

ESTUDIO SEROLOGICO Y COMPARACION DE LAS TECNICAS DE DETECCION DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN HEPATOPATIAS AGUDAS Y CRONICAS

J. A. BASUALDO, R. A. DE TORRES

Se estudiaron 143 pacientes, de los cuales 100 presentaron hepatitis viral aguda (HVA), 8 tuvieron hepatitis viral persistente (HVP), 13 hepatitis crónica agresiva (HCA) y 22 cirrosis.

La incidencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) por distintas técnicas fue la siguiente: en HVA, 25% por inmunodifusión (ID), 35% por contrainmunolectroforesis discontinua (CIED) y 52% por radioinmunoensayo (RIA); en HCA, 31% por ID, 46% por CIED y 100% por RIA; en las cirrosis, 27% por ID, 32% por CIED y 63% por RIA.

Dr. J. A. Basualdo Fatjat: Jefe de trabajos prácticos, Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina; actualmente becario externo del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Department of Virology/ Epidemiology, Baylor College of Medicine, Texas Medical Center, Houston, Texas, E.U.A.; Dra. R. A. de Torres: Profesora Titular, Orientación Microbiología, Departamento de Inmunología y Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina; Miembro de la carrera de investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

Este trabajo se ha realizado con subsidios del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Solicitud de separatas al Dr. Basualdo.

La incidencia del anticuerpo contra el HBsAg (anti-HBs) fue en HVA 0% por ID, 1% por CIED y 12% por RIA; en HVP, 0% por ID y CIED y 60% por RIA; en HCA, 0% por ID y CIED y 15% por RIA; en cirrosis, 0% por ID y CIED y 32% por RIA.

Es indudable la mayor sensibilidad del RIA con respecto a la ID y a la CIED. Se considera al RIA como la técnica de elección para el seguimiento de los pacientes.

Se detectaron los marcadores del virus de la hepatitis B (HBsAg y anti-HBs) en distintos momentos de la evolución de HVA y HVP. Se discute la relación entre dichos marcadores y las formas evolutivas de las hepatopatías.

INTRODUCCION

La incidencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) en las hepatitis virales agudas varia desde menos del 14% (1) a más del 63% (2), dependiendo estos valores no sólo de la sensibilidad de la técnica utilizada sino también del tiempo de

toma de la muestra y de las condiciones epidemiológicas de las series de pacientes estudiados. La incidencia hallada en Argentina por distintos autores ha sido: 36% (3), 36% (4) y 17% (5), investigada por contrainmunolectroforesis discontinua (CIED).

La incidencia del HBsAg en pacientes con hepatopatías crónicas también tiene grandes variaciones porcentuales que oscilan entre el 0% (6) a más del 83% (7), dependiendo de los factores citados anteriormente. En las formas crónicas la incidencia hallada en nuestro país ha sido: 24% (3), 46% (8) y 57% (9), porcentajes todos por CIED. Por radioinmunoensayo (RIA), se ha encontrado el 85,5% (10).

En este trabajo se ha estudiado la incidencia del HBsAg y de los anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti-HBs) en hepatitis virales agudas y en hepatopatías crónicas mediante distintas técnicas y en varios momentos de la evolución de la enfermedad.

Los objetivos han sido: 1) aproximar datos relativos de la incidencia del HBsAg y del anti-HBs en las hepatitis agudas y crónicas de pacientes atendidos en el área de la ciudad de La Plata, Buenos Aires, Argentina. 2) Determinar la aplicabilidad práctica de las distintas técnicas de detección del HBsAg y del anti-HBs en estudios operativos a nivel de Bancos de Sangre y de laboratorios asistenciales de atención médica.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 143 pacientes del Hospital Interzonal de Agudos General San Martín, La Plata, Buenos Aires, Argentina, de los cuales 68 eran varones y 75 mujeres; 100 pacientes, con una edad promedio de 33 años, presentaron un cuadro clínico y datos de laboratorio compatibles con hepatitis viral aguda (HVA). En los 43 pacientes restantes se estableció el

diagnóstico de diversas hepatopatías crónicas: 8 hepatitis virales persistentes (HVP), 13 hepatitis crónicas agresivas (HCA), y 22 cirrosis (C); el promedio de edad de este grupo fue de 42 años.

Las técnicas de investigación empleadas para la detección del HBsAg y del anti-HBs fueron la inmunodifusión (ID), la contrainmunolectroforesis discontinua (CIED) y el radioinmunoensayo (RIA).

RESULTADOS

A) Resultados generales de la incidencia del HBsAg y del anti-HBs obtenidos por la técnica de CIED. En la Tabla 1 se presentan los resultados globales del estudio de marcadores específicos de la infección por el agente de la hepatitis B en el grupo de pacientes antes citados.

Se detectó la presencia del HBsAg por la CIED en el 35% de los pacientes rotulados con HVA y en el 38% de aquéllos que integran el grupo de las hepatopatías crónicas. Dentro de las formas crónicas los pacientes en los que en algún momento de su evolución se detectó HBsAg, se distribuyeron en un 37% de HVP, 43% fueron HCA y 32% correspondieron a cirrosis.

En toda la serie de enfermos se detectó por CIED un solo anti-HBs.

El grupo HBsAg (+) afectado de HVA estaba compuesto por 18 varones y 17

Tabla 1. Incidencia de HBsAg en distintas hepatopatías detectada por CIED.

Patología	Número de pacientes	Varones	Mujeres	Promedio de edad (años)	HBsAg %
Hepatitis viral aguda	100	45	55	33	35
Hepatitis viral persistente	8	7	1	33	37
Hepatitis crónica agresiva	13	6	7	45	46
Cirrosis	22	10	12	49	32
Total	143	68	75		

mujeres. La edad promedio de los varones fue de 31 años y la de las mujeres de 40 años. El promedio de edad de los pacientes con HVA, HBsAg (—) fue de 30 años para los varones y de 36 en las mujeres.

Del grupo de pacientes con hepatopatías crónicas, en 16 se detectó HBsAg por CIED. De ellos, 9 eran varones y 7 mujeres; la edad promedio de los varones fue de 44 años y la de las mujeres de 36 años. De los pacientes en los cuales el estudio del HBsAg resultó negativo, 10 eran varones y 17 mujeres, con una edad promedio de 42 años.

Se destaca el hecho de no haber detectado en toda la población de enfermos crónicos ningún anti-HBs utilizando CIED.

B) Estudio comparativo de la presencia del HBsAg y del anti-HBs en suero por distintas técnicas de detección. Los resultados antes expuestos (fundamentalmente los relacionados a anticuerpos), llevaron a un estudio comparativo de detección de HBsAg y de anti-HBs empleando las técnicas de ID, CIED (que consideramos en nuestro medio la técnica índice) y el RIA en fase sólida.

Los resultados de este estudio se presentan en la Tabla 2.

En HVA, el HBsAg se detectó en el 25%, 35% y 52% por las técnicas de ID, CIED y RIA respectivamente.

Tabla 2. Comparación de la sensibilidad de ID, CIED y RIA en la detección de HBsAg y anti-HBs en distintas hepatopatías.

Patología	Número de casos	ID		CIED		RIA	
		HBs Ag %	anti-HBs %	HBs Ag %	anti-HBs %	HBs Ag %	anti-HBs %
Hepatitis viral aguda	100	25	0	35	1	52	12
Hepatitis viral persistente	8	25	0	37	0	87	60
Hepatitis crónica agresiva	13	31	0	46	0	100	15
Cirrosis	22	27	0	32	0	63	32

Una importante discrepancia fue encontrada en la búsqueda del anti-HBs: usando la ID no se pudo encontrar ninguno y el porcentaje por la CIED fue 1%, mientras que el RIA mostró positividad para la presencia de anticuerpos en un 12%.

En cuanto al estudio de las formas persistentes, los resultados mostraron diferencias aun más críticas; la presencia de HBsAg fue de un 25% por ID, 37% por CIED y 87% por RIA.

Con respecto al anti-HBs, los resultados fueron 0% por ID y por CIED y 60% por RIA.

En los 13 pacientes agrupados con diagnóstico de hepatitis crónica agresiva, los porcentajes para HBsAg fueron: 31% por ID, 46% por CIED y 100% por RIA; los valores para la detección de anti-HBs fueron: 0% por ID y CIED y 15% por RIA.

En las cirrosis, el HBsAg fue detectado en el 27% por ID, 32% por CIED y 63% por RIA; en cuanto a anti-HBs fue 0% por ID y CIED y 32% por RIA.

C) Estudio comparativo de síntomas, signos y datos de laboratorio de las hepatopatías agudas y crónicas estudiadas. Se efectuó la comparación de los siguientes parámetros: ictericia, hepatomegalia, esplenomegalia, ascitis y elevación de las transaminasas, entre los pacientes agudos y crónicos con HBsAg positivos y negativos. No se encontraron diferencias significativas.

D) Perfiles de HBsAg y aminotransferasas en sangre de pacientes con distintos tipos de evolución. En todos los enfermos incorporados a este estudio se intentó, además de las muestras obtenidas en el período agudo, mantener un seguimiento clínico y de laboratorio.

Lamentablemente este tipo de programa, dadas las condiciones asistenciales,

resulta muy difícil de cumplir en un porcentaje alto de pacientes. Es, sin embargo, instructivo documentar aquí el resultado de algunos de los estudios en los cuales el objetivo del seguimiento pudo ser alcanzado.

El primer caso es un paciente de sexo masculino de 27 años de edad, de profesión médico, que inicia su enfermedad en 1976 y está bajo control en la actualidad. En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos. Los datos de antigenemia, aminotransferasas y su evaluación clínica revelan un cuadro de hepatitis viral aguda tipo B de resolución definitiva. En el último año de control no se detectó antigenemia y los valores de enzimas séricas son normales al igual que la biopsia hepática efectuada.

El segundo caso se refiere a un paciente también del sexo masculino de 39 años de edad y de profesión ingeniero.

En la Figura 2 se presentan los resultados de los estudios de laboratorio entre el 22 de marzo, fecha del ingreso del paciente al estudio, y el 21 de julio; en este período

se produce una respuesta compatible con la curva anterior, en la cual disminuyen las aminotransferasas y en la muestra del 21 de julio la detección de HBsAg fue negativa por CIED.

En noviembre el individuo recurre a la consulta con síntomas de enfermedad. El laboratorio revela nuevamente la presencia de HBsAg en sangre y un discreto aumento de las aminotransferasas.

Desde entonces hasta la actualidad este paciente presenta antigenemia positiva y niveles de transaminasas normales; su evaluación clínica es relativamente normal y se le asignó el diagnóstico de hepatitis viral persistente. El diagnóstico se confirmó mediante la biopsia hepática.

DISCUSION

Nuestros hallazgos coinciden con los de estudios realizados en distintas partes del mundo y confirman que el HBsAg puede ser detectado en el suero de pacientes con HVA en un alto porcentaje (11-13, 3,4).

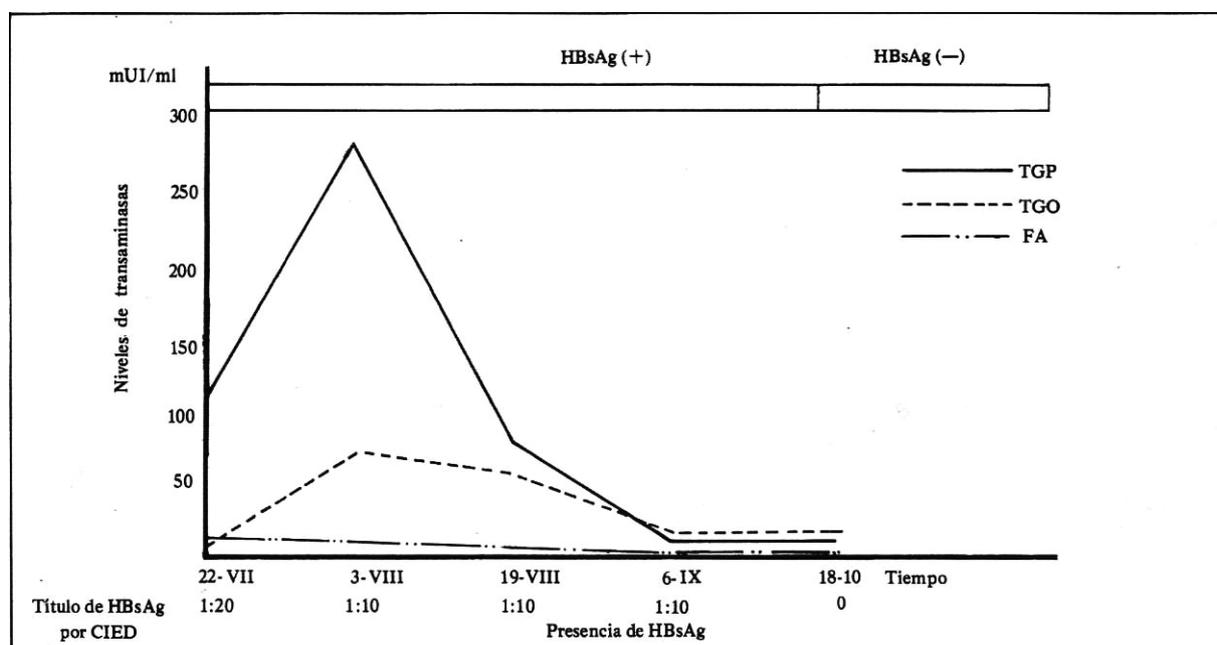


Figura 1. Hepatitis viral aguda de evolución favorable.

Las diferencias porcentuales obtenidas por distintas técnicas, en los mismos pacientes, son consecuencia de la mayor sensibilidad de una con respecto a las otras. Además de la sensibilidad de la técnica, debe tenerse en cuenta el momento en que se toma la primera muestra debido a la mayor concentración viral en sangre en las tres primeras semanas de postictericia.

Podemos concluir que en toda hepatitis viral aguda es necesaria la detección del HBsAg con la técnica de mayor sensibilidad (en nuestro caso RLA) y lo más precozmente posible en relación con el inicio de la enfermedad. De esta manera nos acercamos a las condiciones ideales de detección del HBsAg.

Durante el seguimiento efectuado en pacientes con HVA de evolución benigna hemos confirmado la estrecha relación que

existe entre el descenso del título del HBsAg certificado por la CIED y los niveles de transaminasas; al descender la antigenemia y las transaminasas, observamos siempre la mejoría clínica del paciente.

No encontramos asociación alguna entre los títulos de HBsAg por la CIED y la intensidad de enfermedad.

El paciente que se presenta en la Figura 1 es un caso típico de la relación entre los niveles de antigenemia y las transaminasas. El estado actual de este enfermo es clínica y virológicamente negativo.

En las hepatitis virales persistentes es donde las variaciones de la concentración del virus son más evidentes.

Las fluctuaciones de la concentración viral junto a las transaminasas se observan

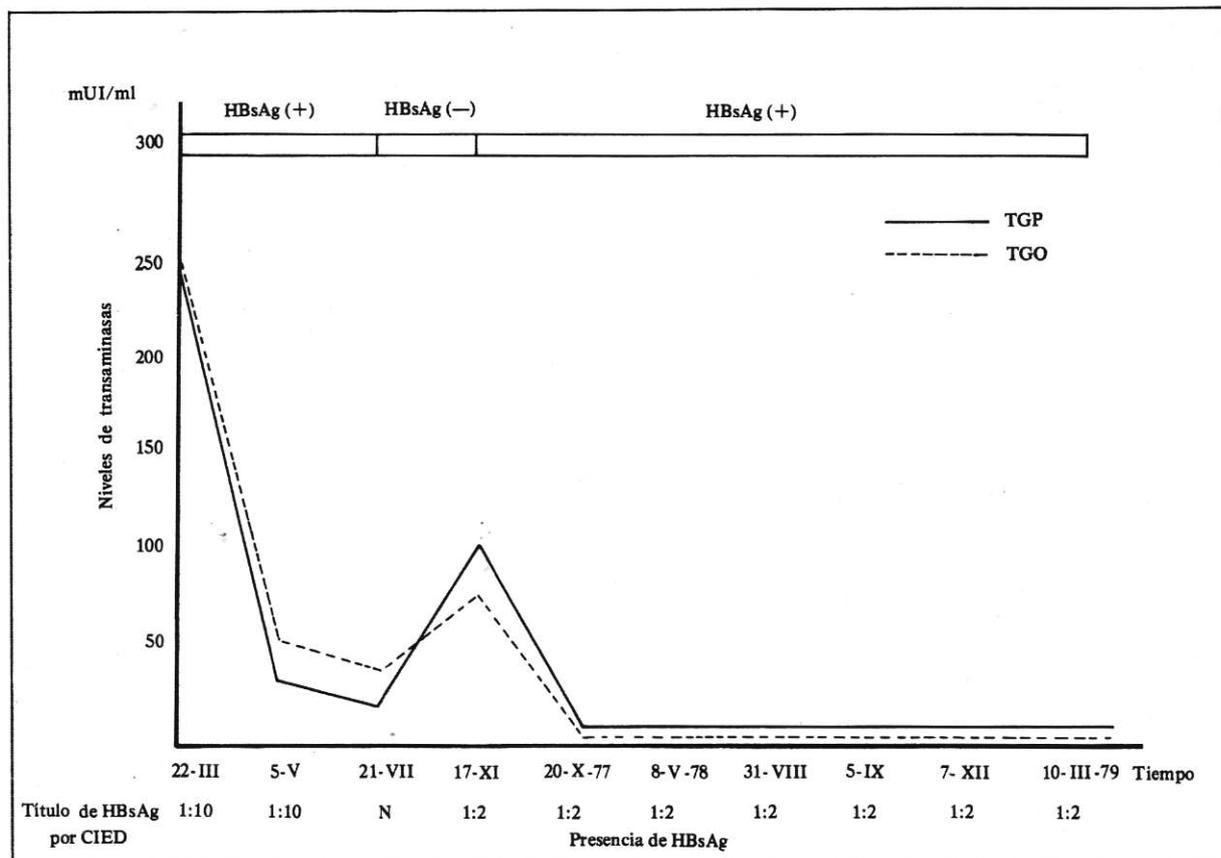


Figura 2. Hepatitis viral persistente.

en la Figura 2. Se destaca la importancia de la sensibilidad, ya que el HBsAg se negativiza por la CIED, las transaminasas están en el nivel normal, pero por el RIA el antígeno sigue presente. Cuando los niveles de antigenemia son detectables nuevamente por CIED, las transaminasas aumentan y clínicamente existe decaimiento y subictericia.

En este caso es de capital importancia recalcar el aspecto relacionado con las técnicas de laboratorio de exploración.

La persistencia del HBsAg durante mucho tiempo sugeriría una participación importante del HBsAg en la patogenia de la hepatitis crónica agresiva.

En las formas crónicas el significado y pronóstico de la conversión del HBsAg es variable.

Algunos autores han visto que la negativización no cambia el curso de la enfermedad (14, 15) y otros han observado casos en que la conversión precede al retorno normal en las pruebas exploratorias de la función hepática (16, 17, 18). En nuestro caso, dos pacientes con hepatitis crónica agresiva, luego de la negativización, no presentaban datos bioquímicos y clínicos de alteración. Pero en otros dos casos con cirrosis, la negativización no se acompañó de cambios sustanciales en el estado de su enfermedad.

Nuestros hallazgos estarían de acuerdo con los de Thomas (17) en los que la desaparición del antígeno es de pronóstico importante sólo en aquellos casos en los cuales el daño hepático es aún reversible. En las cirrosis las alteraciones hepáticas serían más importantes como determinantes de la evolución clínica que la presencia o ausencia del HBsAg.

Distintos autores (17, 18) han notado la desaparición temporal del antígeno en formas crónicas y su reaparición ha sido asociada a la exacerbación de la enfer-

medad (16-19), datos que están de acuerdo con los hallados por nosotros. Otros autores consideran que esta asociación es inconstante y fortuita (20).

Podríamos suponer, con bastante certeza, que la evolución de la enfermedad estaría en relación con el sistema inmunológico del paciente y con la reversibilidad (o no) de la lesión hepática. Además, debe tenerse en cuenta que muchas veces, el HBsAg puede ser el comensal de la cirrosis y ésta tener otra causa distinta, que es la que daría la forma evolutiva y no el virus de la hepatitis B (VHB).

El porcentaje de positividad para HBsAg por RIA hallado (100%) en casos de hepatopatías crónicas agresivas se explicaría en razón de que la población estudiada fue minuciosamente seleccionada entre los enfermos del mismo hospital y los parámetros de selección utilizados por el mismo grupo médico, fueron muy rigurosos. No hemos encontrado diferencias significativas entre las hepatopatías agudas y crónicas HBsAg positivas y negativas con respecto a síntomas, signos y datos de laboratorio.

Los datos obtenidos demuestran la tremenda importancia de la detección de rutina del HBsAg en todos los pacientes con hepatopatías internados en todas las unidades hospitalarias mediante RIA, técnica de mayor sensibilidad y que bien realizada es altamente confiable.

Nuestra experiencia nos ha demostrado que en casos de hepatopatías agudas y crónicas por virus B, la detección de HBsAg por CIED fue acompañada de fluctuaciones de las pruebas de función hepática. La negativización de HBsAg por CIED fue acompañada por la normalización de las pruebas de función hepática.

En muchos casos las muestras negativas antes citadas al ser reexaminadas por RIA fueron positivas para HBsAg. De donde podríamos concluir que no toda muestra

negativa por CIED para HBsAg, significa desaparición del virus.

CONCLUSIONES

1) Los presentes datos confirman estudios anteriores que indican que el HBsAg puede ser detectado en el suero de un alto porcentaje de pacientes con hepatitis viral aguda y en hepatopatías crónicas.

2) Es indudable la mayor sensibilidad del RIA con respecto a ID y CIED; y debe ser la técnica de elección para el seguimiento de los pacientes.

3) Se destaca la importancia de la estandarización de la metodología de la detección de HBsAg con el fin de obtener datos comparativos y reproducibles.

4) El descenso y/o desaparición del HBsAg en las formas agudas indicaría mejoría clínica, histológica y humoral.

5) El HBsAg en hepatitis viral persistente puede darse por meses o años y su permanencia después de un episodio agudo marcaría una evolución de la enfermedad que dependería del sistema inmunológico del paciente.

6) El descenso y/o desaparición del HBsAg en las formas crónicas indicaría mejoría clínica, histológica y humoral siempre y cuando la alteración hepática no haya sido definitiva.

7) De los datos obtenidos se puede deducir la importancia del papel que jugaría la infección persistente del virus y la respuesta inmune en la patogenia de la hepatitis crónica activa.

SUMMARY

A study of 143 patients with diagnosis of acute viral hepatitis (100), persistent viral hepatitis (8), chronic active hepatitis (13) and cirrhosis (22), was conducted. In

all these patients, the incidence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies (anti-HBs) was determined by three different serological techniques: immunodiffusion, discontinuous counterimmunoelectrophoresis, and radioimmunoassay. A comparison in the sensitivity of the techniques was established to determine which of them was the most accurate in the clinical following of this type of patients. Finally, it is discussed the behavior of those serological hepatitis B markers during the evolution of these hepatopathies.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— ROSS CAC, McMICHAEL S. AU-SH antigen in viral hepatitis in west of Scotland. *Lancet* 1970; II: 61-62.
- 2.— GUARDIA J, BACARDI Y, GRAS J. Australian antigen in Spain. *Lancet* 1970; I:1007.
- 3.— PLANES N. Tesis de doctorado en Medicina. Universidad del Salvador. Buenos Aires, Argentina, 1976.
- 4.— SILEONI S, DE PETRIS y col. Comunicación personal. 1979.
- 5.— PARODI A. Comunicación personal. 1979.
- 6.— FOX RA, NIAZI SP, SHERLOCK S. Hepatitis-associated antigen in chronic liver disease. *Lancet* 1969; II: 609-614.
- 7.— SKIMHOJ JO, NIELSEN T, DIETRICHSON O. Serological evidence of hepatitis infection in patients with chronic liver disease: radioimmunoassay of HBsAg and anti-HBs. *Scand J Gastroent* 1977; 12: 615-619.
- 8.— CAMPRA J. Comunicación personal. 1979.
- 9.— PARODI A. Comunicación personal. 1979.
- 10.— TANNO H et al. The role of the hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis in Argentina. *J Med Virol* 1978; 3:119-123.
- 11.— COSSART IE, VAHRMAN J. Studies of australian- SH antigen in sporadic viral hepatitis in London. *Brit Med J* 1970; 1: 403-405.
- 12.— HADZIYANNIS S J. Nonparental transmission of viral hepatitis in Greece. *Amer J Med Scien* 1975; 270: 313-318.
- 13.— PRINCE AM et al. Immunologic distinction between infectious and serum hepatitis. *N Eng J Med* 1970; 282:987-991.
- 14.— NIELSEN JO et al. Incidence and meaning of persistence of australian antigen in patients with acute viral hepatitis: development of chronic hepatitis. *N Eng J Med* 1971; 285:1157-1160.
- 15.— SHULMAN NR, HIRSCHMAN RJ, BARKER LF. Viral hepatitis. *Ann Inter Med* 1970; 72: 257-269.
- 16.— MULLER R et al. Australia Antigen bei chronisch-aggressiver hepatitis und leberzirrhose. *Dtsch Med Wschr* 1972; 97: 369-375.
- 17.— THOMAS M et al. Hepatites chroniques. Rapport de l'antigene australian et des anticorps anti-tissus avec l'aspect histologique et l'evolution a propos de 75 cas. *Med Chir Dig* 1973; 2:323-331.
- 18.— WRIGHT R, McCOLLUM RW, KLATSKIN G. Australian antigen in acute and chronic liver disease. *Lancet* 1969; II: 117-121.
- 19.— GENTILINI P et al. HAA, in chronic liver diseases. *Lancet* 1972; II: 378.
- 20.— VAN WAES, L et al. Chronic liver disease and hepatitis B antigen: a prospective study. *Br Med J* 1974; 3: 444-466.