

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICA
CARRERA BIOQUÍMICA
HOSPITAL DE CLINICAS
BANCO DE SANGRE



***IDENTIFICACIÓN DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE
DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B, EN DONANTES
VOLUNTARIOS QUE ACUDEN AL BANCO DE
SANGRE DE REFERENCIA DEPARTAMENTAL
LAPAZ, ENERO A JULIO DEL 2005***

EGR.: MARIA LUISA BARRIENTOS CAMPERO

TESINA PARA OPTAR EL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

LA PAZ- BOLIVIA

2005

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICA
CARRERA BIOQUÍMICA
HOSPITAL DE CLINICAS
BANCO DE SANGRE



***IDENTIFICACIÓN DEL ANTIGENO DE SUPERFICIE
DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B, EN DONANTES
VOLUNTARIOS QUE ACUDEN AL BANCO DE
SANGRE DE REFERENCIA DEPARTAMENTAL
LAPAZ, ENERO A JULIO DEL 2005***

EGR.: MARIA LUISA BARRIENTOS CAMPERO

ASESORA: Dra. ANA ALICIA RODRÍGUEZ B.

TESINA PARA OPTAR EL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

LA PAZ- BOLIVIA

2005

DEDICATORIA

A mi familia, en especial a mis padres quienes me apoyaron en todo momento a mi hija, que me da fuerzas para seguir siempre adelante, a mi esposo por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se realizó bajo el asesoramiento de la Dra. Ana Alicia Rodríguez Berton, a quien expreso mi profundo y sincero agradecimiento.

De igual manera a la Dra. Maria del Carmen Garcia Directora del Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz,, por la desinteresada colaboración y el interés demostrado en el presente trabajo, apoyo constante, consejos y facilidades otorgadas durante el desarrollo de la tesina.

A las Dras, Nancy Cordero, Patricia Farfan y Juana Pinto Barrios por su constante colaboración en la elaboración de la presente tesina.

A mis catedráticos de la Facultad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquímica, y amigos que hicieron posible la culminación del presente trabajo.

INDICE GENERAL

i)	Dedicatoria	
ii)	Agradecimiento	
iii)	Resumen	
iv)	Summary	
		Pag.
1.	INTRODUCCION	1
2.	JUSTIFICACION	2
3.	MARCO TEORICO	3
3.1.	ANTECEDENTES	3
3.2.	GENERALIDADES	6
3.3.	TAXONOMIA	6
3.4.	DEFINICION	7
3.5.	CARACTERISTICAS GENERALES DEL VHB	7
3.6.	RESPUESTA INMUNOLOGICA DE LA HEPATITIS B	10
3.7.	CICLO REPLICATIVO DEL VHB	13
3.8.	ESTRUCTURA ANTIGENICA	13
3.9.	ETIOPATOGENIA VHB	14
3.10.	PATOLOGÍA	15
3.11.	MANIFESTACIONES CLINICAS	16
3.12.	VIAS DE TRANSMISIÓN	18
3.13.	DIAGNOSTICO	20
3.14.	EPIDEMIOLOGIA	21
3.15.	VACUNAS	23
3.16.	CLASIFICACION DE LA HEPATITIS B	24
3.17.	FUNDAMENTO DE LA TECNICA DE ELISA	26
4.	OBJETIVOS	28
4.1.	OBJETIVO GENERAL	28
4.2.	OBJETIVOS ESPECIFICOS	28
5.	DISEÑO METODOLOGICO	28
5.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	28
5.2.	AMBIENTE DE INVESTIGACIÓN	28
5.3.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	29
6.	DISEÑO EXPERIMENTAL	29

6.1. MATERIALES	29
7. EQUIPOS	30
8. REACTIVO	30
9. METODOS	31
9.1. TOMA DE MUESTRA	31
9.2. RESULTADOS DE LABORATORIO	31
9.3. TECNICA DE ELISA	32
9.4. PROCEDIMIENTO DE LA TECNICA	32
9.5. CALCULO DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE ELISA	33
9.6. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE ELISA	33
10. RESULTADOS	35
11. DISCUSIÓN	40
12. CONCLUSIONES	42
13. RECOMENDACIONES	43
GLOSARIO	45
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	48
ANEXOS	

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

a) Solución de lavado

Diluir el tampón fosfato concentrado 1:25 con agua destilada o agua desionizada. El tampón fosfato se mantiene estable durante dos semanas entre 2 y 8°C.

b) Preparación del sustrato

Mezclar la cantidad necesaria de solución TMB con un volumen igual de solución de peróxido de urea en un vial desechable limpio, mezclar bien. Proteger la solución TMB y el sustrato TMB de la luz.

Las soluciones que contengan TMB o peróxido de Urea no deben entrar en contacto con metales o iones de metales ya que se podría producir una coloración no deseada el sustrato TMB es estable durante 8 horas a temperatura ambiente en la oscuridad de 15 a 30 ° C.

c) Acido sulfúrico:

Es corrosivo y se deberá manipular con cuidado para evitar el contacto con la piel y con los ojos. Cuando se prepare el ácido sulfúrico(1mol/l) a partir de una solución concentrada recordar que el ácido siempre se deberá añadir lentamente al agua mientras se remueve. 50 ml de ácido concentrado + 850 de agua destilada o desionizada

RESUMEN

En Bolivia no se han realizado estudios específicos sobre los virus de la hepatitis B (VHB), por lo que su prevalencia y patrones de circulación son prácticamente desconocidos. De 1992 a 1996 se realizó un estudio seroepidemiológico con el fin de adquirir una primera visión de conjunto sobre las prevalencias de las infecciones por virus de la hepatitis B (VHB), en distintas poblaciones de Bolivia. Sobre la base de los datos obtenidos en otros lugares de América Latina y de nuestro país se realiza el presente trabajo de investigación, se determina que de las 3724 muestras de sangre provenientes de donantes que acudieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz, entre Enero a julio de 2005, utilizando la técnica de ELISA, 3715 no presentan el antígeno de superficie del VHB que representa el 99,8% y son reactivos al antígeno de superficie del VHB en un 0.2%, se observa que en las provincias, de La Paz y Tarija, la infección por VHB presentó una prevalencia general que correspondería a una situación de endemia baja (0,2%), la prevalencia de no infección por VHB fue (99,8%), el grupo etareo más afectado esta comprendido entre los 38-50 años con 45%, de los casos de donantes que presentaron antígenos de superficie del VHB, el sexo masculino es el más afectado con el 66,7%. Con relación a la ocupación o actividad de los pacientes que presentan de antígenos de superficie el 34% son independientes, 22% estudiantes, 22% profesionales, 11% choferes, 11% comerciantes. Se sabe que la transmisión de VHB es parenteral y tiene lugar desde edades muy tempranas, pero se desconocen los mecanismos de esa actividad. Se recomienda vacunar contra VHB en las poblaciones endémicas como medida de corto plazo.

SUMMARY

In Bolivia specific studies have not been made on the virus of the B hepatitis (VHB), reason why their prevalence and patrons of circulation practically are not known. From 1992 to 1996 a seroepidemiológico study with the purpose of acquiring one first vision of set was made on the prevalencias of the infections by virus of the B hepatitis (VHB), in different populations from Bolivia. On the base of the data collected in other places of Latin America and our country work of investigation is made the present, one determines that of the 3724 originating blood samples of donors who went to the Blood donation point of Departmental Reference La Paz, between January to 2005 July, using the ELISA technique, 3715 do not present/display the antigen of surface of the VHB that represents 99.8% and are reactive to the antigen of surface of the VHB in a 0,2%, it is observed that in the provinces, of La Paz and Tarija, the infection by VHB presented/displayed a general prevalence that would correspond to a low situation of endemia (0,2%), the prevalence of infection by VHB was not (99,8%), the etareo group more affected this included/understood between the 38-50 years with 45%, of the cases of donors who presented/displayed antigens of surface of the VHB, masculine sex is affected with 66.7%, in relation to the occupation or activity of the patients who present/display of surface antigens 34% are independent, 22% students, 22% professionals, 11% choferes, 11% retailers. It is known that the VHB transmission is parenteral and takes place from very early ages, but the mechanisms of that activity are not known. It is recommended to vaccinate against VHB in the endemic populations as measured of short term.

1. INTRODUCCION

La hepatitis B es un serio problema de salud pública que afecta a personas de todas las edades en EE.UU. y alrededor del mundo causada por el virus de la hepatitis B (VHB). Este virus afecta principalmente el hígado induciendo una reacción inflamatoria que destruye los hepatocitos y a menudo altera la función hepática.

Las consecuencias de la infección son variables e impredecibles, dependen de la edad y estado inmunológico del paciente de cada 3 adultos infectados presentarán características clínicas de hepatitis B aguda.

En general existe una recuperación completa en niños lactantes, las infecciones son generalmente asintomáticas y por lo general se establece el estado de portador crónico cuando no se elimina el virus, este estado también se establece en una pequeña proporción de adultos.

Los portadores crónicos pueden desarrollar posteriormente hepatitis crónica, cirrosis o cáncer de hígado. La muerte puede ser consecuencia de insuficiencia hepática aguda o efectos crónicos a largo plazo.

Considerando que esta enfermedad tiene alta prevalencia en diferentes áreas del mundo además de conocer que se transmite mediante vía transfusional, entre otros mecanismos de contagio; es que en Bolivia el tamizaje de donantes de sangre incluye la detección del Antígeno de Superficie del virus de la Hepatitis B con carácter de obligatoriedad. (1)

Entre el 2001-2003, luego de la creación del Programa Nacional de Sangre, la media de tamizaje alcanzado para éste tipo de Hepatitis ha subido a 85,2 %. Esta etapa se ha caracterizado también por una tendencia descendente de la seroprevalencia de Hepatitis B entre donantes de sangre.

Sin embargo, Bolivia sigue siendo el país del área de América del Sur que aún mantiene los más bajos niveles de cobertura en el tamizaje serológico para Hepatitis B en los Bancos de Sangre.(1)

2. JUSTIFICACION

El virus de la hepatitis B constituye un grave problema de salud en la población mundial, con aproximadamente 300 millones (10) de portadores crónicos del virus en todo el mundo. En la actualidad a pesar de existir una vacuna preventiva contra esta enfermedad, se reporta un ascenso alarmante en el número de casos portadores del virus; además constituye una de las principales causas de fallo hepático fulminante, cirrosis hepática y carcinoma hepático celular.

La infección por VHB constituye un problema de Salud Pública importante en Latinoamérica. Sobre una población de 400 millones de habitantes, se estima una incidencia de 140.000 a 400.000 casos al año, de los cuales dos tercios ocurren en Sudamérica. (2)

Es en ese sentido el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento con datos actualizados, mediante la identificación del antígeno de superficie por el método de ELISA en donantes que acudieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz.

Por otra parte con los resultados obtenidos se generará información para poner en alerta a las autoridades de salud para que tomen las previsiones necesarias para evitar su transmisión y propagación del virus

El año 1996 en función a la Ley 1687 de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre se ha determinado la obligatoriedad del Tamizaje Serológico en donantes de sangre para enfermedades infecto contagiosas transmitidas mediante transfusiones sanguíneas, tal es el caso de HIV, Hepatitis B y C además de Chagas y RPR para minimizar los riesgos de transmisión de Sífilis, sin dejar de lado que en zonas endémicas de Malaria su detección también es obligatoria.(2)

Capítulo IV De la Donación de Sangre: (Artículo 14)(3).

En esta Ley de la República de Bolivia, también se determina como Centro de Referencia Nacional al Banco de Sangre perteneciente en aquel entonces al Hospital de Clínicas de la ciudad de La Paz, (Artículo 8).

Desde el año 2002 ésta Institución pasó a tener autonomía propia y a ser autogestionable y autosostenible, cambiando el nombre a Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz.

Por todos los aspectos anteriormente mencionados queda justificado el presente trabajo de investigación.

3. MARCO TEORICO

3.1 ANTECEDENTES

En todo el mundo se estima que alrededor de 350 millones de personas están infectados con el virus de la hepatitis B. Hay por cierto diferencias en cuanto prevalencia en las distintas regiones del globo las que van desde el 0,1% en E.E.U.U, y Europa hasta el 20%, en África tropical, Asia del Sudeste , extremo oriente 1% .(4).

En Latinoamérica alrededor del 2% son portadores. Por su puesto que hay importantes variaciones de un lugar a otro. (5)

En 1981 un estudio llevado a cabo en cuatro centros hospitalarios de la ciudad de La Paz y se determina que el 3,55% de los donadores de sangre encuestados tenían HbsAg (+) y 9,15% eran antiHBs positivas.(6)

Otro estudio comparativo en 1983, en una colonia japonesa del norte de Santa Cruz en personas adultas se vio que el HbsAg fue(+) en el 6,4 % de la población Japonesa adulta y 10,4% en menores de 16 años, En la población boliviana del mismo lugar tanto en adultos como en menores de

16 años no se encontró positividad para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B.(6)

En 1984, Velasco y asociados utilizando como marcador HbsAg en 291 individuos, encontró una prevalencia de 0,35%. El mismo año, Riedemann S. detectó 1,05 % de HbsAg positivo en 95 personas estudiadas.

En el laboratorio MABE anexo a la Clínica Lourdes de Santa Cruz entre el 5 de enero de 1990 y 1994 se realizaron 2500 estudios pretransfusionales encontrándose HbsAg (+) en 10 donantes (0,40%). (7).

En la misma ciudad en el Laboratorio del Hospital de la Caja Petrolera de Salud se reportan en septiembre de 1992 a abril de 1994, se hicieron 1517 determinaciones pretransfusionales habiéndose encontrado 42 donantes con el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B positivas lo cual representa un 2,76%.

En 1993 en el Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios de la Ciudad de Santa Cruz se realizaron 2535 análisis serológicos pretransfusionales siendo 10 exámenes HbsAg (+) que representó 0,50%. (8)

Sin embargo Zuna en el mismo año extrae sangre a 173 donantes, del Banco de Sangre del Hospital San Juan De Dios de la Ciudad de Santa Cruz encuentra 7 donantes con HbsAg (+) es decir un 3,54%. (9)

En 1990, Vial y asociados en un estudio comprendido de 1.813 personas, encontró HbsAg (+) en 0,1% en menores de 15 años y 0,34% en el grupo de 15 o mas años.(10)

“En nuestro país las localidades de Caranavi y Palos Blancos del Departamento de La Paz, Rurrenabaque y Trinidad del Departamento del Beni se encuentran ubicadas en la región pre-amazónica, razón por la cual se decidió realizar un estudio con el objetivo de determinar la prevalencia de la infección por HBV tomando como único marcador de infección al antígeno de superficie del HBV (HBsAg), que indica infección por HBV, independiente si esta es crónica o aguda.

Las muestras de suero fueron sometidas a pruebas para la detección de HBsAg. Los resultados encontrados mostraron una positividad del 1.5% (7/470) para el HBsAg.

El grupo etáreo en el que se encontró con más frecuencia infección por HBV fue el comprendido entre 40 y 49 años seguido del de 30 a 39.

La distribución de muestras positivas por localidad mostró un porcentaje mayor de HBsAg en Palos Blancos (4.65%) y en Caranavi (2.45%), semejantes a los encontrados en otras regiones amazónicas, según documentación consultada” (INLASA Web: www.inlasabolivia.com, 2003)

En el año 1997 y 2000 donadores de sangre del Banco de Sangre del Hospital de clínicas y del Hospital Obrero se realizaron las pruebas serológicas del virus de la hepatitis B en 832 donantes correspondiendo 649 al banco de Sangre del Hospital de Clínicas de los cuales 6 resultaron portadores del AgsHB 0,9% y de 183 donantes del Hospital Obrero 2 (1.1%) al AgsHB. (11)

La hepatitis B es la única de la hepatitis virales de la cuál se tienen informes epidemiológicos en Bolivia, ya que los datos más recientes que son los que se encuentran en SEDES La Paz, reportan a las hepatitis virales sin hacer distinción entre los distintos tipos de agentes causales.(12)

Los estudios prospectivos del riesgo de la hepatitis postransfusional sugieren que menos del 6% de la población de donantes voluntarios de sangre en E.E.U.U pueden ser portadores crónicos de hepatitis B.

De todas maneras, creemos que el problema en nuestro país se encuadra en lo que se ha determinado para Latinoamérica y pensamos que el problema está presente en un grado de prevalencia que nos debe motivar a tomar todas las previsiones para evitar su transmisión y propagación.

3.2 GENERALIDADES

En 1965 el Dr. Blumberg, descubrió la presencia de un nuevo antígeno en la sangre de pacientes con leucemia puesto que este antígeno había sido encontrado por primera vez en la sangre de un aborigen australiano, se le conoció desde entonces como antígeno Australia desde el inicio de las numerosas investigaciones que surgieron a su descubrimiento, resultó claro que el antígeno Australia estaba estrechamente asociado, o era el mismo un agente causal de hepatitis viral desde entonces quedó establecido con mucha frecuencia era posible encontrar anticuerpos contra este antígeno en pacientes con hemofilia y otros procedimientos que hicieron necesarias un gran número de transfusiones de sangre observándose que una parte de los pacientes que eran transfundidos con sangre que contenía el antígeno Australia desarrollaban anticuerpos contra dicho antígeno sin presentar síntomas de hepatitis postransfusional y en ellos se podía detectar la presencia del antígeno de Australia. A este tipo de hepatitis se la conoce desde entonces como hepatitis B.

Cualquier persona puede contraerla, pero quienes están en mayor riesgo son los drogadictos que comparten agujas, los trabajadores del servicio médico que tienen contacto con sangre infectada y hombres y mujeres que tienen relaciones sexuales sin protección con múltiples parejas.

Asimismo, las personas que viven en instituciones como centros de problemas del desarrollo y pacientes de hemodiálisis están también en la lista de posibles infectados.

3.3 TAXONOMIA

El virus que ocasiona la hepatitis B pertenece a la familia hepadnaviridae siendo el género hepadnavirus incluye algunos virus no humanos parecidos al virus de la hepatitis B, tienen propiedades comunes como la organización de su genoma y el modo de replicarse.

- Virus B corresponde a la hepatitis sérica, cuyo periodo de incubación es de 6-26 semanas con un promedio de 13 semanas.
- Virus C también llamado “ No – A , No B”, con un periodo de incubación de 2 –26 semanas.
- Virus Delta
- Virus E tiene un periodo de incubación de 15 – 60 días

3.4 DEFINICIÓN

El término “Hepatitis” se refiere a los síndromes o enfermedades que causan la inflamación del hígado, incluso la inflamación debido a virus o abuso crónico del alcohol.

La hepatitis “B”, anteriormente conocida como hepatitis del suero, es una enfermedad del hígado causada por un virus. El mal es bastante común.

FIG. 1 Esquema de hepatitis B virus

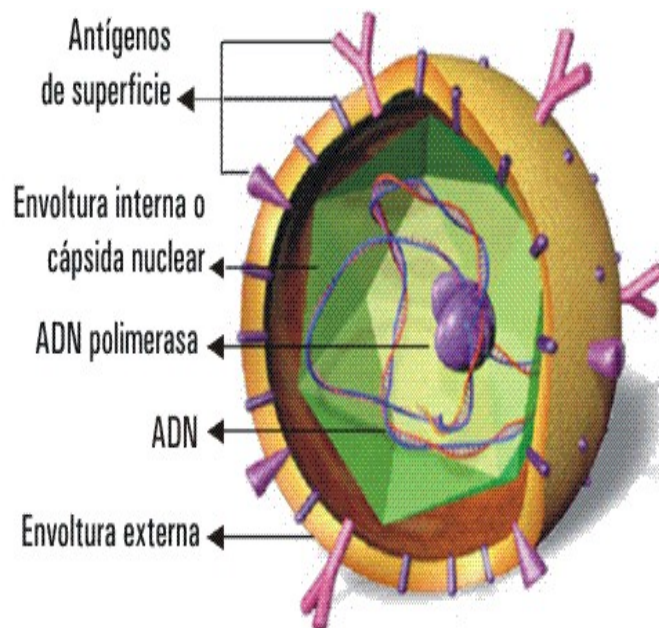


3.5 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

El VHB está formado por una molécula de ADN circular, pequeña y de doble cadena parcial; constituida por 32 00 pares de bases. En su genoma se han identificado los siguientes genes: el gen S (incluyendo las fracciones pre-S1 y pre-S2) que codifican para el antígeno de superficie (Ag_sHB); los genes C y pre-C que codifican el antígeno del core (Ag_cHB), y el antígeno e (Ag_eHB), respectivamente. También el gen P que codifica para la ADN polimerasa, esencial en la replicación viral y el gen X responsable de la expresión del

antígeno x (AgxHB), este último, a pesar de no existir un conocimiento certero de su implicación biológica y pato-biológica, se conoce que el producto de este gen actúa sobre secuencias regulatorias del VHB y otros agentes virales, además activa la transcripción de secuencias promotoras celulares. En términos evolutivos, este virus tiene 2 tendencias opuestas: generar un alto grado de mutaciones por el empleo de la reversotranscriptasa, que no posee capacidad de edición, y por otra parte, la disposición compacta del genoma que previene la variabilidad genética que pueda ocurrir. Los mecanismos de replicación y transcripción viral cometen errores en la organización nucleotídica, lo cual lleva a la producción de variantes genotípicas que parecen explicar comportamientos clínicos variables a diferentes drogas.

FIG.2 Estructura del VHB



Este virus puede clasificarse según genotipos y subtipos virales. Los genotipos caracterizados actualmente son el A, B, C, D, E, F y G; mientras que los subtipos virales descritos son: ayw¹, ayw², ayw³, ayw⁴, ayr, adw², adw⁴, adr_q- y adr_q+ . En el caso de los subtipos, se ha demostrado que son el resultado de diferentes antígenos en la proteína S y que están relacionados con sustituciones aminoacídicas dentro de la secuencia de esta proteína, como la que tiene lugar en la posición 122 (d o y) y 160 para r o w.(13)

Tabla 1. Relación entre los genotipos y subtipos del VHB

Genotipo	A	B	C	D	E	F	G
Subtipos asociados	Adw2(ayw1)	adw2ayw1	adradrq-ayradw	ayw2ayw3ayw4	ayw4(adw2)	adw4q-	adw2

Los subtipos que se encuentran en paréntesis, se describen raramente en el genotipo especificado.

Tanto los subtipos como los genotipos que se han podido caracterizar tienen una distribución geográfica variable; por ejemplo, los subtipos adw predominan en América, Australia, África del Norte, Mediterráneo Oriental, Europa Oriental, India, Asia Central y del Norte; en el caso del adr, tiene una mayor distribución en países como China, Sureste Asiático, Japón e Islas del Pacífico; el adr y adw, en Malasia, Tailandia, Indonesia y Nueva Guinea.

Los genotipos virales también muestran una distribución geográfica característica, relación con las diferentes formas de evolución de la enfermedad y respuesta a la terapia establecida. En cuanto a su distribución geográfica, por ejemplo, el genotipo A se ha podido encontrar en áreas del Noreste de Europa, América del Norte, Filipinas, Hong-Kong y en el Sur de África; el genotipo B, principalmente en la población indígena del Sureste Asiático y el genotipo C, en las Islas del Pacífico y Japón. El genotipo D se plantea que tiene una distribución universal, aunque se encuentra con mayor frecuencia en regiones como Sur de Europa, África del Norte y en la India; el genotipo E, se distribuye en América Central y del Sur. Finalmente, la distribución geográfica más frecuente del genotipo G es en países como Francia y EE.UU.; no obstante, por el fenómeno de migración que ocurre mundialmente, estos genotipos pudieran tener una distribución más dinámica.

La variabilidad que existe en relación con el nivel de respuesta al tratamiento y evolución de la enfermedad en los diferentes genotipos, es algo que debe tenerse en cuenta; tal es el ejemplo puntual del

comportamiento variable en los pacientes portadores del genotipo B en relación con el genotipo C; este último se asocia a una evolución hepática severa, se destaca una mayor proporción en suero de los niveles de ADN viral y una mayor frecuencia de mutaciones en el sitio promotor del core, que a su vez se relaciona con una pobre respuesta a la terapia con interferón alfa.(14)

Este virus tiene la característica de sufrir mutaciones que pueden repercutir con el nivel de respuesta inmunológica al virus, la forma de evolución de la enfermedad y su respuesta a las diferentes drogas; tal es así que hasta el momento actual se ha descrito un gran número de mutaciones en el genoma del VHB; la mayoría de estas parecen ser "silentes", o no relevantes desde el punto de vista clínico. No obstante, se han descrito mecanismos de evasión de supervivencia inmunológica en el huésped, como en los mutantes de escape S; incremento de la severidad de la enfermedad, relacionados con mutaciones en la región del core, sitio promotor del core o pre-core; fenómenos de resistencia a los agentes antivirales por mutaciones en la ADN polimerasa y carcinogénesis hepatocelular dado por los mutantes X. (15)

El virus de la hepatitis B está formado por una molécula de ADN circular y de doble cadena parcial constituida por 3200 pares de bases. (16)

3.6 RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE LA HEPATITIS B

La respuesta primaria del hospedero infectado con el virus de la hepatitis B está representada por la aparición de anticuerpos neutralizantes específicos para diferenciar epítopes del virus . En la infección aguda en forma precoz aparecen anticuerpos específicos para el antígeno se superficie del virus de la hepatitis B (17).

La respuesta de las células T citotóxicas específicas para el virus de la hepatitis B en el ser humano, es objeto de gran interés, se sabe que esta es importante para la eliminación de las células infectadas por el virus. (18)

Los linfocitos T ayudan a la producción de anticuerpos anti pre-S1, anti pre-S2 y anti –HB, siendo esta regulada por varias moléculas de membrana de los linfocitos T en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Sin embargo para la eliminación del virus, no parece ser necesaria una respuesta inmunológica celular con especificidad para las partículas vacías de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B.

De hecho como ya señalamos, es posible detectar anticuerpos anti-preS aún en pacientes con infección crónica con replicación viral activa, así como infección natural de este virus.

La respuesta inmunológica humoral en la cual cooperan las células T, ocurre en la infección aguda durante la fase preclínica precediendo hasta en 30 días la aparición del daño hepatocelular y coincidiendo con la aparición de ADN-VHB circulante. (19)

En pacientes en fase aguda, la eliminación del virus parece correlacionarse con la actividad anti core de los linfocitos T; estudios realizados sugieren que los aminoácidos 11 y 27 de la región core del virus de la hepatitis B constituyen un epítipo inmunógeno vital, que es reconocido en los pacientes con hepatitis B aguda, sin embargo, los pacientes con infección crónica no parecen responder a este epítipo. (20)

Las partículas del core son altamente inmunogénicas, hasta 80 veces más que las partículas de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B estudiados en cepas de ratones, estas partículas atraen anticuerpos tanto en forma T dependiente como independiente. Por su parte el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B es sobreexpresado en el suero de pacientes infectados, inclusive formando complejos, inmunológicos circulantes induciendo una respuesta de los linfocitos B para la formación de anticuerpos de manera dependientes. (21)

Actualmente se incrementa la incidencia que apoya la respuesta inmunológica celular específica contra los diversos antígenos del virus de la hepatitis B , contribuyendo el daño hepatocelular que se establece en la infección tanto aguda como crónica por el virus de la Hepatitis B. (22)

Los linfocitos T son capaces de reconocer antígenos con un alto grado de especificidad, pueden actuar regulando la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B y pueden además actuar como células efectoras con capacidad citolítica.

Los linfocitos T presentan en su superficie un complejo más identificado como TCR/CD3 o receptor único del linfocito T el cuál es compuesto proteico con capacidad para reconocer el antígeno dado y traducir la señal hacia el interior de la célula. Por este proceso de activación, una serie de señales llamadas accesorias son liberadas de las cuales la Interleucina 1 (IL-1) , la IL-2 y el interferón alfa (IFN-alfa) han sido los más investigados en pacientes infectados con el virus de la hepatitis B así la IL-2 es secretada por el linfocito T posterior a la señal de reconocimiento antígeno / TCR/CD3 (señal primaria) y la aparición de señales accesorias como la IL-1 (segunda señal). La IL-2 estimula expresión de receptores de IL-2 sobre la superficie celular tanto LT que la están secretando, como de otros LT (efecto autócrino y parácrino), contribuyendo a la exposición clonal de este grupo celular para un efecto final cooperados sobre los LB, o un efecto citolítico sobre las células infectadas. (23)

Las consecuencias de esta última respuesta celular citotóxica o citolítica mediada por los linfocitos CD8 (+) requiere indemnidad del arco monocitomacrófago linfocitos T, incluyendo diferentes señales accesorias para el reconocimiento y procedimiento del antígeno por parte de ambos linajes celulares. De tal forma que el hepatocito debe presentar en su superficie antígenos virales de la nucleocápside (core) el producto del desdoblamiento de este core o HbcAg y en menor grado HbsAg y en conjunto con moléculas clase 1 del CMH, pueden ser reconocidos por el complejo TCR/CD3 del linfocito CD8 (+).

Este complejo transduce señal de reconocimiento hacia el interior del linfocito, iniciando la cascada de eventos que culminan con la lisis del hepatocito infectado. (24)

3.7 CICLO REPLICATIVO DEL VHB

El mecanismo de replicación de este grupo es único. Después de la infección de la célula huésped, el DNA del VHB pasa al núcleo celular donde se inicia la transcripción, por una parte de RNAm y se traducirá en las proteínas específicas del virus y por otra en una molécula de RNA de 3,5 kb, que será encapsulada con el HbcAg para formar la nucleocápside. Esta cápside sale al citoplasma donde el RNA que contiene sirve de molde para la síntesis por transcripción inversa de una molécula de DNA. Después la DNA polimerasa, empaquetada anteriormente en la cápside cataliza la síntesis de la cadena S de DNA, mientras tanto la cápside se recubre en la envoltura formando la partícula de Dane, que sale al medio extracelular antes de que la cadena S haya completado su formación. (25).

3.8 ESTRUCTURA ANTIGENICA

ANTÍGENO DE SUPERFICIE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (HBSAG)

Se sintetiza en el citoplasma del hepatocito independientemente del core y está presente en el suero en tres formas visibles al microscopio electrónico que son antigénicamente idénticas.

- a) Partícula de Dane o virión completo cuyo diámetro es de 42nm.
- b) Partícula esférica de 22 nm de diámetro.
- c) Partículas tubulares de 20 nm de diámetro y longitud 200 nm.

Estas 2 últimas partículas circulan en la sangre en mayor proporción y al carecer de ácidos nucleicos no son infectantes indican un exceso de producción de la cubierta viral por el hepatocito(26).

El diagnóstico etiológico de la hepatitis B se puede establecer con certeza por medio de los marcadores serológicos, la determinación de los marcadores permite también conocer la evolución de la enfermedad y descubrir a los portadores asintomáticos, la mayor frecuencia esta dada por el uso de agujas inyecciones contaminadas, por eso es importante utilizar agujas descartables

A Partir de la identificación del virus de la hepatitis B (hepatitis sérica o transfusional), en 1967 hubo un avance notable en el conocimiento de la etiología, la epidemiología, la historia natural y la prevención de hepatitis virales.

3.9 ETIOPATOGENIA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

La célula blanco del virus de la hepatitis B es el hepatocito así mismo el virus es capaz de infectar linfocitos y células del sistema retículoendotelial, por lo que es probable que estas sirvan de vehículo para el transporte del virus del hígado (27).

La mayor parte de los estudios indican que la lesión hepatocelular se debe más a mecanismos inmunológicos que a la citotoxicidad directa del virus. Un fuerte argumento en contra del efecto citotóxico directo del virus, es el hecho de que los hepatocitos que contienen viriones completos o antígenos virales en los portadores sanos del VHB, no muestran signos de lesión, por otro lado son mucho los indicios que apuntan a mecanismos inmunes y específicamente a las células T citotóxicas sensibilizadas como mediadores de la lesión hepática (28).

La infección por el virus de la hepatitis B pasa por dos fases:

1. Fase proliferativa constituye un periodo de replicación viral durante la cual existe evidencia bioquímica de destrucción hepatocitaria con o sin ictericia y respuesta generalmente rápida.

2. Fase de viremia (cese de la replicación viral) y aparición de los anticuerpos detectables frente al HbeAg), es un periodo mas o menos largo con antigenemia (presencia de HbsAg en suero) que acaba con la eliminación de la misma y la seroconversión para anticuerpos específicos HbsAc, señal de la eliminación de la infección e inmunidad duradera de la reinfección.

3.10 PATOLOGÍA

El virus de la hepatitis B se transmite a través de la sangre o fluidos del organismo, infecta principalmente al hígado produciendo una inflamación (hepatitis) que destruye los hepatocitos y puede alterar la función hepática por el momento la infección es incurable en la gran mayoría de los casos durante una infección por el virus de la hepatitis B, en los hepatocitos se producen grandes cantidades de HbsAg se combinan con las nucleocápsides para formar partículas del virus completas.

El resto en su mayoría es liberado al torrente sanguíneo como pequeñas partículas esféricas patognomónicas y filamentos estas partículas no son infecciosas debido a que no contienen ADN.

El HbsAg funciona como un importante marcador serológico de infección por el virus de la hepatitis B.

El reservorio natural del virus de la hepatitis B es el hombre y se transmite por contagio percutáneo o permucoso, el virus no se contagia por las heces, alimentos contaminados, agua, insectos ni tampoco por la leche materna, solamente han demostrado ser infecciosos los fluidos vaginales y menstruales, la sangre, semen, saliva.

Hay estudios que indican que el HbsAg es muy estable en las superficies y puede detectarse en objetos contaminados incluso después de una exposición prolongada a condiciones ambientales. Por Ej. Puede sobrevivir durante meses sobre el equipo dental médico contaminado. Estos pueden

ser vehículos de transmisión del virus durante varios meses después de la contaminación inicial.

3.11 MANIFESTACIONES CLINICAS

Luego de un periodo de incubación que va desde 40 a 80 días y en promedio de 60 a 90, se presenta la fase preictérica de la enfermedad que dura de 5 a 15 días, caracterizada por síntomas de tipo gripal con febrícula, artralgias, astenia, anorexia, plenitud, náusea y a veces vómito, cefalea, rechazo al cigarrillo.

- Puede presentarse rash urticariforme o maculopapular que junto con la fiebre y artralgias constituyen la triada de Caroli lo que traduciría la formación y depósito de inmunocomplejos.(29)
- La fase icterica de intensidad variable.. Precedida en 2 a 3 días de ictericia. Puede complementarse con hipocólia y acolia en los casos con mayor colestasia, agregándose posteriormente prurito al cuadro clínico, en este periodo el paciente pese a estar icterico, mejora notablemente de sus síntomas y se siente bien. La fase icterica dura de 2 a 8 semanas, el hígado es palpable y sensible, el bazo puede estar también aumentado de tamaño hasta en el 50% de los pacientes, puede haber pérdida de peso de 2 a 4 Kg.
- La persistencia de fiebre, vómitos y disminución rápida del tamaño del hígado son síntomas y signos que nos indican una evolución grave del cuadro.
- La fase de convalecencia está caracterizada por la normalización gradual de los signos y síntomas antes anotados y por la mejoría y tendencia a la normalización de los exámenes de laboratorio.
- Si bien la hepatitis típica cursa con ictericia claramente demostrable, hay ocasiones en las cuales la enfermedad no presenta ictericia y solo tiene los síntomas del periodo

prodrómico y algún otro signo, pero pasan desapercibidos y en niños sobre todo se los califica como “cuadro viral”, quedando de esta manera el diagnóstico de la hepatitis sin ser confirmado con graves consecuencias cuando ya nos encontramos con una hepatitis crónica sin el antecedente del cuadro agudo.

Hay también la forma inaparente que se detecta por alteraciones laboratoriales en pacientes controlados por exposición o por transfusiones. Si bien la evolución del cuadro agudo se resuelven en el término de 2 a 8 semanas, pueden haber cuadros de hepatitis aguda prolongada, cuya resolución dura un poco más, pero que no plantea problemas, también pueden haber recaídas las que se presentan cuando se abandona el reposo en forma precoz y aparecen al final del periodo evolutivo normal.

Es importante tomar en cuenta el cuadro de la hepatitis fulminante con falla aguda del hígado que cursa con elevada mortalidad. Dependiendo de una serie de factores inherentes al virus o al paciente mismo, el cuadro puede evolucionar hacia una hepatitis crónica persistente, la cual debe mantenerse en observación y regrese generalmente al término de un año sin tratamiento.

Pero hay otra forma que es la hepatitis crónica activa o agresiva cuya evolución desfavorable es progresiva y lleva a la cirrosis hepática llamada postnecrótica o macronodular y el hepatocarcinoma primario con gran mortalidad.

En su evolución vamos a tener todo el cuadro y las complicaciones inherentes a una Cirrosis hepática es decir, hipertensión portal, várices esofágicas, gastritis hipertensiva, que son causas de hemorragia.

Grupos de Riesgo:

- Hijos de madres infectadas.
- Niños pequeños que acuden a guarderías o internados de áreas endémicas.

- Familiares convivientes y parejas sexuales de personas infectadas.
- Pacientes y empleados de centros de hemodiálisis.
- Personas adictas a drogas por vía parenteral y que comparten jeringuillas.
- Personas que utilizan material médico o de odontología sin esterilizar.
- Pacientes que utilizan tratamiento acupuntor o tatuajes.
- Personas que viven o tienen que viajar a zonas endémicas.
- Parejas homosexuales o con múltiples parejas sexuales.
- Pacientes politransfundidos.
- Personal de salud o relacionados.
- Poblaciones cautivas (Cárceles).

3.12 VIAS DE TRANSMISIÓN

Se conocen cuatro vías de transmisión.

- **Vertical o perinatal**, De madre infectada a hijo en el momento del parto. Si la madre embarazada es portadora del VHB y además tiene el HbeAg positivo, su hijo tendrá un problema del 90% de infectarse y ser portador, mientras que si la madre es solamente portadora del HbsAg la infección ocurre alrededor del 10% de los recién nacidos.
- **Horizontal**: A través de contacto con personas infectadas. El virus puede permanecer estable hasta 7 días en distintas superficies del medio ambiente y como consecuencia, contagiar a través de objetos contaminados como son los cepillos de dientes, biberones, juguetes, cubiertos o equipamiento sanitario, por el contacto de membranas mucosas o heridas abiertas.
- **Sexual**: Por contacto homo o heterosexual, es el principal mecanismo en áreas de baja endemia.
- **Parenteral o percutánea** : A través de jeringuillas , por lesiones de piel, tatuajes o transfusiones de sangre contaminada , el riesgo es mayor en el personal de salud.(30)

La transmisión perinatal es la más frecuente en las zonas de mayor prevalencia, mientras que la sexual y la parenteral lo son en las menos prevalentes. En un 35% de los casos no se identifica la fuente de infección.

Teniendo en cuenta estas vías de transmisión, existen grupos entre la población general con mayor susceptibilidad para infectarse y cronificarse: pacientes con inmunodeficiencia congénita o adquirida (VIH), pacientes inmunodeprimidos o pacientes en hemodiálisis.

El virus de la hepatitis "B" se encuentra en la sangre y con menor frecuencia en la saliva, el semen y otras secreciones corporales de una persona contagiada. El germen es transmitido por el contacto directo con los fluidos corporales infectados que se hallan en agujas o que son transmitidos por el contacto sexual. El virus no puede ser transmitido por el contacto ocasional.

3.13 DIAGNOSTICO

Para comprobar si alguien padece o no hepatitis el médico puede realizar dos tipos de pruebas:

- Análisis de sangre, o hematológico (se extrae sangre con una jeringuilla);
- Mediante biopsia, una prueba sencilla que consiste en extraer un pequeño pedazo de hígado, para analizar los tejidos al microscopio y comprobar si están o no dañados.

Las alteraciones más constantes son el aumento de la bilirrubina en sangre y el aumento de la actividad de las transaminasas (enzimas hepáticas, conocidos por sus iniciales ALT o GPT y AST o GOT). Se hallan entre 20 y 40 veces más elevadas de los valores normales.

Estas pruebas no sólo explican si se tiene hepatitis, sino que también determinan de qué tipo, A, B o C y la gravedad de la enfermedad. El diagnóstico se confirma por la demostración de anticuerpos contra el virus de la hepatitis en el suero de los pacientes con la forma aguda o que en fecha reciente estuvieron enfermos. Los virus y los anticuerpos se detectan por una prueba radioinmunoensayo (se venden kits de pruebas para la detección de anticuerpos contra el virus).

Para el virus de Hepatitis B se recomienda emplear la técnica de ELISA, el marcador serológico más empleado es la determinación del antígeno de superficie (HbsAg), aunque algunos Bancos De Sangre del exterior en dependencia de sus posibilidades podrían incluir la determinación de otro marcador viral, el anticuerpo contra el Core I (anti HBc). Sin embargo en nuestro país no existe actualmente ningún Banco de Sangre que tamize este marcador como rutina para la detección de casos reactivos de Hepatitis B.

Otros exámenes de sangre, tales como los de la función hepática, o los enzimogramas hepáticos, pueden sugerir un daño hepático que puede ser causado por algún virus de la hepatitis. La biopsia de hígado, y la

laparoscopia sirven para determinar con certeza el grado de daño hepático en el individuo que es positivo para anticuerpos de la hepatitis.

3.14 EPIDEMIOLOGIA

La fuente de infección del VHB la constituyen los portadores agudos y crónicos del virus, en nuestro país el número de portadores oscila entre el 1 y el 2% de la población, con tendencia a disminuir por la política de vacunación general de la población. La capacidad infectante de un portador es tanto mayor cuanto mayor es la replicación viral, el virus se encuentra en todos los líquidos orgánicos, pero sus máximas concentraciones alcanzan en hígado y sangre.

Los distintos mecanismos de contagio tienen un impacto epidemiológico diferente. El riesgo de transmisión por punción accidental se calcula en un 20% si el material infectante es HbeAg positivo, mientras que este riesgo se reduce a un 5% si el material es anti-Hbe. La transmisión por vía sexual, actualmente la más importante por su frecuencia, está implicada en el 41% de la hepatitis de nuestro medio y explica la mayor prevalencia encontradas en las edades cercanas a la adolescencia y que los promiscuos homo o heterosexuales sean grupos de riesgo.(19) La transmisión por vía nosocomial a través de un médico o personal auxiliar portador de VHB, aunque cuantitativamente es despreciable plantea una serie de medidas ético-legales. El riesgo de transmisión se ha calculado para cirujanos portadores en un 0,24% y este riesgo es variable en razón de la existencia o no replicación.

La medida actual en nuestros países es limitar la actividad quirúrgica de cirujanos portadores del virus cuando su nivel de replicación viral es elevado.

Se calcula que en un año, en Latinoamérica se asocian a infección por VHB.

- 8.000 a 15.000 portadores crónicos.
- 4.000 a 6.000 hepatitis crónicas.
- 60.000 pacientes que evolucionan a cirrosis hepática.
- 3.000 pacientes que evolucionan hacia cáncer hepatocelular.

- 440 a 1.000 pacientes que cursan con hepatitis fulminante.(32)

Hepatitis B en áreas de alta endemia:

La hepatitis B es altamente endémica en regiones en desarrollo.

La población portadora crónica es igual o mayor a 8% en la población, y el riesgo de infección durante la vida, de 60%. La mayoría de las infecciones ocurren durante la lactancia o infancia por lo tanto las tasas de portadores son también elevadas.(33)

Hepatitis B en áreas de endemicidad Intermedia:

En áreas de Europa del sur y oriental, medio oriente, Africa del norte, Japón centro y Latinoamérica, 20 – 55% de la población existe una población elevada de infección en los niños, pero la infección en adultos es bastante común.

La portación crónica es de 2 a 7% y el riesgo de infección durante la vida de 20 a 60%.(33)

Hepatitis B en áreas de endemicidad baja:

La población portadora crónica es menor a 2% el riesgo durante la vida menor de 20% y la infección se produce principalmente en adultos con factores de riesgo.(33)

Epidemiología de la hepatitis B en Bolivia

Según el Boletín Epidemiológico del Ministerio de Salud, en Bolivia las Hepatitis están consideradas como Enfermedades de Declaración Obligatoria dentro de la Vigilancia Epidemiológica del Sistema de Salud. Los Bancos de Sangre representan en la actualidad los centros de vigilancia más importantes para ambas enfermedades, en una población de bajo riesgo como son los donantes de sangre.

En los últimos años se presentaron casos como en Huacareta en julio de 2004, 5 casos en el departamento de Chuquisaca en el mes de noviembre del mismo año (El Diario / La Paz Bolivia - 29 de julio de 2004).

El Director Nacional de Salud, Eduardo Chávez, aseguró que los brotes que aparecieron no han llegado a ser epidemias debido a que fueron controlados de forma adecuada y oportuna. (El Deber / Santa Cruz Bolivia - 13 de junio de 2005).

3.15 VACUNAS.

La vacuna anti-hepatitis B (HBV) fue la primera vacuna para hepatitis y la primera desarrollada por ingeniería genética. Es también la primera vacuna que permite la prevención de un cáncer, el cáncer primario de hígado.

Las vacunas disponibles actualmente para la hepatitis B son eficientes y seguras y la vacunación universal de niños es la medida más importante para la prevención de la enfermedad. La estrategia de vacunar únicamente a los grupos de riesgo como al personal de salud, homosexuales, etc no ha sido suficientemente efectiva en prevenir la enfermedad. Por eso la Organización Mundial de la Salud en 1991 solicitó a todos los países que incluyeran la vacunación anti-hepatitis B en sus programas de vacunación universal para el año 1997. El alto costo de las vacunas ha hecho inaplicable aún esta política en todos los países. En nuestro país es obligatoria por ley la vacunación del personal de salud. Más del 95% de los niños y adolescentes y más de 90% de los adultos desarrollan anticuerpos luego de la vacunación. Las personas que responden a la vacuna B están protegidas tanto contra la hepatitis aguda como para las consecuencias de esta infección incluyendo la cirrosis y el cáncer primario de hígado.

Los recién nacidos de madres portadoras del HBV deben recibir gamma-globulina hiperinmune y vacuna dentro de las 24 horas del parto para disminuir la tasa de infección en esta población.

Debido a la facilidad de transmisión por vía sexual, las parejas sexuales de individuos portadores deben también ser vacunados. Se aconseja la

vacunación universal de menores de 18 años, la de mayores de 18 años con factores de riesgo para la infección (grupos de riesgo tabla 2) y pacientes con hepatopatías crónicas de cualquier etiología.

En varios países la vacunación de rutina en niños y adolescentes se efectúa desde hace unos años. El desarrollo de memoria inmunogénica luego de la vacunación primaria hace que la revacunación con dosis de refuerzo ("booster") sea innecesaria en niños y adultos con inmunidad normal pues la protección es para toda la vida. En algunas situaciones particulares como pacientes inmunocomprometidos o hemodializados estas dosis de refuerzo deben ser tenidas en cuenta. (31)

Esquema de vacunación: Adultos 20mg por vía intramuscular en el deltoides en tres dosis, al inicio al mes y a los 6 meses (esquema 0-1-6 meses) En niños el mismo esquema pero con 10mcg. El desarrollo de vacunas combinadas para la hepatitis A y B, y las asociadas para la hepatitis B con Pertusis, tétanos y difteria y otras combinaciones, facilitarán y simplificarán su incorporación en los programas de vacunación universal de niños y adultos.

3.16 CLASIFICACION DE LA HEPATITIS B

Hepatitis aguda

Suele resolverse sin dejar secuelas en un tiempo que varia de 4 a 8 semanas, dejando inmunidad natural permanente con el desarrollo de antiHBs. Sin embargo, el 10% de los adultos y el 90% de los niños la infección persistirá.

Alrededor de dos tercios de los adultos infectados por virus de la hepatitis B experimentarán síntomas clínicos. Los primeros síntomas en aparecer son similares a los de la gripe e incluyen febrícula, fatiga, debilidad, nauseas, pérdida de apetito, cefalea, vómitos y dolor abdominal. Casi el 50% de los pacientes con síntomas semejantes a la gripe desarrollarán ictericia o hepatitis icterica 3 o 4 días más tarde.

El resto se dice que tiene ictericia anictérica, la ictericia se caracteriza por una coloración amarillenta de la piel y la esclerótica del ojo, orina oscura y heces clara típicamente dura unas 2 semanas. En algunos casos la enfermedad aguda conduce a una hepatitis fulminante un padecimiento grave de aparición repentina con fiebre alta, dolor abdominal, vómitos e ictericia la hepatitis fulminante a menudo es fatal. La evolución del proceso es hacia la curación en el 94% de los casos, con la normalización de la cifra de transaminasas y seroconversión de los marcadores virales en un 5% de los casos de la enfermedad evoluciona hacia una hepatitis crónica y solo en un 1% puede desarrollar un fallo hepático agudo con elevada mortalidad.(10)

Hepatitis crónica

Se define como una infección persistente, al menos durante 6 meses, que se manifiesta por la presencia del HbsAg, de la inmunoglobulina IgG anti-Hbc y la ausencia de respuesta inmune natural (anti-HbsAg), que además se acompaña de niveles elevados en suero de la ALT y cierto grado de la inflamación crónica en la biopsia hepática.

Tanto la presencia del DNA del virus como el HBeAg determinan si el paciente es contagioso. Es importante diferenciar la hepatitis B crónica de los pacientes portadores asintomáticos que también tienen persistencia del HbsAg más de 6 meses pero no presentan síntomas clínicos ni bioquímicos de alteración de la función hepática.

La mayoría de los pacientes no desarrollan manifestaciones clínicas, alteraciones bioquímicas ni histológicas de enfermedad hepática, salvo algunos casos, en los que la replicación viral transitoria se acompaña de cambios bioquímicos y manifestaciones clínicas inespecíficas. De los pacientes con hepatitis B crónica, aproximadamente un tercio desarrollarán cirrosis hepática.

La evolución natural de la infección crónica del virus de la hepatitis B dependerá de la interacción entre la replicación viral y la respuesta inmune del huésped, además de otros factores como son el consumo concomitante

de alcohol o la infección con otros virus que provoquen hepatitis. En el curso de la hepatitis B se conocen tres fases evolutivas de replicación viral:

- Fase de elevada replicación viral: caracterizada por la presencia en suero del HBsAg, HbeAg, y del ADN del virus de la hepatitis B con aumento de los niveles de transaminasas y con una actividad inflamatoria en la histología hepática moderada. En esta fase existe un riesgo elevado de desarrollar cirrosis.
- Fase de replicación viral baja: Que se asocia con la desaparición en suero del HbeAg del DNA del virus de la hepatitis B y con la presencia de anti-Hbe además de la disminución de la actividad inflamatoria en la histología hepática. Esta seroconversión ocurre entre un 10 a 20% anualmente y se asocia con mejor pronóstico.
- Fase de ausencia de replicación: En la que los marcadores en suero de la replicación viral están ausentes y también la inflamación hepática. Sin embargo si ya se ha establecido una cirrosis esta persistirá indefinidamente.

En la mayoría de los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis B, la única anomalía bioquímica que podemos encontrar son unos niveles moderadamente elevados de la ALT, normalmente menor de 100 IU/L en más del 90% de los casos además de concentraciones elevadas de la alfafetoproteína por encima de 100ng/ml. Solamente en algunos casos aparecen elevaciones de las demás transaminasas, bilirrubina, albúmina y de la gammaglobulina, a veces anticuerpos antinucleares, antimúsculo liso o antimitocondriales. Sin embargo en estadios avanzados de la enfermedad hepática, es habitual que los test bioquímicos de su función estén alterados de forma importante.(35)

3.17 FUNDAMENTO DE LA TÉCNICA DE ELISA

Es un ensayo inmunoenzimático donde uno de los reactantes (Ag o Ac) está marcado con una enzima que reacciona con su respectivo conjugado.

La técnica de ELISA se basa en dos pasos fundamentales:

La reacción entre los inmunoreactantes, uno de los cuales se encuentra adherido a un soporte sólido y el otro componente que se encuentra en una fase fluida, y la detección de esa reacción utilizando enzimas acopladas covalentemente a un inmunoreactivo. Al añadir el sustrato se formará una reacción de color la intensidad del mismo, será directamente o inversamente proporcional a la concentración del inmunoreactante dependiendo del caso que esta siendo evaluado, y puede ser medido por espectrofotometria.(16)

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el Antígeno de Superficie del Virus de la Hepatitis B, en muestras de sangre provenientes de donantes que acudieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz, mediante la técnica de ELISA entre Enero a julio de 2005.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar cuál es el grupo étnico más afectado en los que se evidencia el Antígeno de superficie de VHB en todos los donantes voluntarios de sangre.
- Determinar el sexo en que se presenta con mayor frecuencia el antígeno de superficie del VHB entre reactivos y no reactivos para este marcador serológico.
- Identificar la procedencia de los donantes voluntarios seroreactivos para el virus de la Hepatitis B.
- Identificar la ocupación de los donantes voluntarios seroreactivos para el virus de la Hepatitis B.

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación es de tipo Descriptivo transversal

5.2 AMBIENTE DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunoserología e Inmunohematología del Banco de Sangre de Referencia Departamental La

Paz ubicado en la avenida Saavedra s/n dentro del Complejo Hospitalario de Miraflores.

El lugar de trabajo fue la Unidad de Inmunoserología del Laboratorio del Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz, que cuenta con todas las normas de bioseguridad e infraestructura necesarias para la realización del presente trabajo de investigación científica.

5.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio estaba comprendida de 3724 donantes que acudieron voluntariamente al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz en los meses de Enero a Julio del 2005.

Criterios de inclusión

Para el presente trabajo de investigación se consideró a los todos los donantes voluntarios que acudieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz, y que hicieron efectiva la hemodonación, en el periodo comprendido entre Enero y Julio de 2005.

Criterios de exclusión

Se excluyeron a todos los donantes voluntarios que tuvieron la intención de donar, pero no pasaron los criterios de selección clínica como: edad, peso, hematocrito y nivel bajo de hemoglobina.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

6.1 MATERIALES

- ✓ Placas microelisa de poliestireno de 96 pocillos
- ✓ Pipetas volumétricas de 1,5,10.25
- ✓ Probeta de 1000ml
- ✓ Tubos de ensayo de 10ml
- ✓ Tubos de hemólisis

- ✓ Eppendorf
- ✓ Micropipetas de 25ul, 50ul, 100ul,200ul,1000ul
- ✓ Puntillas descartables. (tips)
- ✓ Gradillas
- ✓ Lavandina
- ✓ Algodón
- ✓ Cronómetro
- ✓ Guantes desechables
- ✓ Papel absorbente
- ✓ Recipientes para desechos biológicos
- ✓ Marcador indeleble
- ✓ Papel adhesivo
- ✓ Gorros descartables
- ✓ Barbijo
- ✓ Hepanostika Uniform II (Organon Biomeriux) procedencia Holanda.

7. EQUIPOS

- Lector de ELISA.
- Centrifugadora (1500 – 3000 r.p.m)
- Refrigerador 4°C
- Congelador – 20°C
- Agitador

8. REACTIVO

- Agua destilada estéril
- Acido sulfúrico 0,1M
- Kits para la determinación del Antígeno se superficie del virus de la hepatitis B
- Alcohol
- Solución de lavado Tampón Buffer Fosfatos
- Estufa a temperatura de 37°C

9. METODOS

Todas las personas que participaron en este estudio se les realizó una anamnesis clínica a través de un test de preguntas estandarizadas y la valoración de sus respuestas fueron en forma privada, tomando en cuenta el historial médico anterior, medicamentos recibidos, debido a que es imposible en la práctica realizar un examen físico y médico completo a cada posible donante.

Posteriormente se determinó el peso, talla, y la presión arterial, para luego proceder a la extracción de sangre de 450 ml, al finalizar la extracción se tomó una cantidad de muestra de sangre en un tubo piloto vacutainer estéril directamente del brazo del donante sin anticoagulante, para las pruebas de tipificación de grupo sanguíneo y pruebas serológicas para HIV, HBsAg, HCV, Chagas, RPR.

Las muestras para tamizaje serológico de hepatitis B mediante los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), se procesaron en el transcurso del día, siendo las muestras reactivas repetidas por duplicado.

9.1 TOMA DE MUESTRA

Mediante la técnica de venopunción se procedió a extraer la sangre, siendo requisito que los donantes se encuentren en ayunas.

Luego se llevó todas las muestras para la centrifugación a 3500 r.p.m durante 5 min para obtener el suero posteriormente preparar todo el material necesario para comenzar a realizar la técnica de ELISA.

9.2 RESULTADOS DE LABORATORIO

Una vez realizada la técnica fueron registrados correctamente.

Toda muestra con resultado reactivo para confirmarse tuvo que ser repetida por duplicado empleando la misma muestra estudio y otra muestra, obtenida de la tubuladura de la unidad de sangre extraída, en los casos reactivos de alguna de estas fueron derivadas al INLASA para ser confirmada por este laboratorio de referencia a través de pruebas de confirmación.

9.3 TÉCNICA DE ELISA

La palabra ELISA proviene de la denominación Inglesa Emzime Linked Immunosorbent Assay, que significa ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima. Constituye un ensayo inmunoenzimático de tipo heterogéneo en el que se utiliza un soporte sólido el cuál se fija uno de los componentes de la reacción inmunológica con el fin de investigar el componente complementario de una muestra dada dicha reacción se revela mediante el uso de una molécula (Ag o Ac) marcada con una enzima.

9.4 PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA (ELISA)

- Preparar el portatiras con la cantidad necesaria de tiras microelisa.
- Pipetear 100 ul de muestra o de control (no diluidos) en los pocillos asignados.
- Agitar durante 15 segundos.
- Incubar a 37°C durante una hora.
- Lavar y poner en remojo cada pocillo 4 veces con tampón fosfato.
- Pipetear 100 ul de sustrato TMB en cada pocillo.
- Incubar las tiras a 15-30°C durante 30 minutos bajo protección de la luz.
- Añadir 100 ul de ácido sulfúrico a cada pocillo.
- Leer la absorbancia a 450nm.

9.5 CALCULO DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE ELISA

Los cálculos deben efectuarse por separado para cada portamiras.

Abreviaturas

CN = Absorbancia del control negativo

CP = Absorbancia del control positivo

CNx = valor medio de los controles negativos

Criterios para los valores CN

1. CN debe ser $< 0,200$. eliminar cualquier $CN \geq 0,200$
2. determinar la media del valor (CNx) de los controles restantes.
3. CN debe ser $\leq 1,4$ CNx eliminar cualquier $CN > 1,4$ CNx y calcular el nuevo CNx.
4. CN debe ser $\geq 0,6$ CNx. Eliminar cualquier $CN < 0,6$ CNx y calcular el nuevo CNx.
5. Repetir los pasos 3 y 4 hasta que no se encuentren más valores aberrantes.

Validez del análisis

Un análisis es válido, si permanecen más de la mitad de los controles negativos y $CP - CNx \geq 0,400$.

Valor del punto de corte

Sí el análisis es válido, calcular el valor del punto de corte $CNx + 0,050$

Una muestra es reactiva si la absorbancia de la muestra es \geq al valor del punto de corte.

Una muestra es no reactiva si la absorbancia de la muestra es $<$ al valor del punto de corte.

9. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE ELISA

- Un resultado no reactivo indica que la muestra analizada bien no contiene AgHBs o bien contiene HBsAg a concentraciones inferiores a los límites de detección de Hepanostika HBsAg Uni-Form II.

- Un resultado reactivo indica que la muestra analizada bien no contiene AgHBs o que contiene un factor de reacción inespecífico.
- Las muestras obtenidas inicialmente como reactivas deberán ser analizadas de nuevo por duplicado. Si la muestra es reactiva es una o ambas repeticiones de la prueba, deben realizarse pruebas adicionales, incluyendo pruebas de confirmación, antes de considerar la muestra como positiva para el AgHBs.
- Las muestras inicialmente reactivas que son no reactivas en las pruebas repetidas, se deberán considerar como no reactivos que en la prueba repetida son no reactivos pueden aparecer por uno de los siguientes problemas técnicos.
 - Contagio de una muestra altamente reactiva debido a la contaminación del equipo o de las puntas de pipeta.
 - Contaminación del substrato con iones de metal.
 - Contaminación cruzada por vapor o gotas de reactivo.
 - Aspiración o lavado incorrecto en el procedimiento de lavado.
 - Errores de lectura, por ejemplo, debido a gotas de líquido debajo del pocillo o burbujas de aire en el pocillo.

Los criterios de validación de un sistema diagnóstico son necesarios ya que la tecnología se encuentra cambiando o mejorando constante mente y es esencial para establecer la confiabilidad del método en cuestión. Parámetros tales como sensibilidad, especificidad, y reproducibilidad del análisis son importantes para definir su aceptación.

Aunque existe una estrecha correlación entre el AgsHB y el nivel de infectividad, los métodos actualmente disponibles no pueden detectar y identificar todas muestras de sangre infectadas o casos de infección por VHB como resultado de la limitación de la detección a niveles bajos de AgVHBs.

Esta prueba no es de elección para la monitorización de pacientes de HB en tratamientos con fármacos antivíricos (por ejemplo Lamovudin), antígenos inmunodepresores o anticuerpos anti-HBs.

En el curso de los tratamientos anteriormente mencionados, pueden inducirse o expresarse preferentemente mutaciones en la región del Ag VHBs mutado puede en ocasiones no ser adecuadamente detectado por la prueba Hapanostika Uni-Form II. La interpretación de un resultado reactivo no debe basarse únicamente en el resultado de la prueba de cribado.

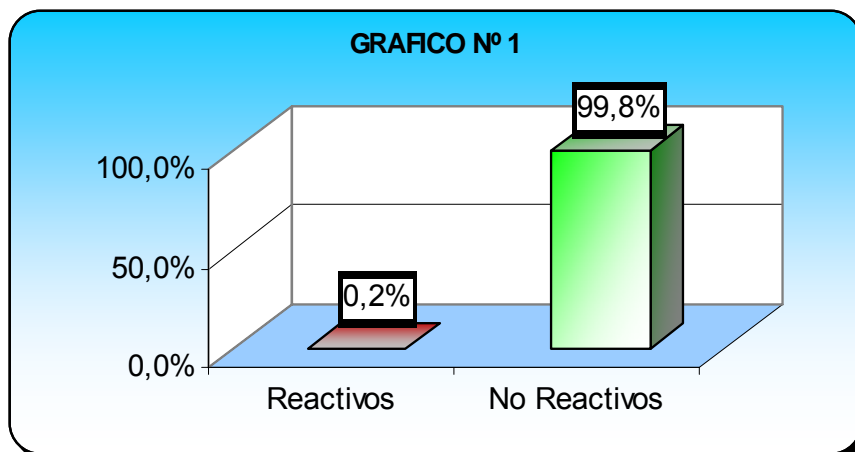
10. RESULTADOS

1. Distribución de casos reactivos y no reactivos al antígeno de superficie de VHB en donantes voluntarios que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005.

De 3724 muestras de donantes voluntarios que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005, 3715 no presentan el antígeno de superficie del VHB que representa el 99,8% y si presentan la presencia del antígeno del VHB a 0.2%.

CUADRO No.1

Donantes	F. Absoluta	F. Relativa
No reactivos	3715	99,80%
Total	3724	100%



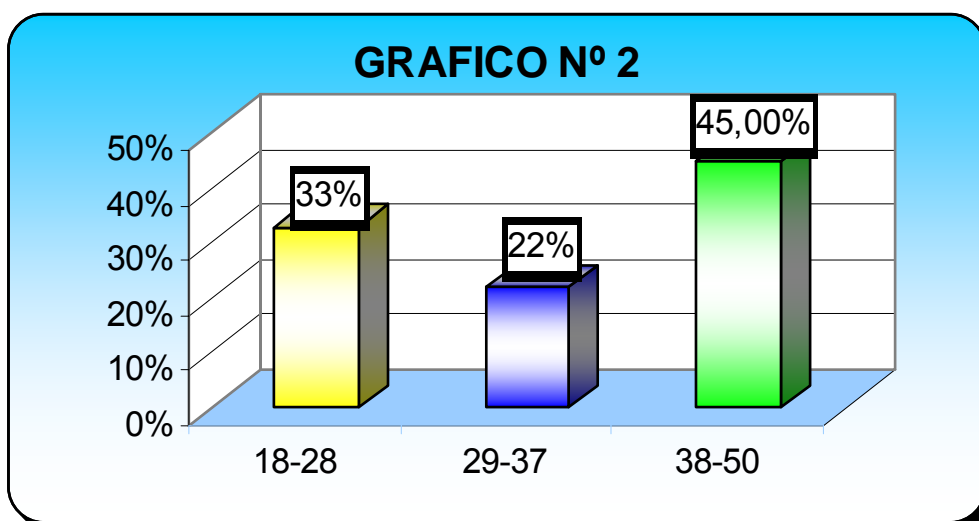
Fuente: Elaboración propia -2005

2. Distribución por grupo etáreo de muestras de donantes voluntarios que presentan reactivo al antígeno de superficie del VHB, que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005.

Se encontró que el grupo etáreo más afectado, esta comprendido entre los 38-50 años con 45%, seguido por las edades de 18-28 años con el 33% y las edades comprendidas entre los 29-37 años con un 22%.

CUADRO 2

Edades	F. Absoluta	F. Relativa
18-28	3	33%
29-37	2	22%
38-50	4	45,00%
Total	9	100%



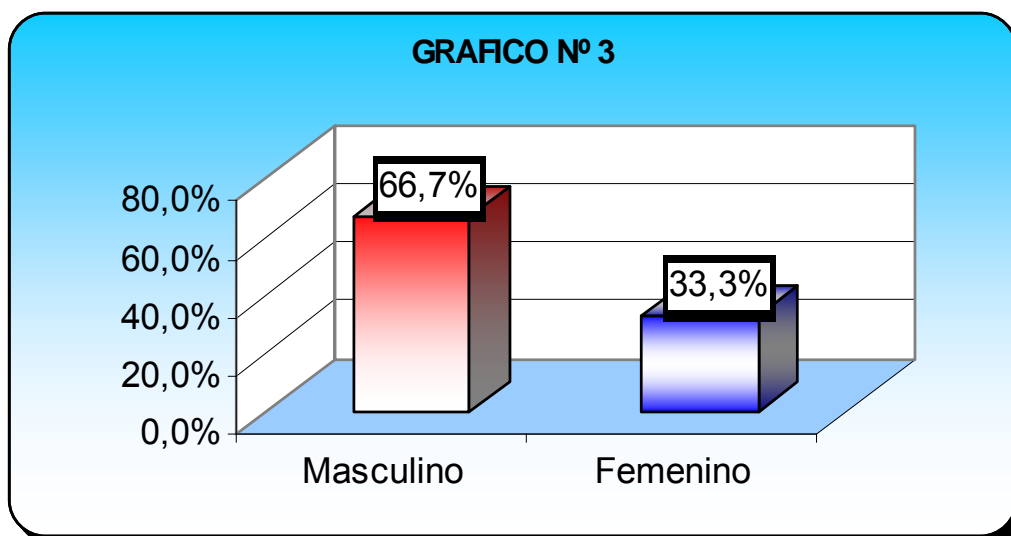
Fuente: Elaboración propia -2005

3. **Distribución por sexo de muestras en donantes voluntarios con resultado reactivo al antígeno de superficie del VHB, que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005.**

EL cuadro refleja que de los casos de donantes que presentaron antígenos de superficie del VHB, el sexo masculino es el más afectado con el 66,7% que corresponde a 6 casos y el sexo femenino que presenta una afección por el VHB en un 33,3% que corresponde a 3 casos.

CUADRO N° 3

Exo	F. Absoluta	F. Relativa
Masculino	6	66,7%
Femenino	3	33,3%
Total	9	100%



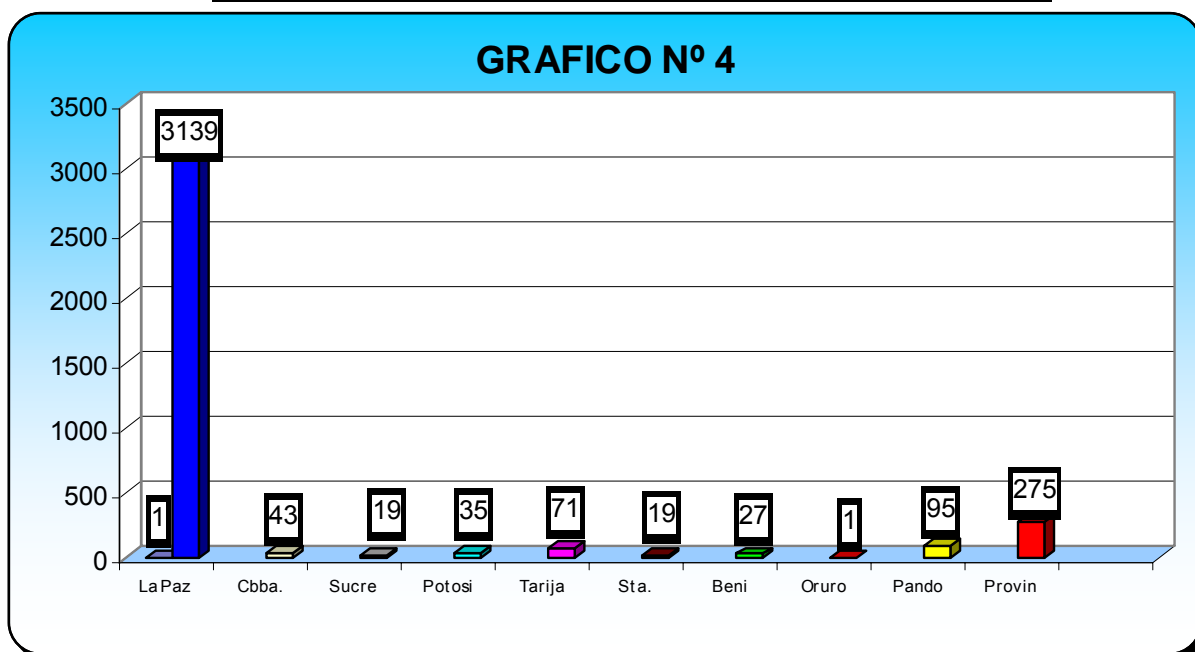
Fuente: Elaboración propia -2005

4. Distribución de donantes voluntarios según lugar de procedencia que fueron reactivos y no reactivos al antígenos de superficie del VHB, que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005.

El cuadro nos muestra que el mayor porcentaje de donantes reactivos al antígeno de superficie del VHB procedieron de la Ciudad de La Paz área urbana con porcentaje del 44%, un 12% de diferentes provincias del departamento de La Paz y se tuvo un solo caso reactivo procedentes del departamento de Tarija lo cual representa un 12% del total de casos reactivos.

TABLA N° 4

Procedencia	Reactivos		No Reactivos	
	F. Absoluta	F. Relativa	F. Absoluta	F. Relativa
La Paz	4	44%	3139	84,3%
Cbba.	0	0%	43	1,2%
Sucre	0	0%	19	0,5%
Potosí	0	0%	35	0,9%
Tarija	1	12%	71	1,9%
Sta. Cruz	0	0%	19	0,5%
Beni	0	0%	27	0,7%
Oruro	0	0%	1	0,0%
Pando	0	0%	95	2,6%
Provincias	4	44%	275	7,4%
Total	9	100%	3724	100,0%



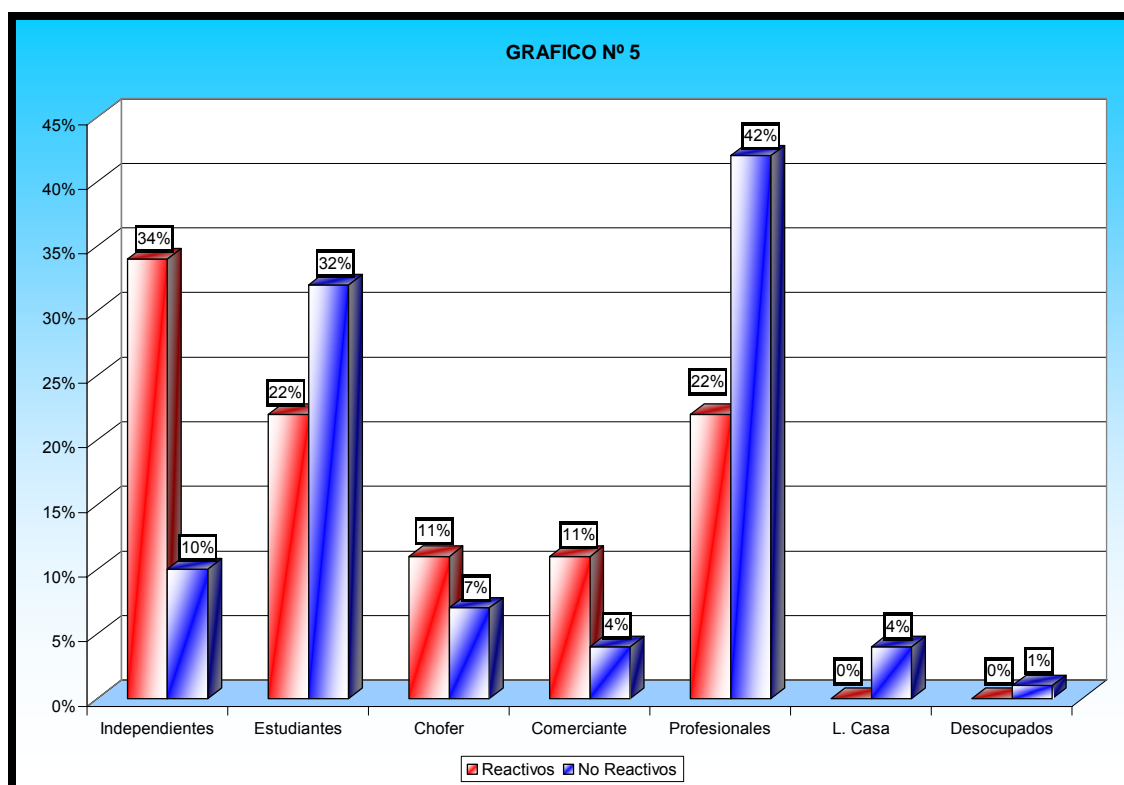
Fuente: elaboración propia -2005

5. Distribución por actividad u ocupación de donantes voluntarios reactivos y no reactivos al antígeno de superficie del VHB, que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de enero a julio del 2005.

Con relación a la ocupación o actividad de donantes voluntarios los casos que son reactivos al antígeno de superficie del VHB (3) donantes son independientes lo que representa un 34%, (2) estudiantes que es el 22%, (2) profesionales que representan el 22%, (1) , (1) comerciante en ambos casos es 11% y no se presentó ningún caso en desocupados.

TABLA N° 5

Ocupación	Reactivos		No Reactivos	
	F. Absoluta	F. Relativa	F. Absoluta	F. Relativa
Independientes	3	34%	390	10%
Estudiantes	2	22%	1193	32%
Chofer	1	11%	270	7%
Comerciante	1	11%	165	4%
Profesionales	2	22%	1536	42%
L. Casa	0	0%	140	4%
Desocupados	0	0%	30	1%
Total	9	100%	3724	100%



Fuente: Elaboración propia -2005

11. DISCUSION

El estudio de marcadores de infección por VHB pone de manifiesto dos realidades epidemiológicas muy diferentes. Las poblaciones rurales andinas y dos poblaciones en riesgo estudiadas en la ciudad de Cochabamba presentaron HBsAg que pueden considerarse **bajas (0,5 y 1,0%)**. En conjunto, estas cifras son similares a las encontradas en Venezuela en la población de la ciudad de Maracaibo (21) y algo menores que las descritas en España con respecto a la población adulta de Madrid o Barcelona (22, 23), lo que refleja una situación próxima al concepto de baja endemia.

En nuestro estudio se ha encontrado que el **0,2% fueron reactivos al antígeno de superficie del VHB en donantes voluntarios** que asistieron al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz de un total de población de 3724 muestras analizadas; sin embargo otro trabajo realizado en el Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios de 2535 muestras 10 fueron reactivas al AgsHB con un 0,50%, en este trabajo una de las conclusiones importantes fue que la técnica de ELISA es la más específica para la detección del antígeno de superficie del VHB.

El Tamizaje Serológico de las unidades de sangre total y hemocomponentes a transfundir tiene vital importancia en el área de hemovigilancia, así como también en la disminución del riesgo de transmisión de enfermedades transmisibles por vía transfusional siguiendo estrictamente la normativa legal cumpliendo con el artículo 14 de la Ley 1687 de la Medicina Transfusional y Bancos de Sangre para Bolivia.

El hecho de haber encontrado un **0,2%** relativamente mayor de donantes reactivos en el **sexo masculino** no es relevante debido a que los datos del BSRDLP muestran que acuden a donar más hombres que mujeres, comportamiento que también fue observado en la población estudiada, 9 casos resultaron reactivos al marcador de diagnóstico analizado, sugiriendo que la afección (Hepatitis B) sería inminente, dato representativo para fines epidemiológicos.

En una investigación realizada por Fano Viamonte R. "Prevalencia y comportamiento del antígeno de superficie de la hepatitis B en un banco de sangre de Ciudad de La Habana", se detectó que el mayor número de casos positivos estaba en el grupo de **20 a 39 años**.

En la investigación realizada en el Banco de Sangre de Referencia Departamental de La Paz, el grupo etáreo más afectado, son las edades que estaban comprendidas entre los **38-50 años** con 45%, dato discordante con el estudio efectuado en la ciudad de La Habana-Cuba.

En junio de 2003, Padrón G *et al.* Encontraron en un estudio preliminar sobre Hepatitis B, presentado en el Simposio Biotecnología Habana 2002, Ciudad de La Habana, Cuba) una prevalencia de **1,5 % de HBsAg** en donantes de sangre de la provincia de La Habana, cifra que es más de 13 veces mayor que la observada en el presente trabajo de investigación. La diferencia observada, puede atribuirse al hecho de que el referido estudio fue realizado en bancos de sangre ubicados precisamente en una isla ubicada en zona de alta endemicidad para esta enfermedad.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que los donantes seroreactivos para el antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B, proceden en su mayoría de zonas urbanas del departamento de La Paz, lugar en el cual desarrollan sus actividades diarias, aunque el lugar de origen de algunos de ellos no haya sido la ciudad de La Paz, sino las provincias aledañas a ésta. También se destaca el hecho de tener un caso seroreactivo cuyo lugar de origen fue la ciudad de Tarija, pero que residía hace muchos años en nuestra ciudad, por tanto podemos inferir que adquirió la infección en la ciudad de La Paz.

Como corolario será importante señalar que en Bolivia los datos históricos sobre la prevalencia de HBsAg en donantes de sangre son escasos, es por ello que se tuvo que analizar y comparar los datos obtenidos frente a datos de otros países del continente americano.

12. CONCLUSIONES

- Se determinó que un porcentaje **0,2%** de donantes voluntarios y de reposición que asisten al Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz presentaron el antígeno de superficie del VHB, por tanto el **99,8%** de los casos fueron no reactivos al antígeno de superficie del VHB.
- Grupo etáreo que corresponden (3) de **18-28 años**, (2) al grupo de **29-37 años** y (4) de **38-50 años**.
- Del total de los casos de donantes que presentaron el antígeno de superficie del VHB, **el sexo masculino es el más afectado con el 66,7%** y **el sexo femenino con un 33,3%**.
- La relación entre procedencia de donantes de sangre y seroreactividad al HbsAg, fue la siguiente: 4 casos precedían de la ciudad de La Paz, 4 casos procedían de provincias del departamento de La Paz y 1 caso del departamento de Tarija. Sin embargo los 9 casos seroreactivos tenían una permanencia en la ciudad de La Paz, mayor a 10 años.
- De los 9 casos reactivos al antígeno de superficie del VHB, 3 pertenecían a donantes de sangre cuya ocupación era trabajo independiente, 2 estudiantes, 1 chofer, 1 comerciante y 2 profesionales con grado académico universitario. No se pudo establecer una relación directa entre la ocupación como factor de riesgo y la presencia de seroreactividad para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, puesto que los 9 casos detectados presentaron diferentes tipos de ocupaciones.
- El grupo de donantes que tiene el porcentaje más alto de prevalencia es el comprendido entre 38 y 50 años con 45%.

13. RECOMENDACIONES

- Se recomienda tener un especial cuidado y realizar un control más estricto en la selección clínica de donantes cuyas edades correspondan al el grupo etáreo de mayor incidencia encontrado en el presente estudio de investigación, vale decir personas tanto de sexo femenino como de sexo masculino cuyas edades fluctúen entre 38-50 años ya que se ha evidenciado que son los mas vulnerables a presentar este tipo de infección. Por supuesto este hecho no significa descuidar la rigurosa selección clínica en donantes de menor edad.
- Se recomienda realizar un estudio que correlacione específicamente la presencia de seroreactividad al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y el mecanismo de contagio, puesto que en el presente estudio se puede señalar que ninguno de los donantes refirió haber sido sometido a transfusiones sanguíneas, no haberse realizado tatuajes recientes (ultimo año) ni piercings, así como tampoco haber utilizado drogas por vía parenteral, por tanto podemos especular que el mecanismo de contagio fue por vía sexual. Por tanto y de manera adicional, para entender los métodos de transmisión y prevención del VHB se necesita un mayor conocimiento de lo que ocurre dentro la cultura de las personas que tienen conductas de riesgo y se debe tener un mejor conocimiento de la historia natural del VHB.
- Las personas que trabajan en un Banco de Sangre deben tomar en cuenta las medidas de bioseguridad para evitar contagios, tener como norma la inmunización pasiva, (vacuna contra la hepatitis B), misma que debe estar vigente, y por supuesto debe existir un adecuado tamizaje serológico de las unidades a transfundir y un correcto desecho de las unidades contaminadas.
- Los pocos pero importantes datos epidemiológicos sobre la frecuencia de Hepatitis B en nuestro país sugieren que este virus circula en la población boliviana y justificaría realizar esfuerzos destinados a detectar brotes y casos esporádicos de hepatitis B en el país.
- La falta de datos clínicos sobre los participantes y la escasez de datos sobre la incidencia del virus de hepatitis B en Bolivia impiden evaluar

la repercusión sanitaria que pueda tener la situación epidemiológica documentada, es por ello que sobre la base de los datos obtenidos, consideramos conveniente realizar nuevos estudios que permitan estimar específicamente dicha repercusión.

GLOSARIO

Agudo: Enfermedad de evolución breve y relativamente grave. Un estado patológico nuevo.

Anticuerpo: Molécula de inmunoglobulina con una secuencia de aminoácidos específicos en virtud de la cual interaccionan solamente con el antígeno que indujo su síntesis en las células de la serie linfóide o con antígenos muy relacionados con él.

Antígeno: Cualquier sustancia capaz, en condiciones apropiadas, de incluir una respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con los productos de dicha respuesta, esto es con anticuerpos específicos o linfocitos T específicamente sensibilizados o ambos.

Antígeno Australiano: Antiguo nombre de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B cubierta del virus hallada en el suero de los pacientes infectados, fue denominado australiano por sus descubridores debido a que fue identificado por primera vez en la sangre de un aborigen de Australia.

Banco de Sangre: Según el capítulo I artículo 1, de la ley 1687 del 26 de marzo de 1996” Es servicio especializado con registro y licencia de funcionamiento de la secretaria Nacional de Salud, encargado de la recolección, extracción, procesamiento, almacenamiento, conservación, fraccionamiento, control de calidad y distribución de sangre humana destinada a transfusiones o investigaciones en forma total, o de sus componentes separados, con fines de lucro, a centros de transfusión o investigación públicos o privados.”

Capside: Cubierta proteica que envuelve el centro de ácidos nucleicos DNA o RNA de los virus. La capsida y el ácido nucleico forman en conjunto la nucleocapsida.

Cirrosis: Enfermedad del hígado caracterizada por granulaciones de color rosado donde los hepatocitos destruidos son reemplazados por tejido graso.

Conjugado: Proteína (Ag o Ac) marcada generalmente con peroxidasa de rábano picante, tiene la característica de formar un complejo inmunitario estable, además mantiene las propiedades inmunológicas de la proteína.

Crónico: Enfermedad que se caracteriza por su permanencia en el individuo durante un periodo de tiempo prolongado.

Donante de Sangre: Según el capítulo I, de la Ley 1687 del 26 de marzo de 1996 “ Es la persona que, en forma voluntaria, libre y conciente, cumpliendo los requisitos complementarios sin presión alguna, entrega su sangre o algunos de sus componentes, sin retribución económica y a título gratuito para su utilización con fines preventivo, terapéuticos, de diagnóstico o de investigación.

Donante voluntario y no remunerado: Es la persona que dona sangre, plasma u otro componente de la sangre por propia voluntad sin recibir pago alguno ya sea en efectivo o en especie que pueda considerarse sustituto del dinero.

Endemia: Enfermedad de morbilidad alta que solo se presenta de cuando en cuando en una comunidad humana. Estación en que predomina ampliamente cualquier enfermedad particular.

ELISA: Método sensible de laboratorio que se emplea para detectar la presencia de antígeno o anticuerpo de interés en muestras biológicas. Emplea inmunoreactividad marcados con enzimas (Ag o Ac) y un soporte de fijación en fase sólida.

Epidemiología: Estudio de las relaciones de los diversos factores que rigen las frecuencias y distribución de enfermedades en una comunidad humana. Campo de medicina que se refiere a la precisión de las causas específicas o brotes de infecciones, trastornos tóxicos o de cualquier otra enfermedad de etiología conocida.

Especificidad: Habilidad que presenta una prueba para identificar correctamente a todos los negativos, es decir no produce falsos positivos.

Genoma: Material genético total contenido dentro de la célula.

Hepatitis: Proceso inflamatorio del hígado causado por un pequeño grupo de virus hepatotróficos.

Infeción: Alteración producida en el organismo por la presencia de bacterias y virus.

Prevalencia: Son los casos encontrados en un estudio epidemiológico de una determinada población.

Sensibilidad: Porcentaje de resultados verdaderos positivos producidos por un método de Laboratorio en individuos que poseen una enfermedad

determinada. Capacidad de una prueba serológica para ser reactiva en presencia de una enfermedad investigada.

Serologia: Estudio de los sueros desde el punto de vista de la inmunidad.

Seroprevalencia: Estudio de los sueros en una proporción de individuos infectados en un momento dado en el total de la población estudiada.

Tamizaje serológico: Es el análisis de los marcadores infecciosos transmisibles por transfusión aplicada a una muestra de sangre obtenida a cada donante.

Transfusión: Consiste en la inyección parenteral generalmente endovenosa, de un hemocomponente.

Virus: Agente infeccioso submicroscópico que contiene información genética pero no se puede reproducir por si mismo , para ello debe invadir a una célula y sus partes del mecanismo de producción de la misma.

BSRDLP: Banco de Sangre de Referencia Departamental La Paz.

12. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Coccozella DR, Albuquerque MM, Borzi S, Barrio M, Dascenzo V, Santecchia JC, 2003; <http://w.w.w.aidesmeds.Com/española/VHB.htm>.
2. Gonzalez J, Adrover RE, Meneses C, Fraquelli E, Curciarello JOE, 2004; <http://w.w.w.galenoced.comsocgastrol/publicaciones/hepatitis.htm>.
3. Ley de la Medicina Transfusional y Bancos de Sangre. Capítulo 4, Artículo 14.
4. Ley de la Medicina Transfusional y Bancos de Sangre. Capítulo 15, Artículo 8.
5. Veyre B, Brette R., 2001; <http://w.w.w.hepatitis.d/hav.htm>.
6. Clin Infect Dis 2001; <http://w.w.w.drscope.COPE.com/pactinfecto-1/c21inlc3-p13htm#metodos>.
Barba M.A. Comunicación Personal.
7. Ecgeverria J.M., Leon O. virus de la HB : Biología, historia natural y diagnóstico de la infección.
8. Enfermedad infecciosa y Microbiología Clínica; Madrid-España:1995;13(1) : 24-25.
9. Echevarría JM, León P. Virus de la hepatitis B: biología, historia natural y diagnóstico de la infección. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13(S1):22–30.
10. Caja Nacional de Salud, Sección Nacional de Estadística al 31 de diciembre 1997. Careaga B.O. Marcadores serológicos de la hepatitis viral, acta Gastroenterológica Boliviana 1981 : 1 p.188-192.
11. León P, Echevarría JM. Virus de la hepatitis D: biología, historia natural y diagnóstico de laboratorio. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 13(S1):40–44.
12. Maroto MC, Bernal MC. Hepatitis por virus A. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995;13(S1): 16–21.
13. Balayan MS. Epidemiology of hepatitis E virus infection. J Viral Hepat 1997;4:155–165.

14. Velazquez O, Stetler HC, Ávila C, Ornelas G, Álvarez C, Hadler SC, et al. Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986–1987. *JAMA* 1990;263:3281–3285.
15. Robbins c. Patología estructural y funcional. 973-978-982.op.cit.p6.9.
16. Albrech A. Aplicacion al Diagnóstico de la enfermedad de Chagas y de las infecciones por HIV.56-10.Op.Cit.75
17. Udani, RH; Kher, K, 1996; <http://w.w.w.seimc.org/control/revi-viro/HBVrev.htm>
18. Chokbunyasit, Nidda; Potacharoen, Orapin; Sirisanthana, Thira, 2000; <http://www.scielo-mx.bvs.br/scielo.php?pid=51665-1146200100030000&scrip=sci-arttx&hIng=es>.
19. Sanchez J-M.Enferm.Infecciosas. Microbiología Clínica, 1999; 4-6-op.cit.p7.
20. Kosiol DE,Henderson Dk.Risk análisis and ocupational esposure to HIV an HBV curiopin *Infect Dis* 1993;6:506-510.
21. Songsivilai, Sirirurg; Dharakul, Tararaj; Senawong, Sansnee, 1998; <http://w.w.w.Scielo-mx.bvs.br/scielo.php?pid=51665-11462001000300008&scrip=sci-arttx&hIng=es>.
22. *Journal of the Central Hospital* 1998 Apr-Jun; 32(2): 75-82 <http://w.w.w.7-nationalacademes.org/spaishbeyonddiscovery/bio-007592-06.html>.
23. Manzanares L. *Acta Pediátrica Española*; 2002; 155.Op.Cit.P.2
24. Forns X, Ampurdanes, S.Clinica de la hepatitis Virales:Hepatitis aguda,Hepatitis crónica, carcinoma hepatocelular, 1995 Jan; 28(1): 1-7
25. *Enfermedad infecciosa y Microbiológica Clínica*;Madrid – España1995;13(1):74-79.
26. Pang L, Alencar FEC, Cerutti C, Milhous WK, Andrade AL, Oliveira R, et al. Hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:347–348.
27. Blitz-Dorfman L, Monsalve F, Atencio R, Porto L, Monzón M, Favorov MO, et al. Serological survey of markers of infection with viral hepatitis among the Yukpa Amerindians from western Venezuela. *Ann Trop Med Parasitol* 1996;90:655–657.

28. Mayorga O, Morales W, Paniagua M, Strannegard O. Prevalence of antibodies to hepatitis A, B, C and E viruses in a healthy population in León, Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 1996;55:17–21.
29. Brahm J, Hurtado C, Moraga M, Gil LC, Velasco M, Alegría S, et al. Infección por virus de la hepatitis E en Chile: informe preliminar. *Rev Med Chil* 1996;124:947–949.
30. Bernal R, Licona JE. Seroepidemiología de la hepatitis E en el estado de Hidalgo. *Rev Gastroenterol Mex* 1996;61:233–238.
31. Talarmin A, Kazanji M, Cardoso T, Pouliquen JF, Sankale-Suzanon J, Sarthou JL. Prevalence of antibodies to hepatitis A, C, and E viruses in different ethnic groups in French Guiana. *J Med Virol* 1997; 52:430–435.
32. Paraná R, Cotrim HP, Cortey-Boennec ML, Trépo C, Lyra L. Prevalence of hepatitis E virus IgG antibodies in patients from a referral unit of liver diseases in Salvador, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57:60–61.
33. Dominguez A., Bruguera M. Salleras L. Epidemiología de las hepatitis virales. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; Madrid España*, 1995;13(1):53-54.
34. Cruells MR, Mescia G, Gaibisso R, Ramírez M, Gutiérrez M, Kohen S, et al. Estudio epidemiológico de los virus de la hepatitis A y E en diferentes poblaciones de Uruguay. *Gastroenterol Hepatol* 1997;20:295–298.
35. Fassopoulos N.C. *Gastroenterología. Y Hepatology*; 1999:182-184 Op.Cit.p.25
36. Zuna H. Prevalencia del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, *Boletín científico del CENETROP vol.Unico. Años 88/89/90*, p.1-5
37. Fornsx., Ampurdanes S. Clínica de la Hepatitis virales: Hepatitis aguda , hepatitis crónica, carcinoma hepatocelular. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica; Madrid – España* 1995;13(1):74-79.
38. Dushelko G.M. *Gastroenterología y Hepatología*; 359. Op.Cit P.R.
39. Machado V.I. *Inmunología del virus de la hepatitis B. Gen; Venezuela* 1998;45(4):315-328. op.cit.p39.

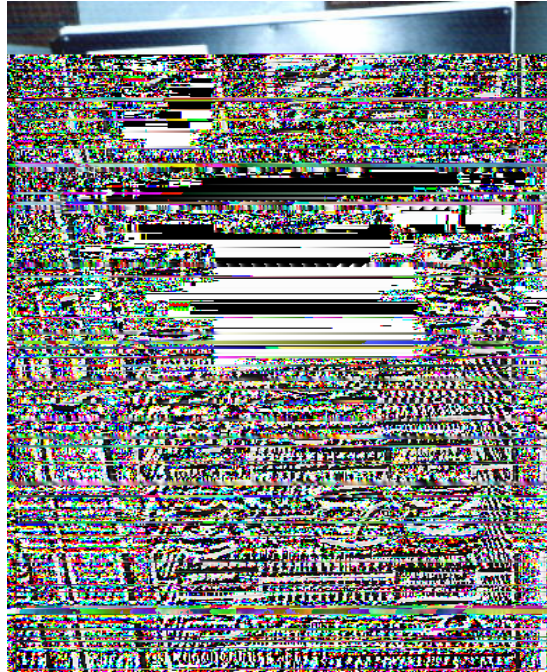
ANEXOS



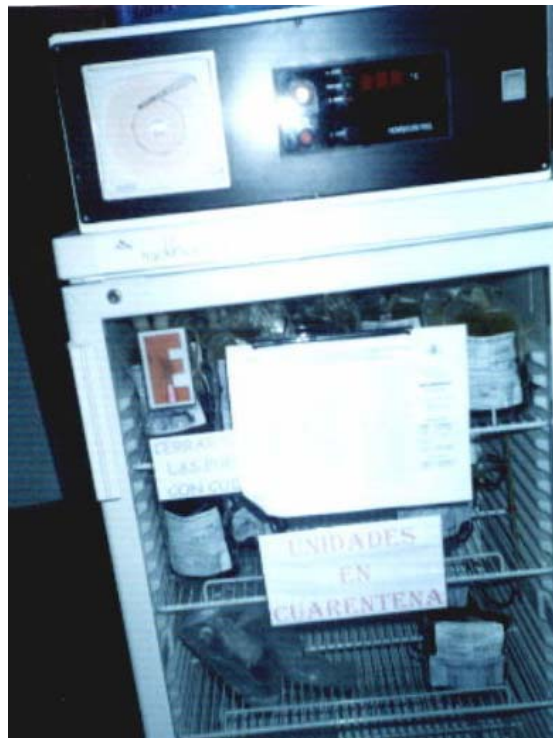
Centrifugadora



Estufa



Unidades de Despacho diario



Unidades en cuarentena



Procesamiento de información



Separación de las bolsas por grupo sanguíneo



Star fax



Reactivos



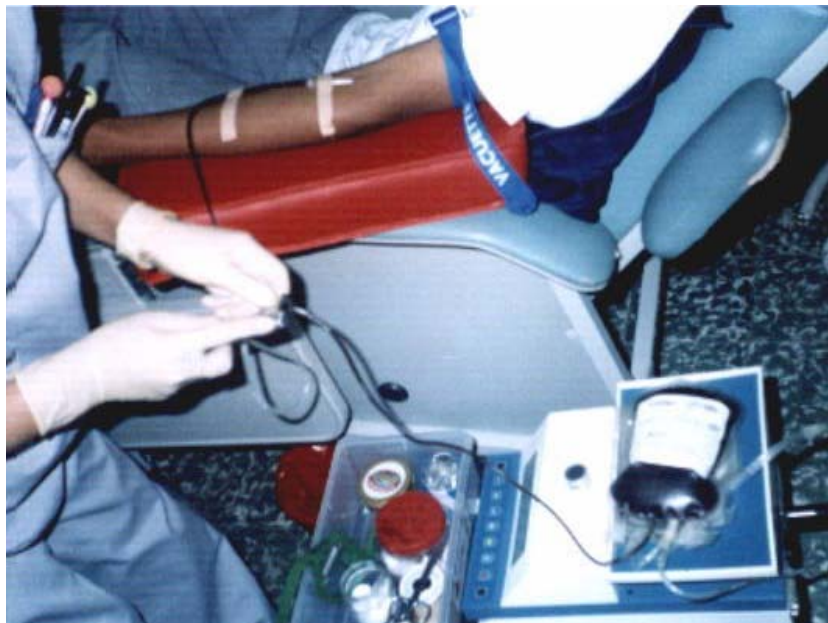
Extracción y peso de la bolsa



Ordenamiento



Toma de muestra



Toma de muestra



Historia Clínica del paciente



Anamnesis



Anamnesis



Anamnesis

MINISTERIO DE SALUD Y DEPORTES
GOBIERNO MUNICIPAL DE LA PAZ



BANCO DE SANGRE DE REFERENCIA DEPARTAMENTAL DE LA PAZ

VOTO DE AUTOEXCLUSION

No. de unidad de sangre

Estimado donante:

Usted ya donó su sangre. Si se sintió obligado a hacerlo por alguna circunstancia, si no contestó sinceramente las preguntas por temor o vergüenza, si piensa que su sangre puede no ser segura, todavía está a tiempo para evitar un riesgo al paciente que la reciba.

Esta información será totalmente confidencial y usted recibirá su comprobante de donación aunque su sangre no sea utilizada para transfusión

Lea con Atención:

Marque solo una de las alternativas abajo señaladas para que su sangre pueda ser utilizada, consciente de los riesgos que pueda representar para quien reciba mi sangre.

SI autorizo su uso para transfusiones

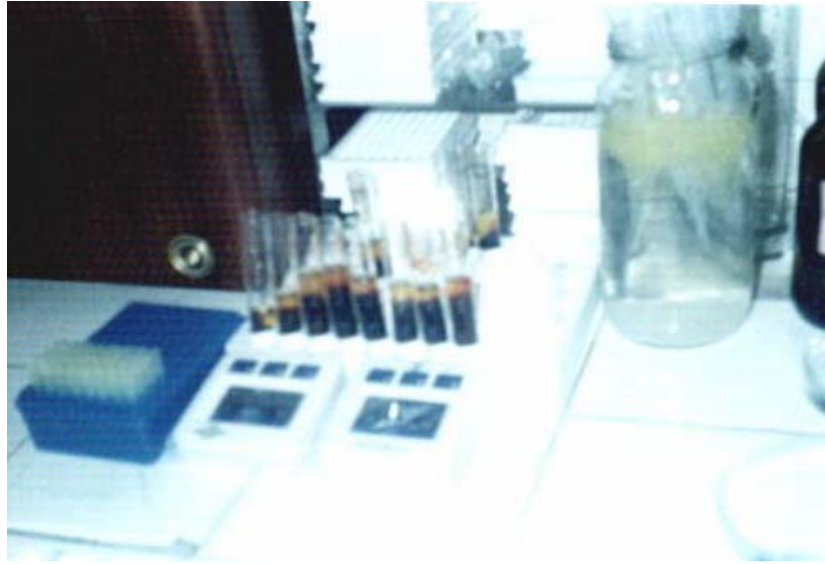
**NO autorizo su uso para transfusiones,
porque mi sangre puede ser de riesgo**

Después de marcar la opción, doble la papeleta y por favor tenga la gentileza de colocar este documento en el Buzón antes de salir.

Gracias por su donación.







MINISTERIO DE SALUD Y DEPORTES
GOBIERNO MUNICIPAL DE LA PAZ



BANCO DE SANGRE DE REFERENCIA DEPARTAMENTAL DE LA PAZ

HOJA DE REGISTRO DEL DONANTE

Código del Donante

Fecha Hora

Nombre y apellidos

C.I. Pasap.

Fecha de Nacimiento ____ / ____ / ____ Edad ____ Sexo: M F

Procedencia: Urbana Rural

Domicilio / Residencia Calle/Av. Nº

Zona Ciudad Departamento

Teléfono Celular Teléfono (vecino/familiar)

Lugar de Trabajo

Dirección: Calle/ Av. Nº Zona

Teléfono Fax Casilla E-mail

Profesión Ocupación

Tipo de Donación:

Voluntaria /Altruista Reposición /Familiar Autóloga

Primera vez Habitual Fecha de la última donación: ____ / ____ / ____