual fue de 0.19%.

En 2011 un estudio realizado en México arrojó una prevalencia del 2.9%¹³, utilizando como marcador serológico al HBsAg. Para este mismo año en el BSHGR25 la prevalencia del HBsAg fue 0.15%.

Por otro lado, el descubrimiento de la HBOc es un factor que se debe tomar en cuenta, ya que estos sujetos al no presentar reactividad al HBsAg no son considerados dentro del grupo de personas portadoras del virus y la prevalencia del VHB se podría encontrar subestimada. Recientemente se ha descrito una alta frecuencia de hepatitis B oculta en poblaciones indígenas en México; puesto que la población indígena de México rebasa los 12 millones, el impacto epidemiológico del VHB podría ser mayor de lo que se ha considerado hasta la fecha.¹²

Es aquí en donde la determinación serológica de anti-HBc total toma relevancia, además conocer la historia natural de la enfermedad, ya que estos anticuerpos se mantienen presentes en cada una de las fases de la infección, sin importar si esta se presentó de forma aguda o crónica.

La producción de anti-HBc es la respuesta humoral a la presencia en suero del HBcAg. Aparece casi simultáneamente a la detección del HBsAg durante los primeros tres meses a partir de la infección y permanece después de la resolución de la infección quedando como prueba de haber estado en contacto con el VHB. Durante la respuesta inmune a esta infección como en cualquier otra existe la producción de anticuerpos tipo IgM e IgG¹⁰.

Durante la infección aguda, estos anticuerpos son predominantemente de clase IgM (IgM anti-HBc) y representan el único marcador de infección por el VHB durante el período ventana, entre la desaparición del HBsAg y la aparición de los anti-HBs. Aunque se consideran como un marcador de infección aguda por el VHB, los anticuerpos anti-HBc pueden persistir y detectarse hasta 2 años después de la fase aguda, e incluso incrementar sus títulos durante las exacerbaciones de la hepatitis B crónica.

Los IgM anti-HBc son los primeros anticuerpos en detectarse en suero, ya que son producidos en forma temprana por el sistema inmune en respuesta contra la infección. Aparecen en suero casi simultáneamente con el HBsAg durante los primeros tres meses de la infección cuando el sujeto aún presenta viremia aguda, el pico máximo de concentración en suero del IgM anti-HBc se presenta casi al final del periodo de ventana y posteriormente comienza a descender hasta desaparecer años después de la aparición del anti-HBs.

Los anticuerpos de clase IgG (IgG anti-HBc) acompañan a los anti-HBs en pacientes que se recuperan de una hepatitis B aguda y persisten en asociación con el HBsAg en los que progresan a infección crónica. Dada la persistencia de estos anticuerpos en el suero, su hallazgo en solitario puede reflejar una infección pasada y resuelta.

Al igual que los IgM anti-HBc, los IgG anti-HBc aparecen durante los primeros tres meses de la infección y alcanzan el pico máximo de concentración en suero al final del periodo de ventana, sin embargo a diferencia de los primeros, IgG anti-HBc mantiene su concentración constante a lo largo del tiempo y no desaparecen aun años después de pasada la infección aguda. Manteniéndose como testigo silencioso de que el sujeto estuvo en contacto con el VHB.

Algunos investigadores recomiendan la implementación de la prueba de detección de anti-HBc en donantes de sangre y con ello disminuir el riesgo de transmitir el VHB a través de esta vía, ya que con este marcador es posible detectar a aquellos sujetos que se encuentran en periodo de ventana o que hayan estado en contacto con el virus y que puedan ser portadores del virus sin presentar HBsAg en suero y

tampoco presentar o haber presentado datos clínicos de la enfermedad actual o anteriormente y por lo cual sean aceptados como donantes aptos, ya que aparentemente no presentan la infección.

Recientemente se han realizado investigaciones para demostrar la utilidad de la detección del anti-HBc, como prueba de tamizaje para los donantes de sangre y así disminuir el riesgo transfusional, entre ellos encontramos el estudio realizado por Mohammad y col en la India en 2010²⁵, en el que se analizó una población de 2 175 donantes de sangre voluntarios, de los cuales 413 (19.8%) resultaron reactivos para anti-HBc y no reactivos para HBsAg, estos donantes fueron divididos en dos grupos, el grupo I estaba conformado por aquellos donantes que fueron reactivos solo para anti-HBc (12.4%, 19/153) y el grupo II por aquellos donantes reactivos a anti-HBc y anti-HBs (4.6%, 12/260).

A los sujetos de ambos grupos se les realizó la búsqueda de ADN VHB mediante la técnica de PCR encontrando ADN VHB en el suero de 12.4% de los sujetos del grupo I (19/153) y en 4.6% de los sujetos del grupo II.

En un estudio realizado en Italia por Manzini y col en 2011, se sometió a una población de 6 313 donantes de sangre a pruebas serológicas para la detección de VHB, de los cuales 305 donantes fueron no reactivos para HBsAg y reactivos para anti-HBc, de estos sólo 288 se analizaron mediante PCR para la detección de ADN VHB. Este análisis arrojó que de las 288 muestras 16 (5.55%) resultaron positivas para ADN VHB.²⁷

Ochoa y col, reporta una alta prevalencia de ADN VHB en predonantes de sangre seleccionados mediante la premisa de ser HBsAg negativos y anti-HBc positivos. Los resultados de este proyecto arrojaron una prevalencia 14.9% (29/195) de ADN VHB en los sujetos que cumplían con el perfil serológico.²⁸

Panigrahi y col reportó una prevalencia de 30.1% (220/729) de donantes HBsAg negativos con reactividad a anti-HBc, de los cuales 30% (66/220) presentaron ADN VHB en suero.²⁹

La prevalencia del HBsAg varía geográficamente y México como otros países latinoamericanos es considerado de baja endemia, sin embargo se ha reportado

alta prevalencia de anti-HBc en poblaciones del sureste de México (91.1%).³⁰ Garcia-Montalvo y *col*, estudiaron una población de 20 328 donantes de sangre, 372 (1.8%) de ellos resultaron HBsAg negativos y anti-HBc positivos, mediante PCR encontraron que 6.4% de ellos eran portadores de ADN VHB.³¹

En la población de donantes de sangre total del BSHGR 25 que fue de 47 012, 347 de ellos presentaron reactividad a anti-HBc, si tomamos como referencia lo reportado por Garcia-Montalvo y *col*²⁹ para la población mexicana, aproximadamente el 6.4% de los donantes de sangre del BSHGR25 serían portadores del ADN VHB, y con ello poseerían la capacidad de transmitir dicha infección. Lo anterior nos daría como resultado que aproximadamente 22 de los 347 sujetos reactivos a anti-HBc serían portadores de ADN VHB. Es necesario tomar en cuenta que cada paquete de sangre total se fracciona en cuatro productos derivados de esta, con lo cual obtendríamos aproximadamente 88 hemocomponentes infectados y con la capacidad de transmitir el VHB. Un factor importante que se debe tomar en cuenta para inferir acerca de la frecuencia con la que se presentan donantes con capacidad infectiva y los cuales no es posible detectar mediante la detección del HBsAg es que la prevalencia de anti-HBc se asocia con la edad, residencia en áreas rurales, bajo nivel socioeconómico y analfabetismo.³²

9. Conclusiones

La infección postransfusional por el VHB a mantenido su prevalencia mostrando un descenso mínimo comparado con la disminución significativa mostrada por el VIH y el VHC, esto ha motivado a las instituciones de salud y bancos de sangre a implementar medidas como cuestionarios sobre actividades de riesgo, además de la implementación de nuevos marcadores serológicos para la detección de esta infección en los donantes efectivos de sangre.

Dadas las características genéticas y epidemiológicas del VHB, pese a los intentos y programas implementados para erradicar este agente infeccioso no se han logrado avances significativos en este punto. Esto ha llevado a investigar el porqué de este comportamiento, las investigaciones realizadas alrededor del mundo en los últimos años han logrado determinar la existencia de una entidad denominada Hepatitis B oculta, definida anteriormente.

En el BSHGR25 se implementó la prueba para la detección del Anti-HBc con el motivo de disminuir la probabilidad de ser infectado por el VHB mediante transfusión de hemocomponentes provenientes de aquellos sujetos que se encuentran infectados por el VHB en su modalidad oculta. Al realizar en análisis estadístico se reveló que efectivamente los sujetos reactivos al Anti-VHB superan en número a aquellos que presentan reactividad al HBsAg y que incluso estos sujetos pueden o no presentar reactividad a este último; esta premisa como se mencionó anteriormente forma parte de la definición de la Hepatitis B oculta.

Existe evidencia que demuestra que existe un significativo número de sujetos que no presentan reactividad al HBsAg pero si al Anti-HBc poseen genoma viral. Si traslapamos estas estadística y más aún si tomamos en cuenta que la población de donantes de sangre del BSHGR25 proviene de zonas suburbanizadas y que además cuentan con bajo nivel educativo, esto nos daría como resultado una población con alta probabilidad de poseer una alta prevalencia de HBOc.

Por lo tanto se concluye que la detección simultánea de ambos marcadores es útil para disminuir el número de infecciones postransfusionales de Hepatitis B

Si bien es cierto que la transfusión sanguínea puede salvar vidas, también es cierto que puede llegar a ser perjudicial, es por eso que debemos tomar conciencia de las implicaciones que conllevan realizar una transfusión sanguínea y aplicar nuestros conocimientos para evitar en la medida de lo posible las infecciones postransfusionales de cualquier agente ya sea prion, virus o bacteria, buscando nuevas alternativas para conseguir la seguridad de los componentes sanguíneos destinados al tratamiento terapéutico de las distintas enfermedades.

10. Referencias

1. Busch M, Kleinman S, Nemo G. Current and Emerging Infectious Risks of Blood Transfusions. *JAMA*. 2003; 289(8):959-962
2. Rivera M, Zavala C, Arenas A. Prevalencia de seropositividad para VIH, hepatitis B y C en donadores de sangre. *Gac Méd Méx*. 2004; 140(6):657-660
3. Vázquez J, Valiente L, Marín R, Sánchez S. La seguridad de las reservas sanguíneas en la República Mexicana durante los años 1999 a 2003. *RIC*. 2006; 58(2):101-108
4. Ruiz J, Márquez S. Evaluación de las técnicas de amplificación genómica (NAT) para el tamizaje de hepatitis B en donantes de sangre. Revisión sistemática. *Invest Clin*. 2010; 51(3): 341 – 349
5. Secretaria de Salud, Dirección General de Epidemiología. Manual para la vigilancia epidemiológica de la Hepatitis Virales. México; 1993
6. Macías M, García R. Infección oculta del virus de Hepatitis B: Un enemigo silencioso. *Universalud*. 2012;8(15):57-65
7. Toro A, Restrepo J. Hepatitis B. *Med Lab*. 2011; 17(7-8):311-330
8. Sánchez L, Panduro A. Genómica y proteómica del virus de la Hepatitis B. *Inv. Salud*. 2005; 7:12-18
9. Fierro N, Román S, Realpe M, Hernández Z, Zepeda E, Panduro A. Multiple cytokine expression profiles reveal immune-based differences in occult hepatitis B genotype H-infected Mexican Nahua patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011; 106(8): 1007-1013
10. Aguilar J. Efecto adyuvante de los antígenos de la superficie y la nucleocápsida del virus de la hepatitis B y su utilidad en el desarrollo de candidatos vacunales. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. 2007

11. García Z, Torres L. Diagnóstico Serológico del Virus de la Hepatitis B. Rev Costarricense de Cienc Méd. 2006; 27(3-4):143-154
12. Bertrán M, Berrío M, Bermúdez M, Rey G, Camacho B, Forero P. Detección de hepatitis B oculta en donantes de bancos sangre. Biomédica. 2011; 31(4): 580-589
13. Panduro A, Escobedo G, Fierro N, Ruiz B, Zepeda E, Román S. Epidemiología de las hepatitis virales en México. Salud Pública Méx. 2011; 53:37-45
14. Idrovo V. Hepatitis por virus B. Rev Col Gastroenterol. 2007; 22(2): 111-117
15. Cabezas C, Donayre F. Gestación e infección por el virus hepatitis B. Rev Per Ginecol Obstet. 2010;183-192
16. Valdés E, Sepúlveda A, Lattes K. Hepatitis aguda viral durante el embarazo. Rev Chil Infect. 2010;27(6):505-612
17. Franciscus A, Highleyman L. Guía para comprender la Hepatitis B. Hepatitis C Support Project. 2008;4(1):2-12
18. Ministerio de Salud. Guía Clínica de Manejo y Tratamiento de la Infección por Virus de la Hepatitis B (VHB). Santiago: MINSAL 2010.
19. Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento de la Infección Crónica por el Virus de Hepatitis B, México: Secretaria de Salud;2009
20. Departamento de Salud y Servicios Humanos. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades División de Hepatitis. Hepatitis B, Información General. 2010. Publicación No. 220372
21. Vildózola H, Salinas J. Historia Natural de la Infección Crónica por el Virus Hepatitis B. Rev. Gastroenterol. 2009; 29(2): 147-157
22. Heathcote J . Hepatitis B. World Gastroenterology Organization Practice Guideline. 2008

23. Zahn A, Chengyao L, Danso K, Candotti D. Molecular characterization of occult hepatitis B virus in genotype E-infected subjects. *J Gen Virol.* 2008; 89: 409–418
24. Larrubia J. Occult hepatitis B virus infection: A complex entity with relevant clinical implications. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(12): 1529-1530
25. Samal J, Kandpal M, Vivekanandan. Molecular Mechanisms Underlying Occult Hepatitis B Virus Infection. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25(1): 142-163
26. Asim M, Ali R, Khan L, Husain S, Singla R. Significance of anti-HBc screening of blood donors & its association with occult hepatitis B virus infection: Implications for blood transfusion. *Indian J Med Res.* 2010; 132:312-317
27. Saez A. Importancia del test para detección de anti-HBc (IgG) en el tamizaje serológico de donantes de sangre. *NotiWiener.* 2009; 144: 1-4
28. Manzini P, Girotto M, Borsotti R, Giachino O, Guaschino R. Italian blood donors with anti-HBc and occult hepatitis virus infection. *Haematol J.* 2007; 92(12):1664.1670
29. Ochoa M. Presencia ADN del VHB en donantes potenciales de sangre con ANTI HBc positivo Y HBsAg negativo. Hospital de Apoyo de Huanta – Ayacucho. Instituto Nacional de Salud. 2007
30. Panigrahi R, Biswas A, Datta S, Banerjee A. Anti-hepatitis B core antigen testing with detection and characterization of occult hepatitis B virus by an in-house nucleic acid testing among blood donors in Behrampur, Ganjam, Orissa in southeastern India: implications for transfusion. *Virol J.* 2010, 7(1):1-7
31. Juárez L, Uribe F, Conde C, Sánchez M. Marcadores serológicos de hepatitis B y C, y VIH en La Calera y Cuambio, Guerrero, México. *Salud Pública Méx.* 2011;53(1): 32-36

32. Garcia B, Ventura L. Molecular and serological characterization of occult hepatitis B infection in blood donors from Mexico. *Annals of Hepatol.* 2011; 10 (2): 133-141
33. Juárez L, Uribe F, Conde C. Heterogeneous distribution of hepatitis B serological markers in rural areas of Mexico. *Salud Pública Méx.* 2011;53(1): 26-31
34. Valdespino J, Conde C, Olaiz G, Palma O, Sepúlveda J. Prevalencia en México de la infección y el estado de portador de la hepatitis B en adultos. *Salud pública Méx.* 2007; 49(3):404-411
35. Arroyo J, Estrada J, Rojo J. Prevalencia del virus de la hepatitis B en donadores de sangre mexicanos. *Rev Méd Hosp Gral Méx.* 2010;73(2):83-87
36. Nahum M, Baptista H, Sánchez R, Bordes J, Uribe M. Prevalencia de hepatitis B y C en donadores de sangre en un hospital de tercer nivel de la ciudad de México. *Salud Pública Méx.* 1999;41(6):475-478