

Hepatitis crónica persistente

Es prácticamente un concepto histológico más que clínico, pues el paciente suele estar totalmente asintomático, pero con alteraciones leves en los niveles de transaminasas (4 a 6 veces lo normal), sin hepatomegalia o muy leve y blanda y la histología hepática solo demuestra diferentes grados de infiltrado inflamatorio portal, sin necrosis paracelular. Todo esto corresponde a manifestaciones no típicas en la serología por hepatitis, como veremos en otro capítulo.

Hepatitis crónica activa

Puede ser la continuación de una hepatitis viral aguda, como ya se describió, pero a veces, es la primera manifestación de la enfermedad, en que el paciente no tuvo suficientes manifestaciones clínicas de la fase aguda y con mucha frecuencia no tiene recuerdo de la vía de inoculación del virus, el cual, subrepticamente, comenzó a replicarse en el hepatocito y pasa el período prodrómico y de estado agudo en forma totalmente asintomática y paulatinamente (raramente en meses, generalmente en años), pasa a la etapa crónica activa.

Con mucha frecuencia, el diagnóstico se hace cuando un paciente se practica exámenes de rutina para control de su estado de salud o cuando va a donar sangre y entonces se encuentran aumentos variables en las transaminasas, generalmente muy leves (entre 70 y 200 UI), que inducen al médico a solicitar serología por hepatitis y entonces se encuentran el HBsAg y el HBe presentes. En otras ocasiones, es un hallazgo clínico, cuando el paciente acude donde el médico por otra dolencia y este se encuentra una hepatomegalia y a veces esplenomegalia sin explicación aparente. A estas alturas, las pruebas de función hepática pueden estar tanto más alteradas cuando más evolucionada esté la enfermedad, pero en general se observan aumentos de las transaminasas inferiores a 500U/L, leve inversión albúmina-globulínica, más por hiperglobulinemia que por hipoalbuminemia, poco o nulo aumento de las bilirrubinas, aunque sí, un aumento variable de la fosfatasa alcalina y la GGT.

Esta forma crónica puede durar años, tiene características histológicas y de marcadores virales bien establecidos, como serán analizados en otros capítulos y el camino final es la cirrosis hepática y eventualmente, el carcinoma hepatocelular, por las características oncogénicas de estos virus tipo B, algunos subtipos más que otros. En este período se agrega el cuadro clínico de la hipertensión portal, con ascitis, esplenomegalia, edemas podálicos, circulación colateral, varices esofágicas; en forma paralela, aparecen las manifestaciones de insuficiencia hepática, como ictericia, encefalopatía hepática, angiomas torácicos y síndrome de Silvestrini y Corda (atrofia testicular, ginecomastia, pérdida de la libido y el vello púbico en el hombre; atrofia mamaria, amenorrea, vello facial, y otros en la mujer).

En forma afortunadamente poco frecuente, la primera manifestación de una hepatitis crónica activa es la evolución fulminante final, que se presenta igualmente a una hepatitis fulminante superaguda, pero sobre un hígado previamente dañado por años, por una hepatitis crónica activa.

Lecturas recomendadas

- Tatovich G, Giustina G, Realdi G, Carrocher R, Schalm SW. Long term outcome of hepatitis B antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1997;26:1338-1342.
- Mark W. Ruso, Jeffrey T. Wie, Michelle T. Thiny. Digestive and liver diseases. *Statistics* 2004. *Gastroenterology* 2004;26:1448-1453.
- Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2002;34:1225-1241.
- Khns M, McNamara A, Mason A, Campbel C, Perrillo R. Serum and liver hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B after sustained loss of surface antigen. *Hepatology* 1993;18: 1313-1318.
- J.D. Chen, C.J. Liu, P.H. Lee. Hepatitis B Genotypes correlate with tumor recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Clin Gastr Hepatol* 2004, 2: 64-71.
- Lorient MA, Marcellin P, Walker F, Degott C. Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatology* 1997;27:251-258.

Quantificación del virus de Hepatitis B por la técnica PCR tiempo real

(Quantification of viral hepatitis type B using the real-time PCR technique)

Elizabeth Rojas-Cordero

Resumen: La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha determinado, en la cuantificación de virus, un avance especial para el manejo de infecciones crónicas por virus, en especial, para HIV, virus de hepatitis B y C. La cuantificación en tiempo real se realiza en el ABI PRISM Sequence Detection System. Se amplifica, específicamente, el fragmento pb del genoma del virus de hepatitis B. Se recomienda el HBV PCR kit para la toma de la muestra., determinándose un protocolo para el almacenamiento de la misma. Es importante saber que el congelar las muestras o el almacenamiento prolongado disminuyen la sensibilidad del método. Se puede almacenar por años si es a una temperatura de -70° C. Tubos con heparina o pacientes heparinizado alteraran la determinación de la muestra. El límite inferior

Laboratorio de Biología Molecular, Hospital San Juan de Dios.

ISSN 0001-6002/2008/50/Sup.Gastro/9-11
Acta Médica Costarricense, ©2008
Colegio de Médicos y Cirujanos

detectable del virus B es de 3.78 UI/ml y el mayor es 1.4 x 10¹¹ UI/ml, se determinan todos los genotipos desde A-H. Los pacientes HBeAg positivos, usualmente, tienen valores mayores a 1 x 10⁶ UI/ml y los HBe negativos portadores inactivos por lo general, valores menores a 1 x 10⁴.

Descriptor: HBV PCR, ABI PRISM 700 Sequence Detection System.

Abstract: The polymerase chain reaction technique (PCR) has determined a special advance in the virus quantification for the management of chronic viral infections, especially for HIV hepatitis virus type B and C. The real-time quantification is performed in the ABI PRISM Sequence Detection System. The fragment pb of the genome of the hepatitis type B virus is amplified. The HBV PCR kit is recommended for taking a sample and a protocol for storing it is determined. It is important to know that freezing the samples or keeping them for a long time decreases the sensitivity of the method. It may be stored for years if kept at a temperature of -70° C. Heparinized patients or tubes with heparin will alter the determination of the sample. The lower limit of detection of B virus is 3.78 UI/ml and the higher limit is 1.4 x 10¹¹ UI/ml. All genotypes from A-H are determined. The patients with HbeAg positive usually present higher values than 1 x 10⁶ UI/ml and the HBe negative inactive carriers usually get lower values than 1 x 10⁴.

Key words: HBV PCR, ABI PRISM 700 Sequence Detection System.

Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa; IC: control interno.

Se define como carga viral (CV) en número de copias de ARN o ADN de un virus que se encuentra presente en una muestra. La determinación cuantitativa del ADN del virus hepatitis B (VHB) es importante en el seguimiento y el tratamiento de pacientes con infección crónica por el virus.

El ADN del VHB en suero o plasma puede cuantificarse mediante la amplificación del ácido nucleico o por tecnologías de amplificación de señal. El ensayo Abbott Real Time HBV utiliza la tecnología de PCR (reacción en cadena de polimerasa) junto con la detección de fluorescencia homogénea en tiempo real para la cuantificación del ADN del VHB. La selección de una región altamente conservada en el gen de superficie permite la detección de los genotipos A-H. La localización de la región diana en el tercio N terminal del gen de superficie garantiza que el ensayo no se vea afectado por los mutantes YMDD, los mutantes de escape del HbsAg o los mutantes resistentes a los fármacos, ya que esta región es imprescindible para la unión y secreción de partículas subvíticas y tolera solo cambios estructurales mayores.

El ensayo Abbott Real Time HBV utiliza PCr para generar producto amplificado del genoma ADN del virus en muestras clínicas. Al comienzo de la preparación de la muestra se introduce una secuencia de ADN no relacionado con la secuencia diana de la muestra del VHB a cada muestra.

Esta secuencia no relacionada de ADN se amplifica simultáneamente por PCR y sirve como control interno (IC) para demostrar que el proceso se ha realizado correctamente para cada muestra. La cantidad de secuencia diana del VHB presente en cada ciclo de amplificación se mide mediante el uso de oligonucleótidos marcados con fluorescencia hibridados específicamente al producto amplificado. El ciclo de amplificación realizado por el sistema Abbott m 2000 rt detecta una señal fluorescente que es proporcional al Log de la concentración de ADN del VHB presentes en la muestra original.

Los resultados pueden ser reportados en Unidades Internacionales por mililitro (UI/ml) o Log UI/ml o bien copias por mililitro (copias/ml) o Log copias/ml. El factor de conversión es 1 UI=3.41 copias. El intervalo lineal del análisis es de 10 a 1 billón UI/ml

Recolección y almacenamiento y transporte de muestras, el análisis de carga viral de HCV, HBV y genotipaje HCV.

1- Muestras de plasma humano, recogidos con EDTA a ACD con un mínimo de 2.3ml (2 tubos morados).

2- Las muestras se pueden almacenar de la siguiente manera:

Antes de centrifugar:

15°C-30°C ---Hasta 6 horas

2°C-8°C □ Hasta 24 horas

Después de centrifugar:

15°C □ 30°C ---Hasta 24 horas

2°C □ 8°C ---Hasta 5 días

Velocidad de centrifugación: 2000g (4400 r.p.m) por 5 minutos

3- Para el almacenamiento prolongado se recomienda temperaturas de -20°C o inferior:

4- Evitar someter las muestras a múltiples ciclos de congelación y descongelación, máximo 3 veces antes de procesar.

5- Se recomienda la separación de muestras en cámara de flujo laminar.

6- Se recomienda utilizar puntas de pipeta estériles, con filtro y libres de RNAsas.

- 7- Se recomienda separar el plasma en tubos estériles de polipropileno y etiquetar según lo establezca la norma (nombre, número de muestra y clave).
- 8- Utilizar guantes libres de polvo y estériles.
- 9- El transporte de la muestra debe ser en frío y cumplir con las normativas que rigen al transporte de muestras clínicas, agentes etiológicos y sustancias infecciosas.
- 10- Las muestras deberán venir debidamente rotuladas con la letra clara y en marcador indeleble.

Lecturas recomendadas

- Lok Anna McMahon: AASLD. Guideline: Chronic Hepatitis B. En: http://www.cdc.gov/NCIDOD/DISEASES/HEPATITIS/b/aasld_update_chronichep_b.pdf.
- Lok Anna: Clinical manifestations and natural history of hepatitis B virus infection. En: <http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?print=true&topicKey=hepatitis/10144&view=print>
- Lok Anna: Serologic diagnosis of hepatitis B virus infection. En: <http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?topicKey=heptitis/9842>
- Eng-Kiong Teo, Lok Anna. Epidemiology transmission and prevention of hepatitis B virus infection. En: <http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?topicKey=~YdsBBTKUaUagCfn>
- Chin-Jen Chu, Lok Anna: Clinical significance and molecular characteristics of common hepatitis B virus variants. En: www.aacr.org/PDF_files/2005am/2005_Final_Program2005%20AACR%20Program%20257-357%20Tuesday.pdf
- E . Keeffe , S . Zeuzem , R . Koff , D . Dieterich , R . Esteban–Mur , E . Gane et al. Report of an International Workshop: Roadmap for Management of Patients Receiving Oral Therapy for Chronic Hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 890-897.

Diagnóstico serológico de la Hepatitis B

(Serologic diagnostic of Hepatitis type B)

Zaida García-Solano

Resumen: Existen varios marcadores serológicos del virus de hepatitis B, siendo los más importantes el HBsAg, HBcAg, HBeAg y sus anticuerpos como el anti-HBs, el anticore, anticore IG M, anticore total y el anti e. Basado en la presencia del antígeno de superficie, se ha medido la seroprevalencia del virus de hepatitis B. Se considera a un país de alta prevalencia, si en la población estudiada los niveles son mayores del 8%. Se considera intermedia cuando oscila entre 2 y 8% y baja si es menos del 2%. La Caja Costarricense del Seguro Social cuenta con una red de 98 laboratorios, de los cuales 17 están dotados con los equipos necesarios para la determinación de los antígenos y anticuerpos del virus de la hepatitis B. Un estudio realizado en el 2005 determinó, en el ámbito nacional, una seroprevalencia del antígeno de superficie del 0.1% considerándose, a Costa Rica, como un país de baja incidencia del virus B. Se ha determinado también que San Isidro del General tiene una seroprevalencia intermedia del HBsAg. El Colegio Americano de Patólogos realiza un tipo de control externo para la CCSS en lo que se refiere a estas técnicas de laboratorio para la determinación y control del virus de hepatitis B. La aparición de los diferentes antígenos y anticuerpos mencionados se relacionan con momentos clínicos que se explican, considerándose de importancia, la persistencia del antígeno de superficie, por más de 6 meses, como un portador crónico.

Descriptores: HBsAg, HBeAg, anticore, prevalencia, marcadores serológicos.

Abstract: The hepatitis B surface antigen (HBsAg), the hepatitis B core antigen (HBcAg), the hepatitis B e antigen (HBeAg) and its antibodies such as the anti-HBs, the anticore (HBcAb), the IG M anticore (HBcAb Ig M), the total anticore; and the anti HBe (HBeAb) are found to be the most important among several serological markers for hepatitis B virus. The seroprevalence of hepatitis B virus was measured based on the presence of surface antigen. Any country is considered highly prevalent if the levels of the population under study are higher than 8%. The prevalence is considered intermediate if levels are between 2 and 8%; and it is low if

Microbióloga, Caja Costarricense de Seguro Social.

ISSN 0001-6002/2008/50/Sup.Gastro/11-16
Acta Médica Costarricense, ©2008
Colegio de Médicos y Cirujanos