

Artículo de revisión: hepatitis viral B y su manejo

Review article: viral hepatitis B and its handling

Jaramillo Tobón Antonio¹

¹ Universidad El Bosque, Facultad de Medicina; Instituto de Virología y E. Infecciosas, Bogotá, Colombia

RESUMEN

La Hepatitis B es causada por el virus del mismo nombre (VHB). El paciente presenta ictericia, acolia, coluria, astenia, adinamia, anorexia, distensión abdominal, lenteria, náuseas y vómitos sin fiebre. Blumberg y colaboradores detectaron y caracterizaron al nuevo Virus. Además de hepatitis postranfusalional puede causar epidemias por transmisión sexual, alimentos y en las zonas endémicas, perinatal. Trabajos en Asia, América y África demostraron relación del VHB con cirrosis macro y micronodular, hepatocarcinoma. Se presenta una parte de nuestra modesta contribución en Colombia. Varias vacunas están en uso clínico y se describen en el artículo. El tratamiento con Inmunomoduladores como interferones y antivirales inespecíficos como rивabirina, isoprinosine, lamivudina, adefovir, entecavir, tenofovir, emtricitabina, cleвudina, alamifovir se comenta en el artículo. La respuesta a antivirales depende del subtipo y genotipo del VHB y mutaciones inducidas por el tratamiento. Esto y progresos en métodos diagnósticos en los cinco últimos años renovaron el interés por estudiar las mutaciones naturales y espontáneas del VHB, sus genotipos, subtipos y respuesta inmune que se revisan.

Palabras clave: Hepatitis B. VHB. Tratamiento. Vacunas. Subtipos.

ABSTRACT

Hepatitis B is caused by the virus with the same name (HBV). The patient has symptoms of jaundice, acolia, dark urine, fatigue, weakness, anorexia, abdominal distension, lenteria, nausea and vomiting without fever. Blumberg and his colleagues identified and characterized the new virus. Besides postranfusalional hepatitis, it can cause epidemics by sexual transmission, food, and in endemic areas, perinatal. Studies in Asia, America and Africa showed a relationship between the HBV and macro and micronodular cirrhosis, hepatocellular carcinoma. We present a part of our modest contribution in Colombia. Several vaccines are being used clinically and they are described in the article. In the article, we discuss the treatment with immunomodulators such as interferons and non-specific antiviral drugs such as isoprinosine, lamivudina, adefovir, entecavir, tenofovir, emtricitabina, cleвudina, alamifovir. The response to antiviral drugs depends on the HBV subtype, genotype and mutations induced by the treatment. This and advances in diagnostic methods in the last five years renewed the interest in studying the natural and spontaneous mutations of HBV, its genotypes, subtypes, and the immune response that is analyzed here.

Keywords: Hepatitis B. HBV. Treatment. Vaccines. Subtypes.

Correspondencia a:

Md. Antonio Carlos Jaramillo Tobón

Correo electrónico: carajato@yahoo.com

Recibido: 30 de septiembre de 2011

Aceptado: 23 de noviembre de 2011

Introducción

Hepatitis es una inflamación no resuelta del hígado que puede ser de origen reciente, tener varias semanas o meses de evolución. Es un síndrome que puede ser causado por varios agentes infecciosos y no infecciosos. Hepatitis B, corresponde a aquellos casos del síndrome causados por el virus del mismo nombre (VHB), ahora bien identificado y caracterizado.

El paciente presenta ictericia (aunque en muchos casos es poco notoria o ausente), acolia, coluria, acompañadas de astenia, adinamia, anorexia. Son comunes también la distensión abdominal, lenteria, náuseas y vómitos. La fiebre, característica que con otros agentes no está presente o es de pocos grados.

La descripción de Hepatitis en Occidente, apareció en el siglo II a.c. y se atribuye a Hipócrates. Después de casi 800 años, el Papa Zacharías habló de su posible contagiosidad. La primera epidemia de hepatitis probablemente causada por el VHB y registrada en occidente se presentó entre 1883 y 1884 en Bremen, Alemania actual. Fue seguida y descrita por Luerman, quien estableció que estaba asociada al uso de vacuna para viruela que contenía suero humano. Un total de 191/1350 vacunados (14.1%) presentaron ictericia entre 2 y 6 meses después de la inoculación.¹

Casi 800 años después de la descripción de Hipócrates, en el Atlas of Epidemic Diseases de Bachman, se presentaba la lista de 80 epidemias ocurridas entre 1600 - 1874 en varias partes del mundo.²

Durante la primera y segunda guerras mundiales se informaron muchos casos de ictericia asociada a transfusiones sanguíneas, tatuajes y uso de drogas intravenosas como morfina y heroína.³

Pero ya hacia los años 40, era claro que había un tipo que se transmitía fundamentalmente por vía oro-fecal y otro por agujas, sangre; sus derivados y vacunas que contenían suero de origen humano.⁴

Una de estas epidemias marcó el primer hito en la caracterización epidemiológica moderna de las hepatitis virales. Fue la ocurrida en 1942 en soldados norteamericanos.

Un total de 28.000 casos fueron documentados después de una vacunación masiva para fiebre amarilla estabilizada con plasma de origen humano.⁵

Posteriormente volvió a ocurrir algo similar con las vacunas para el sarampión y paperas atenuadas con mezclas de plasma humano; el 44.7% de los vacunados sufrió hepatitis entre 2 y 6 meses más tarde.⁶

Al principio hubo mucha confusión y varios nombres para estas infecciones y enfermedades.

Pero en 194, F. O. MacCallum propuso llamar a la de transmisión oro- fecal hepatitis A y a la de transmisión parenteral hepatitis B. La OMS aceptó los nombres en 1952, pero transcurrieron varios años antes de incorporarlos a la literatura médica.⁷

Además se discutía si eran dos enfermedades y si eran de origen infeccioso. Varios estudios epidemiológicos, eventos fortuitos y experimentos terribles resolvieron la controversia en los años 60-70.

El primero de estos eventos, fue el descubrimiento del antígeno Australia (Aa, AgAu), por B. S. Blumberg y colaboradores, publicado en 19658. Este hallazgo fue realizado por la técnica de inmunodifusión radial (Ouchterlony) en agar purificado, en el cual sueros de pacientes leucémicos se hacían reaccionar con otros sueros humanos para identificar marcadores poblacionales. En el de un aborigen australiano, se encontró una alfa - 2 - betalipoproteína, que parecía única; de allí el nombre: antígeno Australia (Aa, AgAu).

En los primeros estudios Blumberg y su grupo creían haber encontrado una proteína que se heredaba y afectaba la susceptibilidad de la gente a leucemia. Pero ellos sabían que había otras posibilidades que ligaran al AgAu (Aa) y la leucemia como un agente infeccioso, un virus por ejemplo.

Para esclarecer esta relación, iniciaron la búsqueda del AgAu en la sangre de niños con S. de Down, quienes ya se sabían que tienen alto riesgo para desarrollar leucemia. Más del 30% de los evaluados fueron positivos para el AgAu (Aa).

Entonces hicieron estudios en instituciones y niños de diferentes edades y sexos; los recién nacidos eran negativos y a medida que se estudiaron los mayores, se encontraban más y más positivos.

Esto les hizo pensar que había "algo infeccioso" involucrado. Los niños que eran negativos al principio, se mantenían negativos.

En 1966 Blumberg, W. Thomas London y Alton Sutnick, se dieron cuenta que un niño de 12 años con el síndrome de Down, inicialmente negativo para el AgAu, unos meses después se volvió positivo. Además, desarrolló hepatitis en la misma época.

Inmediatamente empezaron a explorar la hipótesis de que el AgAu, podría estar relacionado con la hepatitis, en pacientes con y sin el síndrome. La mayoría de los que tenían hepatitis fueron positivos para el AgAu.

Y otro hecho imprevisto confirmó la asociación. La bacterióloga que ayudaba a Blumberg a realizar las pruebas de inmunodifusión se enfermó. Y examinó su propio suero para el AgAu; lo encontró positivo. Luego desarrolló hepatitis.

Después Blumberg y colaboradores hicieron la publicación de sus resultados en un artículo que generó otros estudios muy esclarecedores.⁹

Uno de los primeros fue el de Alfred Prince en el Banco de Sangre de New York, que confirmó sin dudas la relación entre el AgAu y una parte de las hepatitis transfusionales.¹⁰

Este grupo había establecido que 1/10 receptores de múltiples transfusiones desarrollaba hepatitis y decidió tomar muestras secuenciadas de los transfundidos, a intervalos regulares y antes de desarrollar la hepatitis. Las muestras fueron congeladas.

En 1968 un paciente presentó signos y síntomas claros de hepatitis; se buscó en todas sus muestras al AgAu. En las primeras pre- transfusionales y post- transfusionales no se encontró nada; pero en las que se tomaron después apareció el antígeno apenas unas pocas semanas antes de los signos y síntomas.

Simultáneamente en la Universidad de Tokyo, Kazuo Okochi¹¹ demostró que los donantes positivos para el AgAu tenían mayor probabilidad de transmitir hepatitis. Y en la Universidad de Sienna, Italia, Albert Vierrucci confirmó independientemente los resultados de Prince y Okochi en el mismo año (1968).

Dos años más tarde en 1970, D. S. Dane y colaboradores¹² describieron por microscopía electrónica las partículas que llevan su nombre en el hospital Middlesex de Londres y además, otras estructuras que hoy se conocen como "cascarones" y sabemos que son excesos del antígeno superficial del virus de la hepatitis B (VHB), producidos para eludir la respuesta inmune (figura 1).

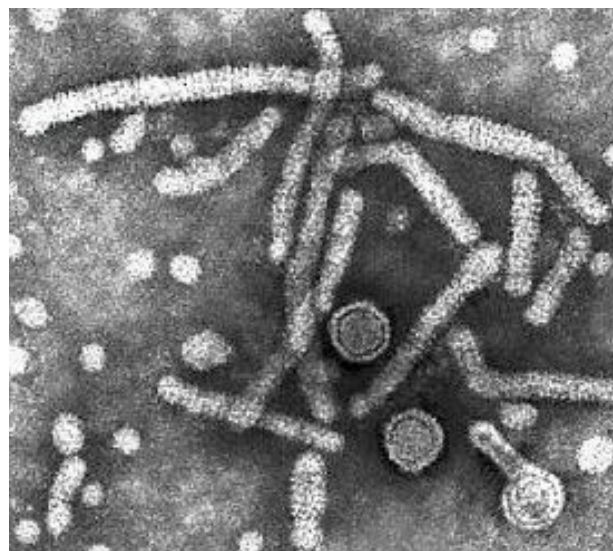


Figura 1. Estructuras vistas al microscopio electrónico en sueros Aa+ (AgAu+).

Casi simultáneamente K. E. Anderson y colaboradores en New York, demostraron también que en los sueros positivos para el AgAu se observaban esas estructuras y además estaban en el hígado de los enfermos.

Al final del año 1970, la evidencia sobre la asociación entre el AgAu y la hepatitis de larga incubación era contundente y procedía en varias partes del mundo.

Es este momento, se cambió el nombre de antígeno Australia (Aa, AgAu) por el de antígeno asociado a la hepatitis (HAA).

Con el mejor conocimiento de la estructura íntima del virus (figura 2), se cambió de nuevo por el de antígeno superficial de la hepatitis B (HBsAg) como se le conoce internacionalmente ahora.¹³ Y se aclaró que los leucémicos como otros multitransfundidos, tenían alta prevalencia de positivos para el HBsAg, porque tenían mayor riesgo de infectarse por las transfusiones.

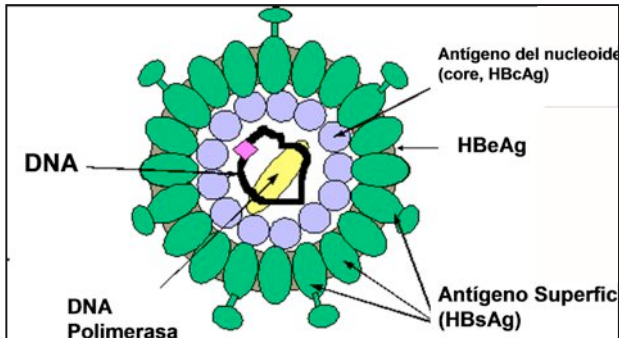


Figura 2: Estructura en principales grupos antigénicos el VHB.(adaptado de Millinship, S. Hepatitis B Virology and Immunology. www.hon.ch/Library/Theme/HepB/virology.html)

La discusión sobre si los dos tipos de hepatitis (A y B) eran causadas por uno o más virus fue zanjada con un experimento cuyo diseño fue casi perfecto, pero con un grave problema ético: se hizo en humanos; en niños y otros pacientes de un asilo para personas mentalmente "retrasadas". En la escuela estatal para niños mentalmente retardados, Willowbrook, Staten Island, New York.

S. Krugman un pediatra de la institución y J.P. Giles, ambos también profesores de la escuela de medicina de New York, venían estudiando el problema de la hepatitis y su historia natural en estos pacientes desde 1956, pues sabían que desde 1949 era endémica según varias publicaciones previas.

Con la técnica de inmunodifusión desarrollada por Blumberg y colaboradores, examinaron a los casi 600 habitantes de la institución entre 1965-70 y encontraron que entre el 15-30% por año tenían el AgAu persistentemente positivo.

Y luego, deliberadamente infectaron por vía oral o parenteral a pacientes en dos grupos uno con el virus que llamaron MS-1 (hepatitis A) y otro con el MS-2 (hepatitis B), tomaron muestras secuenciadas y confirmaron la hipótesis de Blumberg.

Toda la historia aparece relatada en el artículo "Nueva luz sobre una vieja enfermedad".¹⁴

Este triste capítulo aparentemente cerró la discusión sobre si había uno o dos tipos de virus y como se transmitían. Pero el tiempo habría de probar que no fue así, cuando se describió primero la llamada "Hepatitis Postranfusión ni A ni B"^{15,16}, que luego se aclararía puede ser causada por varios virus que se detectaron por varias técnicas como cultivo, inmunoensayos y biología molecular. Incluyen al VHC, VHD, VHE, VHGE.^{17,18,19,20,21}

Con la detección del virus B, rápidamente se iniciaron los estudios para desarrollar vacunas con diferentes aproximaciones.

El grupo de Krugman desarrolló una inactivada con calor y formal de hído que resultó poco efectiva; el de Blumberg otra por purificación en gradientes de densidad de las partículas vacías y redondas del HBsAg. Luego vendrían a ser las vacunas derivadas de plasma de primera generación y con las cuales se iniciaron programas regulares en todo el mundo después de la evaluación positiva por el grupo de Wolf Szmunness en New York.²²

Más tarde llegarían otras vacunas igualmente exitosas e innovadoras, como las que están actualmente en uso, producidas en *S. cerevisiae* (levadura de cerveza), *P. pastoris* y células eucarióticas (tabla 1).

Tabla 1: vacunas para prevenir la hepatitis B

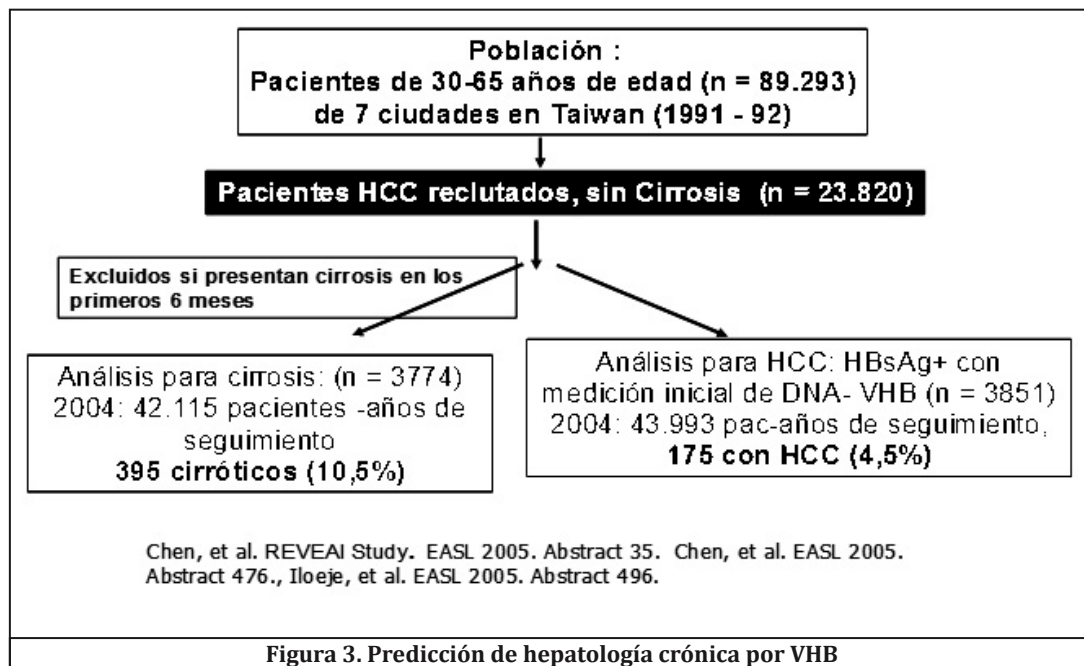
Vacunas derivadas del plasma
Hevac B (Pasteur Vaccins, Francia)
Heptavax (MSD, USA)
Vacunas de Ingeniería Genética
Genhevac B (Pasteur Vaccins, Francia)
Engerix (SKFB, Bélgica)
Recombivax HB (MSD, USA)
Heberviobac (ICBG, Cuba)

Por otro lado se empezó a buscar una posible relación entre hepatitis agudas y subagudas, así como hepatopatías crónicas tipo cirrosis, hepatocarcinoma, con el VHB. Grandes estudios fueron hechos en todo el mundo, pero en especial en Asia.^{23,24}

Según el propio Blumberg, un trabajo sobre la alta frecuencia del hepatocarcinoma primario en China, presentado en el Congreso Internacional de Florencia, Italia a mediados de 1970 llamó poderosamente su atención. Su vacuna estaba comenzando a ser producida a escala industrial y decidió viajar a China, para ofrecer sus servicios en el estudio de este problema y la vacuna para hacer intervención si se llegaba a demostrar asociación con el VHB.

Pero en China solo hubo progreso después de recibir el Nobel en 1976.

Otros investigadores asiáticos y norteamericanos habían leído y aceptado el mensaje. Y así se formó el grupo de Beasley, Chen y otros^{25,26,27} que iniciaron estudios aún en curso y publicaron resultados como los del REVEAL, que contribuyeron a establecer la relación entre cirrosis, hepatitis B y hepatocarcinoma (figura 3).



También se hicieron estudios en los esquimales de Alaska, USA, con resultados comparables. Y el grupo de Blumberg hizo estudios en África Occidental, casi simultáneamente con los que iniciaron investigadores del Instituto Pasteur de París y del Centro de Investigaciones del Cáncer de Lyon.

Los trabajos que se hicieron en colaboración con los Drs. Bernard Larouze del hospital Claude Bernard de Paris y con científicos de Senegal y Mali, aportaron más evidencia a esta asociación y al papel de "estado de portador asintomático del HBsAg", según relata el propio Blumberg en su autobiografía.

Los programas de vacunación para VHB en esta zona, en Italia y otras partes del mundo comenzaron exitosamente. Y lo más importante, funcionaron para prevenir la hepatitis B y para disminuir el riesgo de hepatopatías crónicas

como hepatitis crónica activa, cirrosis y hepatocarcinoma celular primario. La primera vacuna efectiva contra un cáncer humano estaba en uso.

La investigación y los esfuerzos del mundo en los años siguientes fueron dedicados a mejorar la vacuna y a vacunar. Tanto en la investigación precedente como en esta etapa tuvimos participación activa desde y para Colombia. Más adelante se presentan algunos de los trabajos con los cuales hicimos nuestra modesta contribución.

Después de los cuidadosos estudios de Szmunn y colaboradores²² en 1.000 voluntarios humanos (en su autobiografía Blumberg recuerda que los de la vacuna Salk para el polio requirieron 1.8 millones) se probó que la vacuna protegía a más del 90% de los vacunados y sin efectos colaterales serios.

Los resultados se publicaron en 1980 y luego recibió aprobación de la FDA norteamericana. Desafortunadamente el procedimiento de producción y preparación era costoso y las primeras vacunas también: aproximadamente USD150 por vacunado; algo casi imposible de costear para programas de salud pública en países como Colombia. Esto hizo que los programas de vacunación se focalizaran a los llamados “grupos de alto riesgo” ya detectados con anterioridad. El impacto de estos programas en la incidencia global por ejemplo en USA, diez años más tarde no había sido significativo.

Algo similar ocurrió en Colombia y Latinoamérica a pesar de nuestros esfuerzos para convencer a los gobiernos de la región de hacer vacunación universal, consignados en documentos como el que suscribimos en Brasil un grupo de investigadores (Declaración e Manaos, 1984). Afortunadamente, el desarrollo de las nuevas vacunas por tecnología recombinante resolvió los problemas de la fuente de antígeno y costos. Al final del siglo XX ya se disponía de vacunas seguras, efectiva y con un precio razonable, USD0.5–1/dosis. Y fueron incorporadas a los programas de vacunación regular en todo el mundo (PAI).

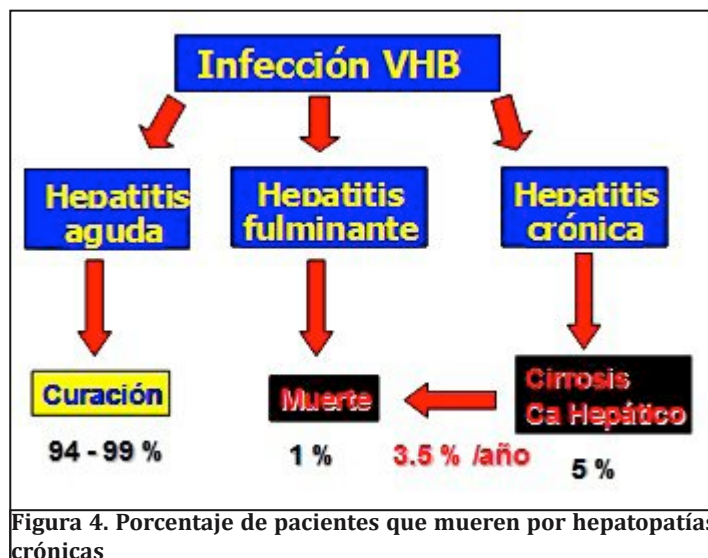
La vacunación universal y masiva para prevenir la infección por el VHB comenzó por fin. Los resultados ahora sí fueron evidentes. En China la incidencia de portadores del HBsAg, cambió dramáticamente de 16.3 % a 1.4%.²⁸ De acuerdo a un reciente informe del PAI en Colombia, también ha comenzado a bajar.^{29,30}

Mientras todo esto pasaba, poco se hizo para intervenir el reservorio; los 2000 millones de infectados y 400 millones de portadores que hay en el mundo³¹; de los cuales se sabe que un número importante van a morir de hepatopatías crónicas (figura 4).

En parte esto se debió a que hasta hace unos años, había muy poco para ofrecerles a los infectados por el VHB con hepatopatía crónica: inmunomoduladores como los interferones, con eficacia ente el 30-50%, muchos efectos colaterales y alto costo; y antivirales inespecíficos como la rivabirina y el isoprinosine, con efectos colaterales importantes en el caso de la ribavirina y efectos terapéuticos poco claros.

Una de esas opciones era el tratamiento con interferones, proteínas inmunomoduladoras inicialmente de origen natural y luego sintético. El desarrollo de estos tratamientos se inició en los años 80, con trabajos hoy clásicos como los de Perrillo y otros investigadores en USA, Europa y otras partes del mundo.^{32,33} Al comienzo los grupos de pacientes fueron muy seleccionados y hubo resultados alentadores; pero que apenas llegaban al 50% de respuesta efectiva, más o menos duradera.

Luego fue claro, que este tipo de tratamiento solamente funcionaba en un subgrupo de pacientes, con deficiencia de interferón que interfiere en la respuesta de inmunidad celular y que en general llega apenas a un 30%.



Y con muchos efectos colaterales serios como el síndrome “Influenza Like” y depresión severa. Otra vez, un hecho fortuito inició una nueva era en el tratamiento de la Infección VHB, esta vez asociado a la peor epidemia del siglo XX, el SIDA. La infección por el VHB en los pacientes con infección y enfermedad VIH, fue detectada rápidamente después de los primeros informes en USA (1981). Fue tan frecuente, que antes de identificación del VIH el VHB llegó a estar entre la “lista de virus candidatos” para ser agente etiológico.

La lamivudina o 3TC (epivir de Roche) fue el quinto análogo nucleósido inhibidor de transcriptasa reversa que la FDA aprobó para el tratamiento de la infección por el VIH-1. Muy poco después de iniciarse su uso, se notó que los pacientes coinfectados con el VHB, mejoraban de las dos infecciones.

Y se hicieron varios estudios cooperativos multicéntricos que confirmaron su eficacia en hepatitis B crónica.^{34,35,36}

En diciembre de 1988 la FDA de USA aprobó su uso para el tratamiento de la infección crónica VHB, a dosis más reducidas que las utilizadas contra el VIH, 100mg/día.

Luego en septiembre de 2002 otro análogo de citosina, el adefovir (hepsera, Gilead Sci, USA) también con actividad para VHB, fue aprobado para el mismo uso. Así el arsenal terapéutico para esta infección, que hasta 1998 solo incluía al interferón natural alfa y al recombinante, se incrementó a tres medicamentos, cada uno con sus ventajas y desventajas (tabla 2).

A pesar de estos grandes avances, se descubrieron nuevos problemas: ninguno de los medicamentos disponibles era específico para el VHB; los análogos nucleósidos que ya se podían usar en pacientes con cirrosis y con muy buena respuesta inicial, recaían y tenían “rebotes virológicos” con reaparición del virus y los marcadores de replicación como el HBeAg en sangre y a títulos mayores de los pre-tratamiento.

El estudio de estos pacientes demostró que la respuesta dependía del subtipo y genotipo del VHB, de la aparición de mutaciones inducidas por el tratamiento a tasas tan altas como 20% por año y que en cinco años hasta el 90% presentaban cepas mutantes y resistentes al tratamiento.

Por analogía, se inició el estudio de combinaciones de medicamentos, en forma similar a las empleadas para tratar la infección VIH. Pero éste es un asunto diferente.

La combinación de interferón más lamivudina, disminuye la tasa de resistencia, pero no mejora la eficacia y se mantienen la toxicidad; lamivudina+ adefovir, disminuye la tasa de resistencia, pero no mejora la eficacia y aumenta la toxicidad (especialmente la renal).

Otros medicamentos están actualmente en estudio, pero aún no tienen licencia para uso en humanos; incluyen al tenofovir un nucleótido inhibidor de la transcriptasa reversa (TR) que ya está aprobado para tratamiento de la infección por el VIH; la emtricitabina, la clevidina, el alamifovir y los beta-L-nucleósidos (LdT y LdC9).

Tabla 2. Medicamentos para tratar la infección VHB crónica (hasta 2002)

	Interferón	Lamivudina	Adefovir
Administración	Sc*	oral	oral
Efectos secundarios	frecuentes	menores	nefro-tóxico (dosis altas)
Contraindicaciones	muchas	pocas	pocas
Resistencia	no	20%/años, 60%/4 años	<1%/año
Costo	alto	bajo	medio
*Sc: subcutáneo.			

Un nuevo análogo de citosina apareció en 2003 y ya tiene licencia del FDA (y registro sanitario en Colombia) para tratamiento de la hepatitis B crónica, el entecavir (baraclude, de Bristol – Myers Squibb).

Es por el momento el único medicamento aprobado para uso humano y tratamiento de la infección crónica VHB, con acción específica sobre el virus y un mecanismo de acción diferente a los anteriores como se describe luego.

Su seguridad y eficacia terapéutica han sido evaluadas en varias partes del mundo en estudios cooperativos multicéntricos bien controlados; con resultados excelentes para resolver varios de los problemas anteriormente descritos (toxicidad, mutaciones, resistencia, recaídas).

Adelante se comentan los tres más representativos (ETV -022,026 y 027) y en las lecturas recomendadas, aparecen las referencias de 2006 donde fueron publicados.^{37,38,39}

Una oleada de entusiasmo recorre el mundo. Hay nuevas esperanzas para los infectados y portadores del VHB. Por eso es importante conocer mejor al virus, su historia natural, clínica, epidemiología, pronóstico, métodos modernos para el diagnóstico, tratamiento integral. Enseguida se presenta la información que consideramos más pertinente al respecto.

El virus de la hepatitis B (VHB) Características del VHB

El virus de la hepatitis B, contiene ADN, mide 42 nm. de diámetro y tiene forma circular; pero en su replicación requiere transcriptasa reversa por lo cual actualmente se clasifica como ARN.

Pertenece a la familia Hepadnaviridae de la cual es prototipo y donde se encuentran también otros virus de mamíferos y aves (tabla 3). Como se dijo en la introducción, la microscopía electrónica de sueros reactivos para HBsAg revela tres tipos de partículas: Las más numerosas son esféricas, miden 22 nm de diámetro y están constituidas exclusivamente por HBsAg; otras con formas tubulares o filamentosas, que tienen el mismo diámetro, pero pueden tener más de 200 nm. de longitud y son el resultado de la sobreproducción de HBs Ag (figura 1).

Con menos frecuencia, se observan viriones esféricos más grandes, de 42 nm, conocidos originalmente como partículas de Dane.

Este virión maduro tiene una envoltura externa que contiene HBsAg y rodea una núcleo-cápside de 27 nm. que contiene el ADN y una cápside protéica, conocida como HBcAg (antígeno del core). Contiene también una transcriptasa reversa (figura 2).

El genoma viral está constituido por ADN circular de doble cadena, con un peso molecular de 2×10^6 y 3200 pb de longitud. Presenta varias secuencias abiertas de replicación (ORFs), como se muestra en la figura 5. En varias de esas regiones del genoma VHB se han descrito mutaciones que tienen importancia para virulencia, clínica, epidemiológica, para el pronóstico, tratamiento y en vacunación.

Un estudio publicado en 1987, sugirió un ancestro común y relación filogenética entre los Hepadnavirus, Retrovirus y el virus del Mosaico de la coliflor, por la homología entre el Gene X de varios miembros de la familia, entre ellos el VHB con el de la polimerasa (TR) de los Retrovirus como el del VIH.⁴⁰

Tabla 3. Familia hepadnaviridae

Géneros	Prototipo	Huéspedes	Especies
Orthoepad-navirus	VHB	Vertebrados	VHB, SHB, MHV, varios de primates
Avihepad-navirus	DHV	Vertebrados	DHV, varios de garzas y cigüeñas

Los actuales resultados del tratamiento con antivirales que son efectivos para los dos virus están a favor de esas relaciones (figura 5).

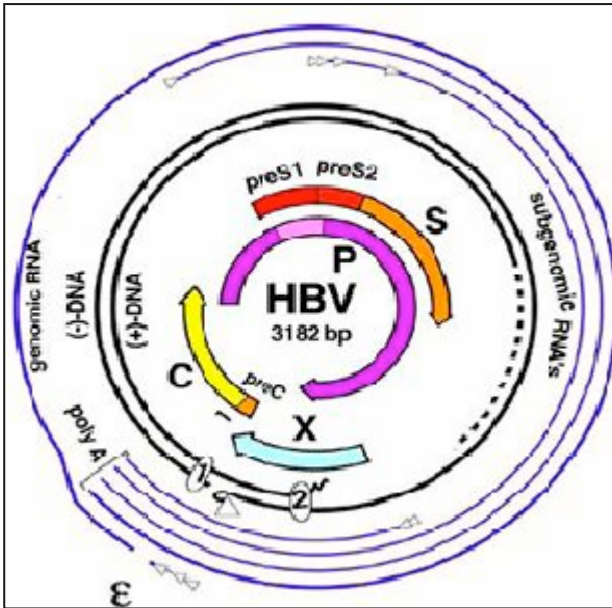


Figura 5. Genoma del VHB.
www.molecular-virology.uni-hd.de/EN/HBV/HBV.HTM.

Un cuarto sistema antigénico ha sido descrito como el antígeno e (HBeAg). Se encuentra entre la cápside (HBcAg) y el HBsAg. Actualmente es utilizado como los anticuerpos anti-core M, la ADN polimerasa, y la carga viral VHB en plasma, como marcador de replicación, pronóstico y para diferenciar las cepas salvajes del virus (HBeAg+) de las mutantes (HBeAg-) que son más resistentes a los tratamientos disponibles.

Replicación del VHB

Se realiza especialmente en los hepatocitos, aunque se han propuesto sitios de replicación extrahepática; particularmente después de la observación de reinfecciones en portadores del

VHB que fueron trasplantados de hígado y recayeron. En la figura 6, se resume el ciclo de replicación del VHB. Puede verse como se adhiere al hepatocito por el HBsAg y luego es endocitado. Dentro del citoplasma se libera el ácido nucleico (Decapsidación) por acción de enzimas citoplasmáticas. El ADN se replica en un proceso complejo que involucra TR, luego conversión de la cadena de ADN- en una de ADN+, para volver a formar la doble cadena.

Una parte de este ADN es ligado covalentemente al ADN del hepatocito (VHBccADN) y seguirá integrado indefinidamente.

La otra, activará sus secuencias abiertas de replicación (ORF) y producirá en los polirribosomas los diferentes sistemas antigénicos, que luego se auto ensamblarán y saldrán como viriones infectantes por exocitosis.

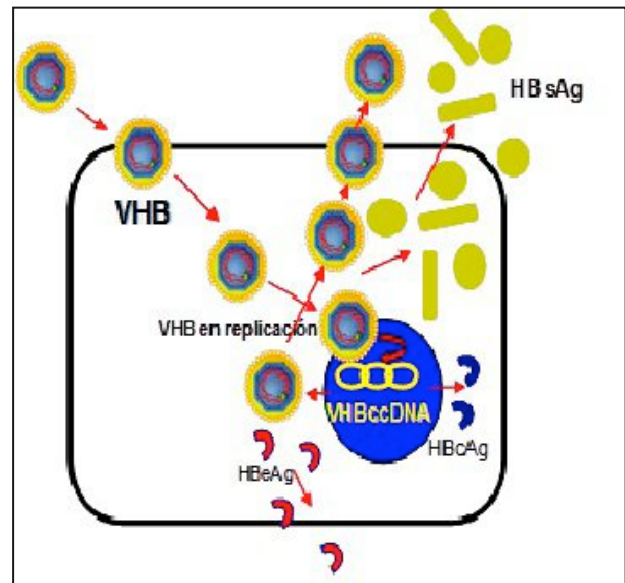


Figura 6: Replicación del VHB.
Adaptado por Lai CL, Yuen MF, 2000.

Tabla 4. VHB Genotipos y subtipos*		
GT	Subtipo	Distribución predominante
A	adw2, ayw1	NE de Europa, N. América, África Central
B	adw2, ayw1	SE de Asia, China y Japón
C	ayr, adrq + adrq - adw2	SE de Asia, China y Japón
D	ayw2, ayw3	Sur Europa, Oriente Medio e India
E	ayw4	África
F	adw4q	Nativos americanos, Polinesia, América Central y del Sur
G	adw2	Francia y Estados Unidos

*McMahon. Sem Liver Dis. 2004; 24:17-21. Chu, et al. Gastroenterology. 2003; 125:444-451.

Subtipos, genotipos y mutantes del VHB

El HBsAg es antigénicamente heterogéneo y contiene sub - especificidades comunes a todas las cepas aunque variables como a; mutuamente excluyentes como d, e, y, w.

Algunos se han encontrado sólo en humanos como x; o en primates no humanos. Así se han definido varios serotipos: adw, ayw, adr, y ayr; que con las técnicas amplificación genética (NAT) y secuenciación, se organizaron en genotipos⁴¹ y pueden verse en la tabla 4.

Se ha propuesto que se relacionan con patrones clínicos y de virulencia, pero no se ha confirmado. El genotipo A, se asocia con mayor riesgo de desarrollar resistencia a antivirales como lamivudina.

También tienen interés epidemiológico, pues se han encontrado con diferente distribución geográfica (tabla 4).

Mutaciones del VHB

Las mutaciones del VHB pueden ocurrir espontáneamente, como un mecanismo de supervivencia o inducidas por vacunación y tratamientos antivirales.

La primera detectada, se presentó en niño vacunado para VHB, con anticuerpos anti- HBsAg, que desarrolló hepatitis B (Italia, 1990). El VHB que tenía, presentaba una mutación Gl Arg en el aa 145 de HBsAg-a.⁴² Luego se determinó que correspondía a una mutación en la región pre-S.

Luego un estudio realizado en Gambia, África por investigadores franceses en ocho villas, encontró 8% de niños vacunados con una mutación similar entre aa 139 -147.^{43,44}

Luego se informaron otras en U. Renales y asociadas a tratamiento con interferón.⁴⁵

En Colombia hay evidencia de su presencia en la Costa Atlántica, procedente de estudios realizados por el autor.

Actualmente se realizan otros en el centro y sur-oriente del país, con prevalencias hasta del 70%

Con el uso de lamivudina y adefovir, nuevas mutaciones han aparecido con alta frecuencia en los infectados por VHB.

Tienen diferentes consecuencias como el escape a control inmune (persistencia), fracasos de vacunación VHB, falsos negativos infectantes (diagnóstico, banco de sangre), todas asociada a las mutaciones Pre - S/S1; aumento de virulencia (hepatitis fulminante) y mala respuesta a lamivudina y adefovir con las mutaciones Pre-core; mayor carcinogenesis y mala respuesta a terapia con lamivudina, observadas con las mutaciones P/X.

Actualmente la mutación más frecuente del VHB es la G1896A que determina la falta de formación del HBeAg. No se asocia con el genotipo A, pero sí con los genotipos B, C, D. Y en los pacientes tratados con lamivudina, se han observado las YMDD, N236T + A181V, L180M +/- M 204 V/I y T184, S202, o M250; todas asociadas especialmente al genotipo A.

Estabilidad del VHB

La estabilidad de HBs Ag no siempre coincide con la del VHB, pero ambos son estables a -20° C durante más de 20 años y a la congelación y descongelación repetidas.

El virus también es estable a 37°C por 60 minutos y se conserva viable después de ser desecado y almacenado a 25°C por una semana.

El VHB (pero no el HBsAg) es sensible a temperaturas más altas (100°C x 1 minutos), o a períodos de exposición más prolongados (60°C x 10 h), dependiendo de la masa de virus presentes en la muestra.

El HBsAg es estable a un pH de 2.4 durante seis horas, pero se pierde la infectividad del VHB. El hipoclorito de sodio a 0.5% destruye la antigenicidad en menos de tres minutos en soluciones con bajas concentraciones, pero las muestras no diluidas del suero requieren concentraciones mayores (5%).

El HBsAg no es destruido por la irradiación ultravioleta del plasma o de otros productos sanguíneos.

Respuesta inmune a la infección por el VHB

Luego de la exposición al virus hay un período de incubación asintomático relativamente largo, de unas seis a ocho semanas como promedio (oscilando entre 4 y 26 semanas); es seguido por una enfermedad aguda que dura varias semanas o meses.

La infección por el VHB, genera una respuesta inmune característica que aparece en la figura 7. Actualmente existen técnicas y pruebas de laboratorio para detectar estos antígenos y anticuerpos, así como al virus, la ADN-P y el ADN-VHB. Con ellas se puede establecer el "estatus" de la infección, un pronóstico de la enfermedad crónica y evaluación del tratamiento antiviral.

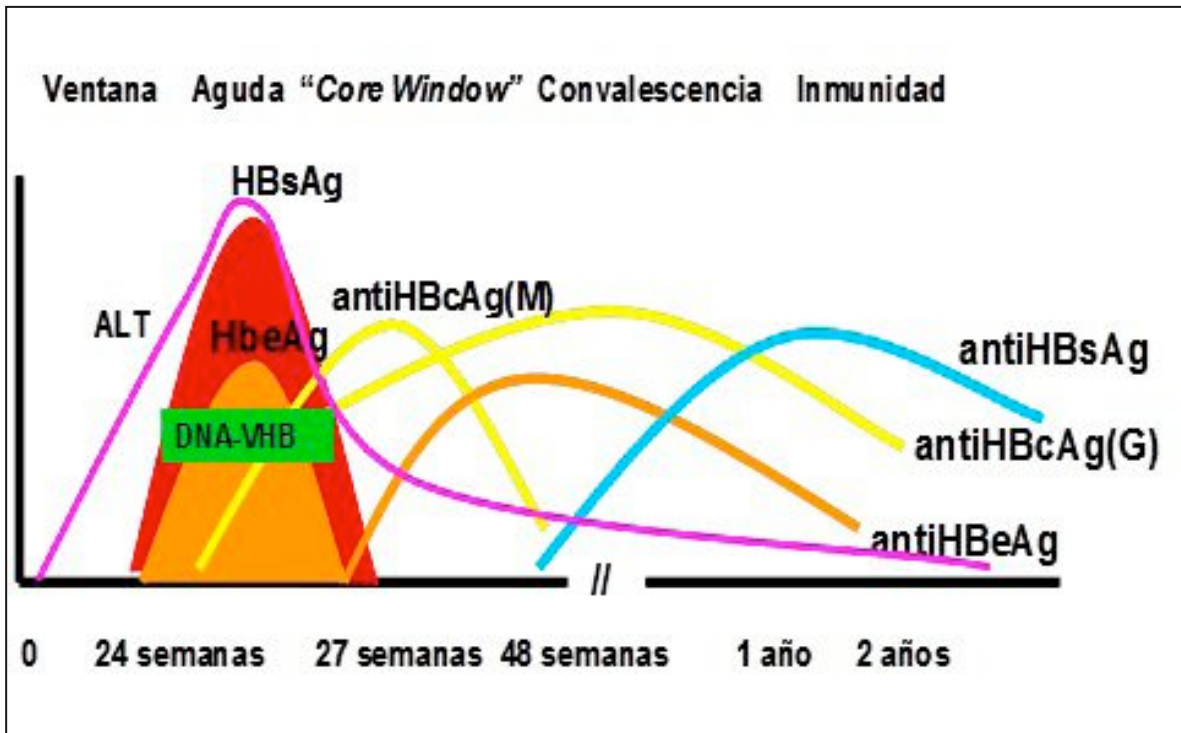


Figura 7. Respuesta inmune a la infección por VHB

La eliminación de las células infectadas, depende de linfocitos NK y citotóxicos activados después que los macrófagos procesaron los complejos inmunes formados por los anticuerpos, el virus y sus antígenos circulantes.

Esta acción es mediada por citoquinas como el interferón y las IL-4, 6,12, como se muestra en la figura 8.

Cuando esta respuesta inmune falla, se produce una infección crónica persistente, la secuencia de aparición y la respuesta serológica se alteran, como se muestra en la figura 9.

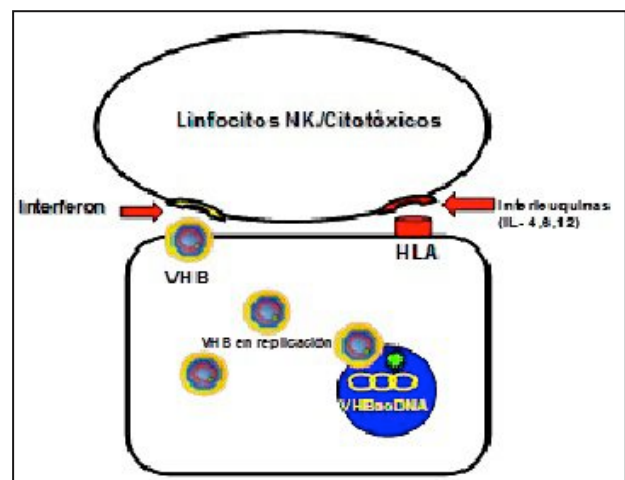


Figura 8. Eliminación de células infectadas

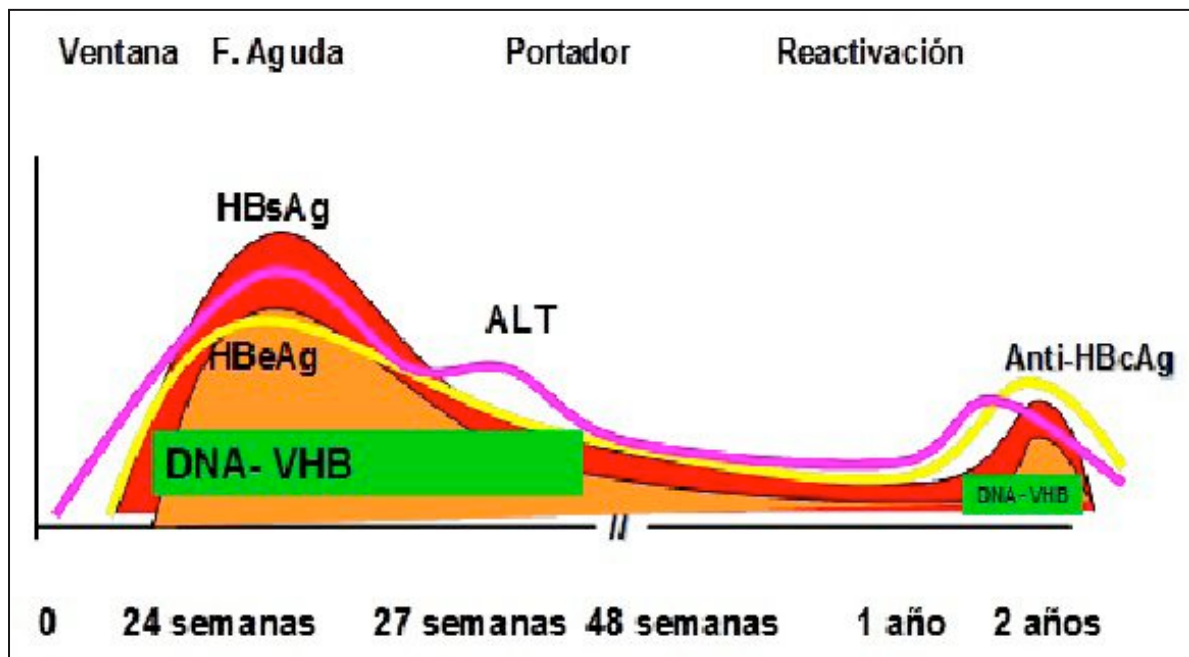


Figura 9. Historia natural de infección VHB crónica.

Su evolución y pronóstico como se verá, dependen de condiciones relacionadas con el virus y el paciente.

Consecuencias de la infección por VHB

Incluyen desde una condición benigna y temporal, el estado de Portador Asintomático del VHB, hasta hepatopatías de diferente severidad y pronóstico como la hepatitis crónica, cirrosis macro y micronodular y el hepatocarcinoma, que pueden matar al paciente en diferentes tiempos y por distintas complicaciones.

Hepatitis B curada o resuelta

El paciente tiene historia previa conocida de hepatitis B, presentó la clínica ya descrita. Ahora está asintomático y en sus controles de laboratorio se encuentra: HBsAg negativo; anti-HBe, anti-HBc y anti-HBsAg; ADN-VHB indetectable, mediante técnicas de amplificación genética (bADN/PCR), Bilirrubinas y ALT/AST normales.

Estado de portador asintomático

El paciente tiene historia previa conocida de hepatitis B, presentó la clínica ya descrita. Ahora está asintomático y en sus controles de laboratorio se encuentra:

- HBsAg positivo por más de 6 meses.
- HBeAg - /anti-Hbe+
- ADN-VHB <100.000 copias/ml
- ALT/AST normales de forma persistente
- Opcionalmente, biopsia hepática con nula o mínima actividad necroinflamatoria (Índice de Knodell <4, ver adelante).

Hepatitis crónica B

El paciente tiene historia previa conocida de hepatitis B aguda y presentó la clínica ya descrita. Ahora está sintomático, con signos gastrointestinales vagos como intolerancia a grasas, diarreas ocasionales, distensión abdominal y en sus controles de laboratorio se encuentra:

- HBsAg positivo por más de 6 meses
- ADN-VHB >100.000 copias/ml
- ALT/AST elevadas en forma persistente o intermitente
- Opcionalmente, una biopsia hepática que demuestra actividad necroinflamatoria. (índice de Knodell > 4).

Éstos son los pacientes que van a desarrollar hepatitis crónica persistente, activa, cirrosis macro y micronodular, hepatocarcinoma. El riesgo de sufrir estas secuelas y en particular la cirrosis, se asocia con varios factores:

Dependientes del virus

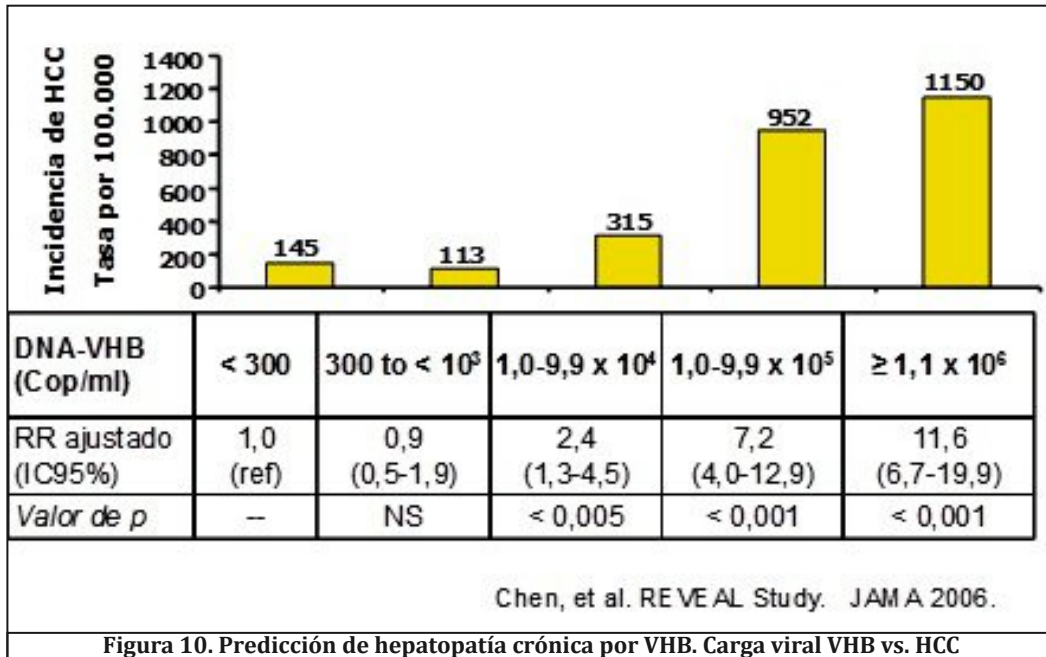
Replicación viral positiva
 Genotipo C
 HBeAg negativo
 Coinfección por virus de las hepatitis D, C, VIH.

Fibrosis hepática en el momento del diagnóstico
 Brotes de histolisis
 Ingesta de alcohol o fármacos hepatotóxicos.

Dependientes del paciente

Más de 65 años de edad al momento del diagnóstico
 Género masculino.

En el estudio REVEAL ya mencionado²³⁻²⁷, además se estableció una relación directa entre la carga viral basal VHB y la incidencia de Hepatocarcinoma (figura 10).



Diagnóstico de la infección y enfermedad por VHB

La inflamación y necrosis hepática, se pueden evidenciar con pruebas hematológicas y bioquímicas de laboratorio que incluyen: hemoleucograma completo y sedimentación, tiempo de protrombina, bilirrubinas, aminotransferasas séricas (ALT/AST), fosfatasa alcalina. El daño hepático también se puede evaluar, clasificar y usar para tomar decisiones terapéuticas. Esto se hace en muestras de tejido obtenidas por biopsia a "cielo abierto", punción con aguja o laparoscopia y examinadas con técnicas histopatológicas y microscopía de luz (ML) y/o electrónica (ME).

En el paciente con hepatitis aguda no está indicada ninguna biopsia hepática. Tampoco en hepatitis aguda fulminante (HAF) y cirrosis descompensada. En el que se sospecha hepatopatía crónica, es mandatoria.

Actualmente se clasifica el grado de daño hepático mediante varias escalas conocidas como Índices de Knodell, Ishak y METAVIR. Y se usa para evaluar severidad de necrosis, inflamación, fibrosis y la respuesta al tratamiento.

Para confirmar la etiología viral por VHB, se debe hacer en suero o plasma del paciente la detección de por lo menos: HbsAg, anti - HBcAg (M), HBeAg/antiHBeAg, carga viral VHB.

La detección de HBsAg, anti HBcAg (M) se realiza por inmunoensayos, el más común es ELISA. La detección del HBeAg, que se puede hacer también por inmunoensayo (ELISA es el más usado) permite hacer la primera estimación de si el paciente está infectado con una cepa salvaje (HBeAg+) o una mutante (HBeAg-). Tiene por eso valor pronóstico. Además, se usa para evaluación de la respuesta al tratamiento con antivirales e inmunomoduladores, pues se correlaciona bien⁴⁶ con la disminución de la carga viral o su aumento si hay "rebote", como se muestra en la figura 11.

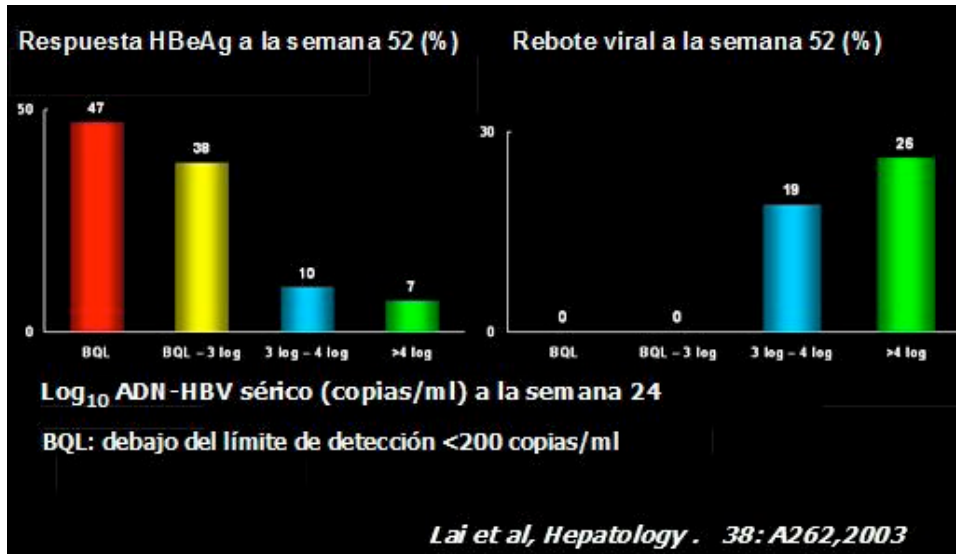


Figura 11. Hepatopatía crónica por VHB: HBeAg sérico como marcador de eficacia terapéutica.

La carga viral VHB en el plasma de los afectados, se puede medir actualmente por varios métodos cuya sensibilidad ha venido en aumento como se observa en el tabla 5. Incluso, ahora hay técnicas que permiten detectar de 1 -10 cp/ml.

Y también se ha demostrado que es un buen marcador de eficacia terapéutica⁴⁷ porque se correlaciona bien con la mejoría de la necrosis hepática (figura 12).

Tabla 5. Pruebas para detección del ADN-VHB

Ensayo/fabricante	Sensibilidad
PCR (Roche)	400 cp/ml
bADN (Bayer)	7.000 cp/ml
Hibridización (digene)	140.000 cp/ml
Hibridización (Abbott)	450.000 cp/ml

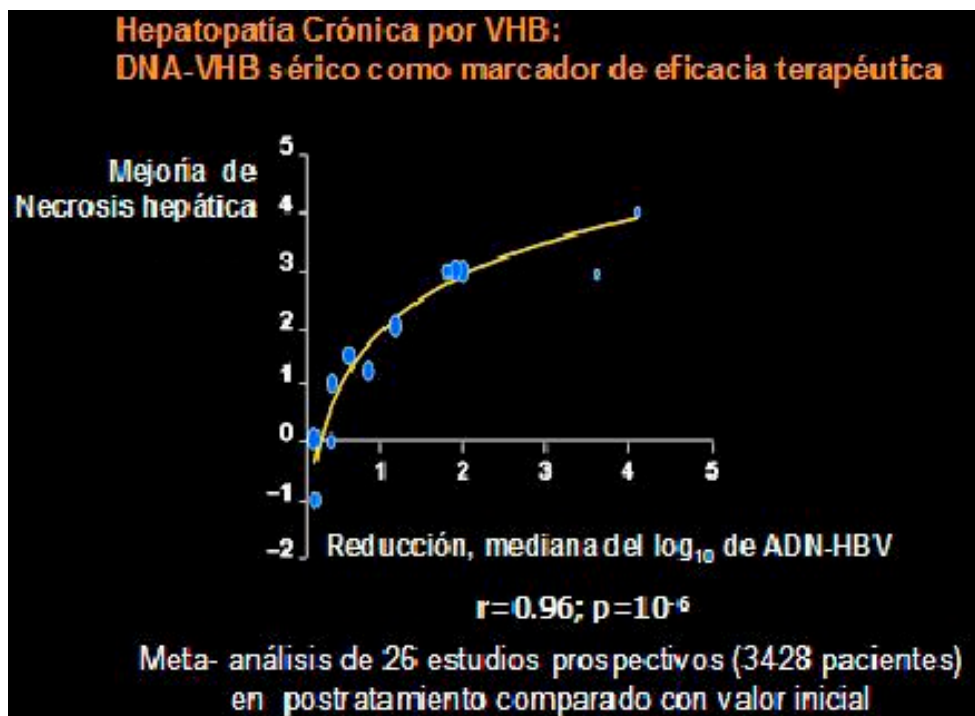


Figura 12. Hepatopatía crónica por VHB: ADN-VHB sérico como marcador e eficacia terapéutica. Mommeja-Marin et al. Hepatology, 37: 1309,2003.

Cuando el paciente fallece, en varios casos en Colombia es obligatorio por ley tomar estas muestras.

Epidemiología de las infecciones y enfermedades por VHB

Como se ha visto, el VHB es un virus muy resistente y puede soportar grados extremos de temperatura y humedad; por lo tanto los líquidos corporales y la sangre especialmente, son los vehículos primarios de la infección. Estos líquidos incluyen secreciones corporales como el semen, saliva, sudor, lágrimas y la leche materna.

En casi 1/3 pacientes la fuente de infección es desconocida y en regiones endémicas como África y el sudeste asiático, la transmisión desde una madre infectada al recién nacido durante el nacimiento (transmisión vertical) es común.

Estas infecciones neonatales conducen a un estado de portador de por vida del VHB, en el 10% de las niñas y hasta 20% de los niños. Y si hay coinfecciones con algunos virus como VIH, VHD, puede llegar al 90%.

Cualquier persona a quien no se la haya documentado anticuerpos protectores anti-VHB es susceptible a la infección. Y ésta puede ocurrir también a través de líquidos corporales y secreciones que contengan sangre y se pongan en contacto con mucosas (salpicaduras) y con la piel no intacta como heridas abiertas, abrasiones, dermatitis.

El riesgo de infección parenteral por el VHB depende de la probabilidad que el material fuente contenga al virus evidenciado por la presencia del HBsAg, el estado de inmunidad del accidentado, la cantidad de sangre presente, la vía de exposición y manejo que se ha hecho del accidente. La presencia del antígeno e (HBeAg) en el suero del paciente fuente se asocia con replicación e infectividad. Y este riesgo oscila entre 6-30% en exposiciones percutáneas, pudiendo llegar a más de 30%, cuando el HBeAg es positivo en el paciente fuente. Por las anteriores razones, la sangre y líquidos corporales o materiales biológicos que la contengan, deben ser tratados como potencialmente infecciosas para el VHB y el personal de Salud debería seguir las "precauciones universales de sangre" en todos los procedimientos que los involucren.

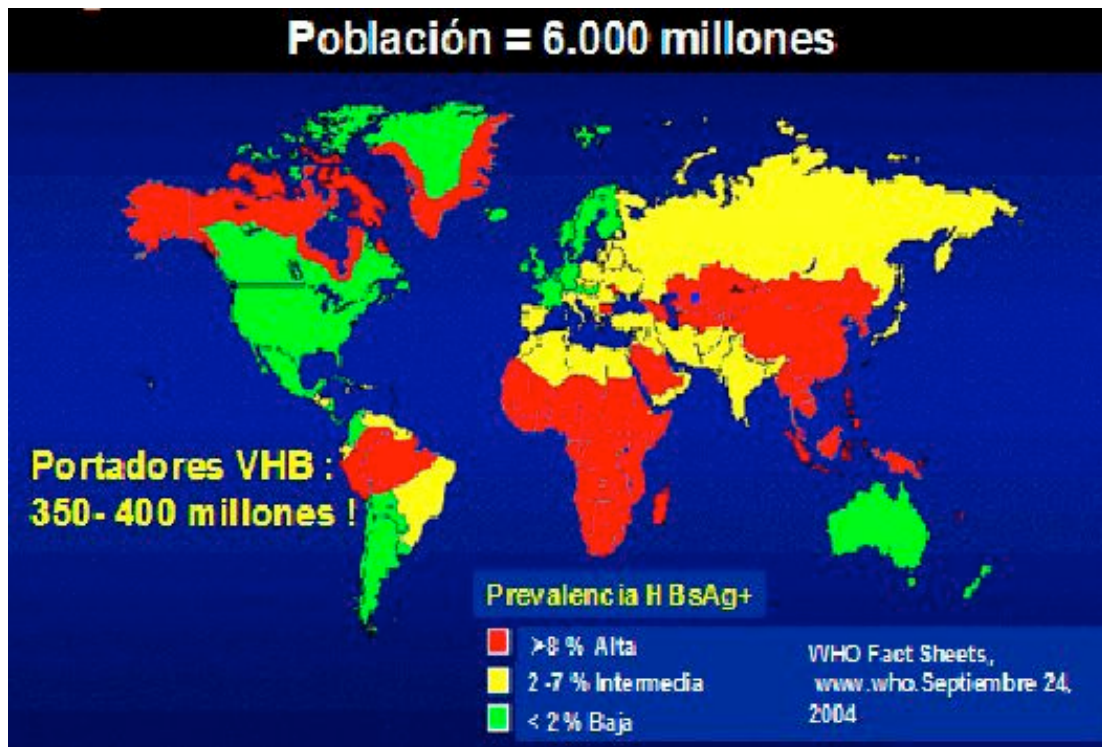


Figura 13. Infección VHB en el mundo

Por otra parte, si bien la infectividad de un paciente se correlaciona con la presencia de ADN-VHB y de HBeAg, cualquier producto sanguíneo con HBsAg positivo debe considerarse fuente de infección.

Los pacientes crónicos pueden tener el HBsAg indetectable y ser infectantes, seropositivos para el anticuerpo contra el HBcAg por efecto de mutaciones como las pre-S y/o coinfecciones por el VHD.

Se ha estimado por la OMS que en el mundo hay aproximadamente 2.000 millones de personas infectadas por el VHB y entre 300 - 400 millones de portadores crónicos del VHB; 25 - 30% morirán por alguna enfermedad hepática o sus complicaciones en los cinco años siguientes. Muchos de ellos son trabajadores de la salud (figura 13).

Entre 5% y 10% de los pacientes infectados por el VHB desarrollan una infección crónica con VHB que conlleva un riesgo permanente estimado en un 20% de morir de cirrosis y un 6% de riesgo de morir de cáncer del hígado.

En Latinoamérica la prevalencia de portadores del VHB aumenta del Sur al Norte.⁴⁸ En Argentina, Uruguay, Chile y sur del Brasil varía desde 0.5 hasta 1.1%; en el centro y noroeste de Brasil está entre 1.5 y 3.0%. En la región amazónica va de 5 - 15%.

En la región del Caribe es de 1-2% y en América Central está también entre baja y moderada, 1 - 3%. En República Dominicana y Haití alcanza el 4.1%.

La infección HBV varía significativamente en la región, según la ocupación, el nivel socio-económico, grupo étnico y origen de la población (urbana o rural).

Estudios en Brasil y Venezuela encontraron una alta prevalencia en los grupos socio-económicos de menores ingresos que viven en grandes

ciudades. Los realizados en Colombia encontraron una frecuencia más alta en ciudades pequeñas y en áreas rurales.

Por el contrario, los habitantes que residen en las regiones costeras de Perú presentan la misma frecuencia que en ciudades grandes.

En Brasil y Trinidad se ha informado que la infección VHB es más frecuente en blancos y mestizos; mientras que en Surinam la población de origen indonesio tiene mayor prevalencia de infectados y portadores.

La población indígena de Brasil, Colombia, Panamá y Venezuela tiene altas frecuencias de infección. En el estado del Amazonas, Brasil, el 70% de la población menor de 20 años presenta positividad para marcadores de infección VHB; una situación similar se presenta en la costa atlántica de Colombia, donde a los 18 años de vida el 70% de algunas poblaciones ya están infectadas y hay endemia simultánea del virus de la hepatitis Delta (VHD).

La prevalencia de la infección por el VHB en un mismo país no es uniforme. Un buen ejemplo es el caso de Colombia. Así quedó evidenciado en el Estudio Nacional de Prevalencia de O. Juliao en el INS de Colombia⁴⁹; aunque solamente buscó el HBsAg por las técnicas disponibles para la época que no tenían la sensibilidad actual (tabla 6). Es claro en estos resultados, que la infección es endémica y presenta variaciones por región natural y por edad. Esto también se confirmó en los estudios que hicimos sobre hepatitis B entre 1970 y 1990⁵¹⁻⁶⁰ que permitieron establecer la prevalencia en donantes de sangre, población urbana y rural de Antioquia y Córdoba, indígenas Cuna de la región de Urabá, pacientes renales, pacientes con hepatitis aguda y hepatopatía crónica; todos significativamente mayores a los descritos en el norte y sur de América, así como en Europa.

Tabla 6. Infección crónica por VHB en Colombia n=10.968*

R. central	7.1	11.7	9.8	5.4	6.4	7.9
R. Pacífica	3.5	3.2	3.3	3.7	3.5	4.4
R. Oriental	2.8	1.4	1.7	2.3	4.9	4.1

*Submuestra del Estudio Nacional de Salud 1977-80, representa 24.661.482 habitantes Sólo HBsAg+. Juliao R., O. prevalencia de Antígeno de Superficie de Hepatitis B en Colombia. *Biomédica*. 11(1,2,3,4): 56-60, 1991.

Luego el estudio cooperativo multicéntrico que coordinaron la fallecida e inolvidable Scott Mazzur y su asistente de entonces S. N. Nath de la Cruz Roja Norteamericana y con el apoyo de la OPS, en el cual también participamos, en 1980.⁶¹

Se confirmó la alta frecuencia de portadores en bancos de sangre, los altos títulos que tenían y su infectividad.

Después, afortunadamente se tomó la decisión de controlar este riesgo en las transfusiones en todo el país.

Hicimos también estudios de subtipos del VHB. En 5,706 muestras procesadas con reactivos obtenidos de CDC en Atlanta y la Cruz Roja Norteamericana

de Bethesda, Maryland; se encontraron varios subtipos del VHB.^{62,63,64}

Y de acuerdo a la nomenclatura actual, el genotipo más frecuente es el A pero están presentes también el B y el C.

En estas personas, la frecuencia de hepatopatías crónicas silenciosas se demostró que era alta, 90% como puede verse en la tabla 7, que resume los resultados de Cavanzo y colaboradores en Bogotá.⁶⁵

Y con variadas formas de transmisión, como las detectadas en el estudio de Hollinger y colaboradores en Cali⁶⁶, que también se resume en la tabla 8.

Tabla 7. Lesiones hepáticas en portadores asintomáticos de VHB*

	n	%	HBsAg-CP	Displasia
H. crónica persistente	14	46.6	9	2
Cambios inespecíficos	11	36.6	6	3
H. crónica activa	2	6.6	1	2
Normal	3	10.0	0	0

Cavanzo, F, Fassler, S., De Bowen, A. Cadena, D. Muñoz, J. Act. Med. Col. 7 (39,1982).

Tabla 8. Hepatitis B: transmisión sexual*

	HbsAg+		AntiHBsAg+		Total	
	n	%	n	%	n	%
Prostitutas	5/272	1.8	20/272	7.4	25/272	9.2
Monjas	10/30	33.3	23/30	76.7	23/30	33.3
P. Instit.	18/45	40.0	16/45	35.5	18/45	40.4
P. General	9/162	5.6	12/162	7.4	12/162	7.4

*Adam, E, Hollinger, F.B., Melnick, J. L., A. Dueñas, Rawls, W.E Type B hepatitis Antigen and antibody among Prostitutes And Nuns. A Study of possible Veneral Transmission J. infec. Dis. 129(3): 317-321, 1974

Las causas para estas diferentes formas de transmisión no han sufrido muchos cambios en el momento actual (promiscuidad temprana, hacinamiento, malos hábitos higiénicos, turismo sexual).

Así lo parecen indicar por los resultados de un reciente estudio e intervención con vacuna para VHB, que realizamos en la población de Nariño, Cundinamarca, en el valle alto del río Magdalena, apenas a una hora por carretera de Girardot.

Allí la prevalencia de infección VHB era del 50% a los 12 años de vida.⁶⁷

El riesgo de infección en personal de Salud de Colombia también es alto. Así lo encontramos en los primeros estudios en personal de varias instituciones de salud de Medellín; según los cuales el 24.01% de los examinados para HBsAg y anti-HBsAg eran positivos, con asociación estadísticamente significativa entre la infección VHB, la profesión, el lugar de trabajo y edad.⁶⁸

En otro trabajo que hicimos en la misma época en odontólogos y sus auxiliares⁶⁹, también se encontró asociación entre la ocupación, el tiempo de graduación o de realizar un oficio en odontología y una más alta tasa de infección, que globalmente fue del 31.6% para cualquier marcador de infección VHB.

Estas altas prevalencias en personal de Salud, se correlacionan con las regionales y departamentales; además con actitudes, creencias y prácticas de riesgo para la infección por el VHB.

Así lo encontramos en el estudio financiado por el Seguro Social en 22 departamentos⁷⁰ (tabla 9).

Tabla 9. Infección crónica VHB, personal de salud de Colombia n= 10.946*

Región	Cualquier + marcador VHB	HBsAg+	antiHBsAg+
Caribe	23.9	3.5	20.4
Andina	24.3	1.2	22.2
Pacífica	9.5	1.3	8.2
Orinoquía	19.6	5.4	14.2
Amazonía	7.7	7.7	-

*Jaramillo, A. C. and others. Tribuna Médica. 94 (2):99 – 106, 1996

Un poco más de 12 años más tarde de realizar el estudio del ISS, en 2003, esos factores de riesgo no habían cambiado mucho. Y había una falsa sensación de seguridad por haber sido “vacunados para VHB” en el personal de un hospital de primer nivel en Chía, uno de segundo en Fusagasugá y una clínica de tercer nivel en Girardot, Cundinamarca.⁷¹

La mayoría de los accidentes con riesgo de infección en los 5 años precedentes no se habían notificado, ni se habían aplicado las claras normas disponibles para estos casos. Cuando se hizo el estudio serológico, apenas el 50% de esos “vacunados” tenían títulos de anticuerpos protectores para VHB.

Hay igualmente estudios en el país, que indican un alto riesgo para hepatopatías crónicas secundarias a la infección VHB.

El primero que hicimos fue publicado en 2000⁷² y se resume en la tabla 10.

En el mismo año el estudio de J. H. Rojas en Cali⁷³, estableció una alta frecuencia de infección VHB y asociación con cirrosis y hepatocarcinoma (tabla 11).

Tabla 10. Infección crónica por VHB en Colombia*

	HBsAg+	
	n	%
Hepatitis crónica	4/16	25
Hepatitis larga evolución*	0/6	0
S. funcionales benignos	0/2	0
Total	4/24	16.7

*Jaramillo, A.C. Boletín SLH. 001/79, 2000.

Tabla 11. Infección crónica por VHB en Colombia

SILOS	Hepatoma*	Cirrosis*	VHB+**
1	6.3	15.3	2.2
2	10.0	20.7	2.2
3	18.0	32.1	5.1
4	9.5	24.2	2.8
5	7.8	4.9	1.1
6	6.6	9.3	2.2

* Rojas, J. H. Biomédica, 20:283.
 ** Tasa/100.000 habitantes en mayores de 30 años.
 *** Tasa/100.000 habitantes en todas las edades.

En Bogotá y su área de influencia, también es frecuente de acuerdo a los registros del Instituto Nacional de Cancerología.⁷⁴

En este estudio encontramos 72 casos de hepatocarcinoma primario, en el período de 1975 a 1995; el 58% eran varones y 42% mujeres. Procedían de los departamentos de Cundinamarca²⁵, Boyacá¹¹, Sandander⁷, Tolima⁶, Meta⁵ y en menor proporción de Antioquia², Caquetá², Casanare¹; así como de zonas tan distantes como Atlántico¹, Amazonas¹, Vaupés¹ Norte de Santander¹, Valle¹.

Este tipo de patologías son importantes como causa de muerte, según el mismo trabajo de J. H. Rojas en Cali (tabla 13).

Afortunadamente, el control del VHB en los bancos de sangre del país ha mejorado mucho a 2006. Y la frecuencia de los portadores del VHB, con los esfuerzos para seleccionar adecuadamente los donantes, excluir la donación pagada y forzada, está dando frutos.

Así lo parece demostrar una reciente publicación del INS30, según la cual la incidencia de portadores está disminuyendo desde 1994 (figura 14).

Tabla 13. Infección crónica por VHB en Colombia		
	n	%
Muertes en Cali (1994)	10.437	100
Muertes por Ca	1424	13.6
Muertes por hepatoma*	106	1.0
Muertes por cirrosis*	106	0.0096
*En total 116VHB+.		

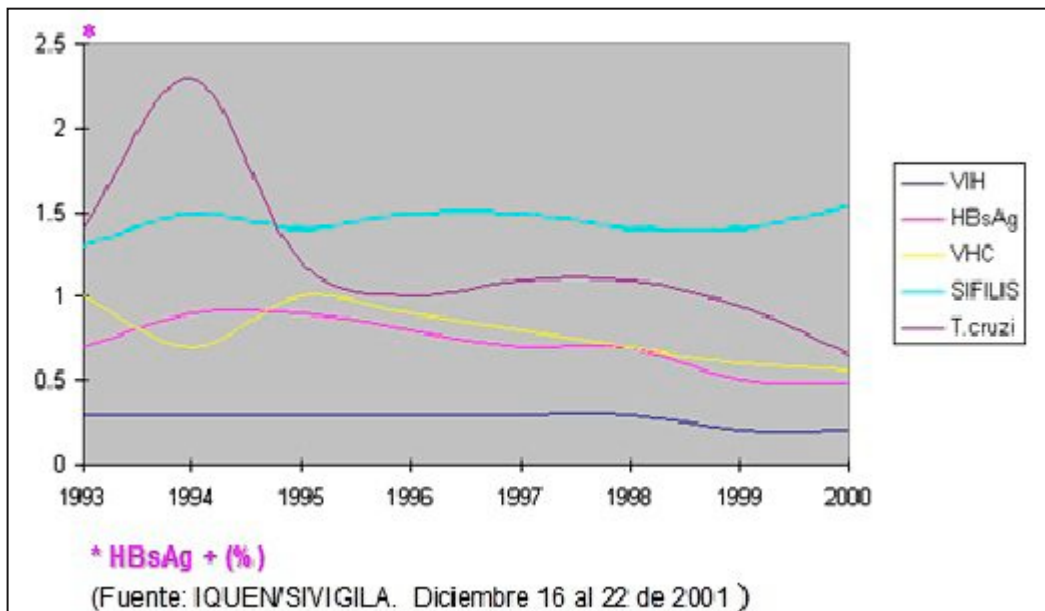
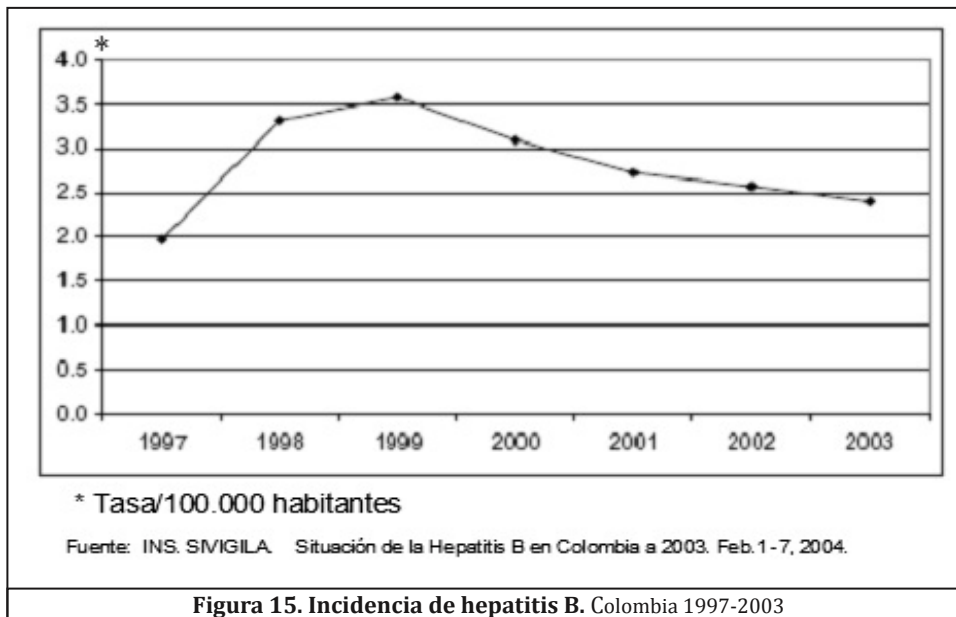


Figura 14. HBsAg en donantes de sangre. Colombia 1993-1999

Igual parece estar sucediendo con la incidencia de infección VHB en población general, por el Programa Nacional de Vacunación para VHB según otro informe también del INS²⁹ (figura 15). Pero las cifras de vacunación no son uniformes para

el país según el PAI y en algunos grupos como los desplazados por la violencia (ya no se sabe exactamente cuántos son) están muy por debajo del promedio nacional; igual en los departamentos donde la infección es hiperendémica.



Como ya se ha dicho, poco se ha hecho para intervenir el reservorio del VHB, que el Ministerio de Salud hoy desaparecido, estimó en por lo menos 1.2 millones de personas cuando la población era menor que la actual.

Por eso, si fuera cierto que la prevalencia media de portadores del HBsAg es de apenas 5% aproximadamente (ya se ha visto que no parece cierto), de los también aproximadamente 41.2 millones de habitantes del país según el último censo (DANE, 2006) unos 2.06 millones serían portadores del VHB.

Ya se ha visto que muchos son infectantes, por eso constituyen un grave problema de salud pública, para el cual ya hay tratamientos efectivos.

Además, van a desarrollar cirrosis a una tasa del 2-5.4%/año; van a tener hepatocarcinoma el 2.2% anual si hay cirrosis, sin cirrosis el 1% anual. Y van a morir aún sin cirrosis entre el 1-5% anual.

Su tratamiento constituye un imperativo ético y una obligación moral del Estado y sus representantes.

Manejo de las infecciones por VHB

Hepatitis B aguda.

El tratamiento es básicamente sintomático y no debe incluir esteroides.

Los antivirales e inmunomoduladores no están indicados. Tampoco los hepatoprotectores y productos herbolarios, para los cuales no han probado eficacia. Algunos además tienen toxicidad.

El seguimiento no se debe limitar a 3-6 semanas; debe incluir controles a 1, 3 y 6 meses después de la fase aguda. Y si el HBsAg persiste, se debe realizar la detección del HBeAg, el antiHBeAg y la carga viral-VHB. En algunos casos además, una biopsia hepática.

No se debe olvidar el estudio de los grupos escolar y laboral del paciente y aplicar vacunas y antisueros cuando se requieran.

Hepatitis B crónica

Según las recomendaciones vigentes hasta este año de la Asociación Americana para el Estudio del Hígado (AASL) deben recibir terapia antiviral, todos los pacientes que tengan infección crónica por el VHB; con más de seis meses de evolución; carga viral superior a 100.000 copias/ml; elevación de ALT; actividad necroinflamatoria en la biopsia hepática y que no presenten contraindicaciones.

No se considera el tratamiento en los casos de hepatitis aguda, hepatitis fulminante y portadores asintomáticos de VHB con ALT repetidamente normales.

Las metas para este tratamiento incluyen:

Supresión sostenida de la replicación del VHB

- Depuración del ADN-VHB (niveles indetectables en suero).
- Seroconversión: HBsAg negativo, con anti-HBsAg positivo.
- HBeAg negativo, con anti-HBeAg positivo.

Remisión de la enfermedad hepática

- Normalización de niveles de ALT.
- Disminución de lesión histológica de al menos 2 grados sobre la basal (inflamación y necrosis, según Knodell/IShak).

Mejoría en resultados clínicos

- Disminución del riesgo de cirrosis, insuficiencia hepática, necesidad de trasplante hepático y hepatocarcinoma (HCC).
- Mejoría en las tasas de supervivencia.

Se esperaba, que por lo menos la carga viral llegara a > 10.000 cps./ml, por cuanto en un estudio (80) abierto de seguimiento, multicéntrico, luego de tratamiento con 100mg/día de lamivudina por 18 meses; se encontró consistentemente que había negativización del HBeAg, con seroconversión en el 50% de los pacientes; bastante mejor de lo que se conseguía con Interferón que hasta 1998 era 30% en promedio.

Y aún sobre el interferón pegilado, ya aprobado para uso en hepatitis B crónica en Europa y Japón, con eficacia mayor del 30% y más fácil aplicación.

Pero el problema de la aparición de mutaciones inducidas por el tratamiento a razón de 20%/año y que a los cinco años ya llegan al 60-70%, hizo que se consideraran nuevas alternativas.

Fue así como se empezó a usar el adefovir, que ya se ha dicho tienen con una eficacia comparable a la de lamivudina, pero con mayor toxicidad renal.

Hasta 2003, los medicamentos disponibles incluían: interferones alfa (Naturales, sintéticos, pegilados), lamivudina y adefovir cada uno con

sus indicaciones, ventajas y desventajas (ver arriba).

Y apareció el entecavir (baraclude de BMS), una nueva molécula que de acuerdo a publicaciones recientes^{37,38,39}. Resuelve varios de estos problemas.

Éste es un análogo nucleósido de guanosina; es inhibidor selectivo de la replicación del VHB, sin actividad clínica relevante contra el VIH.

Es un inhibidor débil de la polimerasa gama o ADN polimerasa mitocondrial; no se conocen interacciones con inhibidores o inductores del sistema CYP450, por eso no tienen mucha toxicidad, aún en pacientes polimedcados.

Esta molécula, inhibe la polimerasa del VHB en la iniciación de la síntesis, transcripción reversa y síntesis dependiente de ADN. Por eso es más potente que lamivudina como antiviral.

Hay varios trabajos con entecavir que se han presentado en reuniones internacionales sobre sus propiedades y eficacia.

Los tres más representativos de fase III, ilustran sus resultados en pacientes vírgenes (naive) infectados con la cepa salvaje del VHB (HBeAg+) y con la mutante (HBeAg-) y previamente tratados, HBeAg+, resistentes a lamivudina.

El estudio ETV-022, se hizo en pacientes sin terapia previa con análogos nucleósidos (Naiv = vírgenes al tratamiento AV), que eran HBeAg+. En una rama del estudio los pacientes recibieron 0.5 mgs/día de entecavir y en la otra 100 mgs. /día de lamivudina.

A la semana 48, los resultados fueron excelentes en la reducción de la carga viral VHB, que disminuyó en forma significativa con relación a lamivudina (figura 16).

Igualmente hubo buenos resultados con relación a la negativización del HBeAg y aparición del anticuerpo (seroconversión), aunque la diferencia con lamivudina en este caso no fue significativa. La respuesta se mantenía a los 6 meses, como se ve en la figura 16 y otra vez fue significativa.

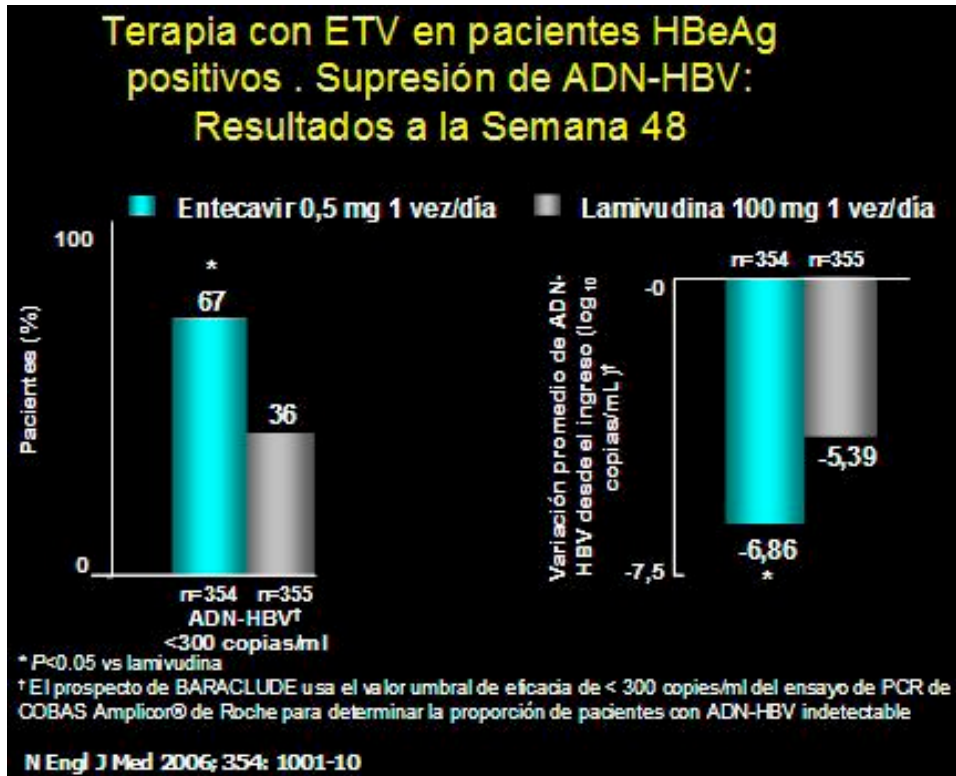


Figura 16. reducción de carga viral de acuerdo al tratamiento

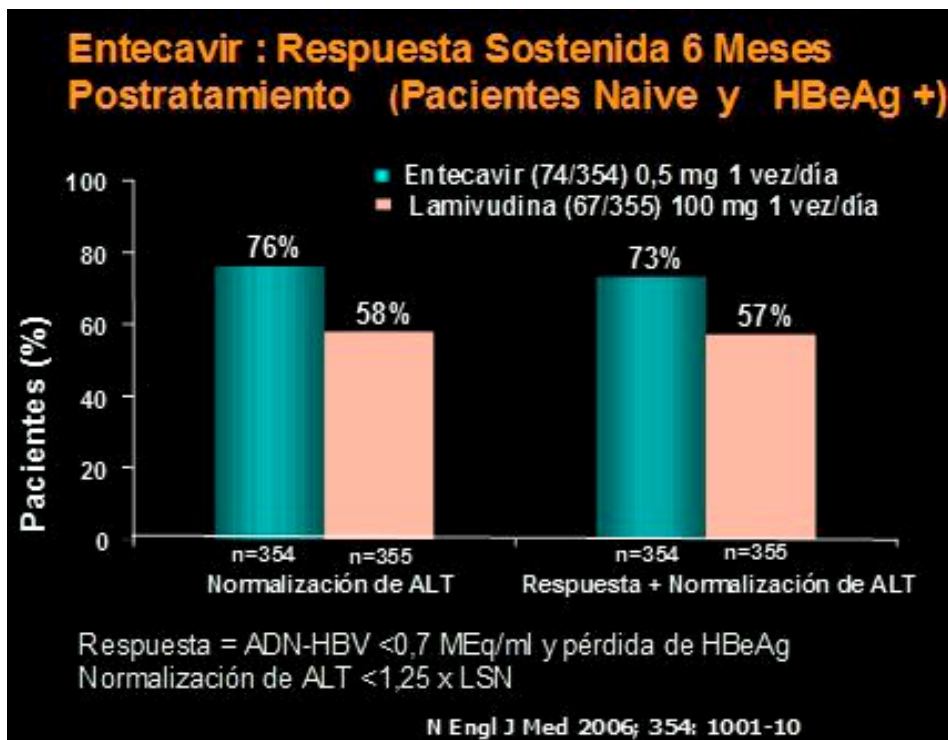


Figura 17. Resultados 6 meses después del tratamiento

También hubo mejoría histológica, con diferencia significativa (figura 17).

Y estos resultados, no variaron con los genotipos del VHB.

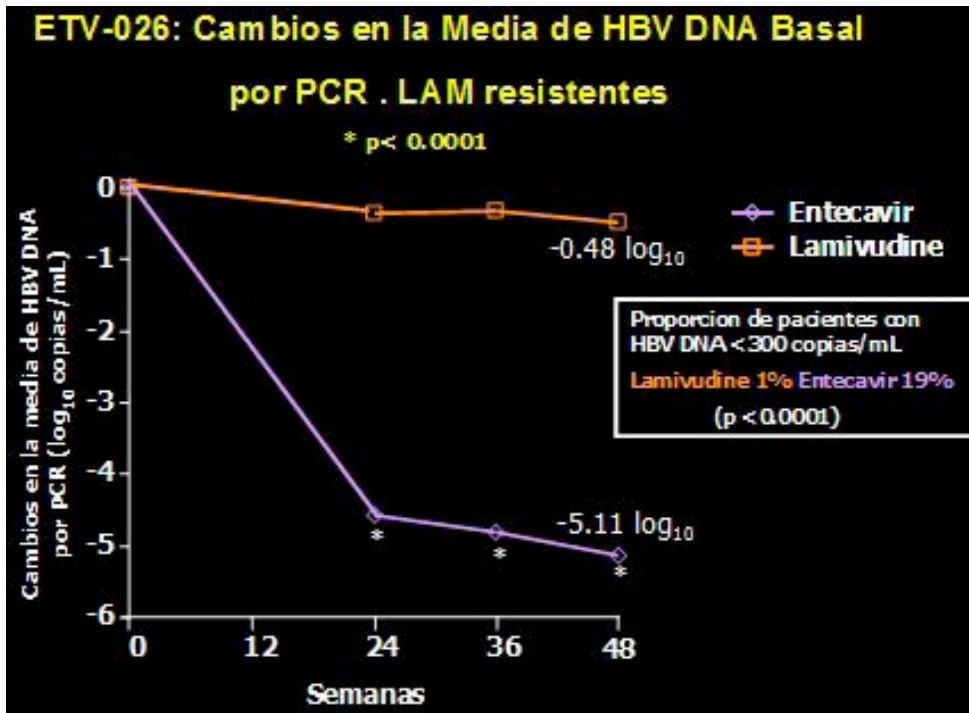


Figura 18. Variación de carga viral según tratamiento

El Estudio ETV- 026, se hizo con pacientes resistentes a lamivudina, HBeAg+ una rama del estudio administró 1 mg/día de entecavir y la otra 100 mgs/día de lamivudina.

Otra vez hubo excelentes resultados con relación a la carga viral VHB, como se puede ver en la figura 18.

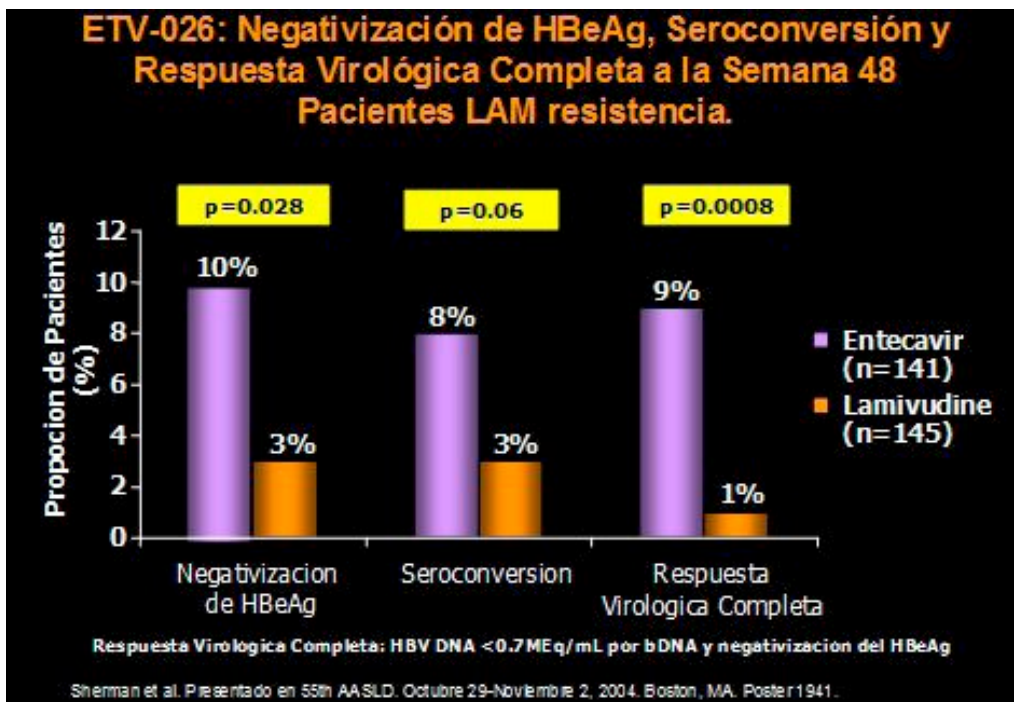


Figura 19. Seroconversión de HBeAg

Y la seroconversión del HBeAg, si fue significativa (figura 19), con notoria mejoría de la necrosis hepática a la semana 48.

Aunque hubo algunos pacientes que no mejoraron histológicamente en los dos grupos, el que recibió entecavir fue menor.

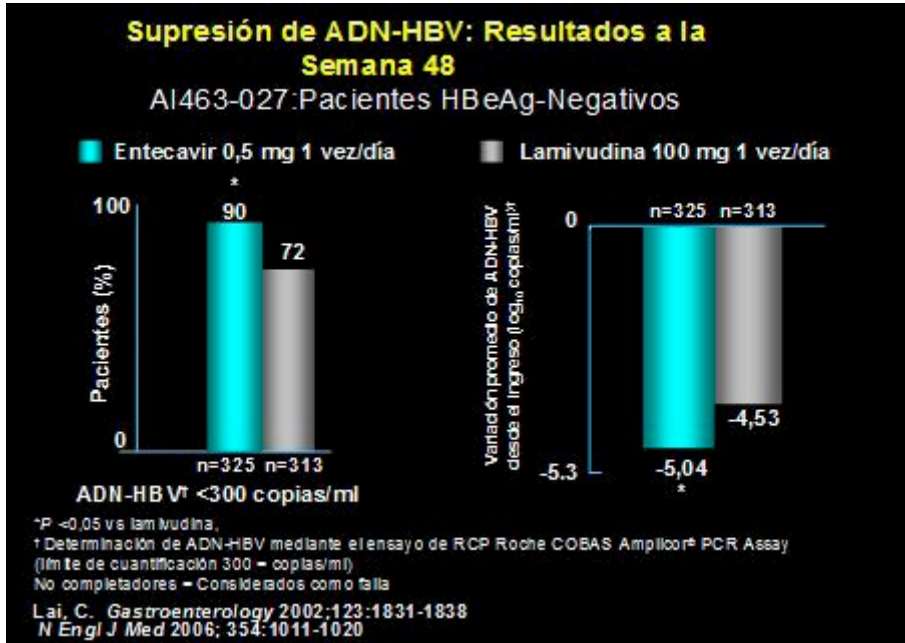


Figura 20. Reducción de carga viral a la semana 48 según tratamiento: lamivudina y entecavir.

En el estudio ETV-027, se incluyeron pacientes sin terapia previa con análogos nucleósidos (Naive, vírgenes al tratamiento AV), HBeAg- Una parte recibió entecavir a la dosis de 0.5 mgs/día y la otra 100 mg/día de lamivudina.

Los resultados como se esperaba, no fueron tan buenos como en el estudio con pacientes HBeAg+;

no obstante, fueron mejores que con lamivudina y se mantuvieron a la semana 48, independientemente de los niveles de ALT basales, considerados como críticos en estudios previos con lamivudina. (figura 20).

La mejoría histológica, también fue significativamente mejor en el grupo que recibió entecavir (figura 21).

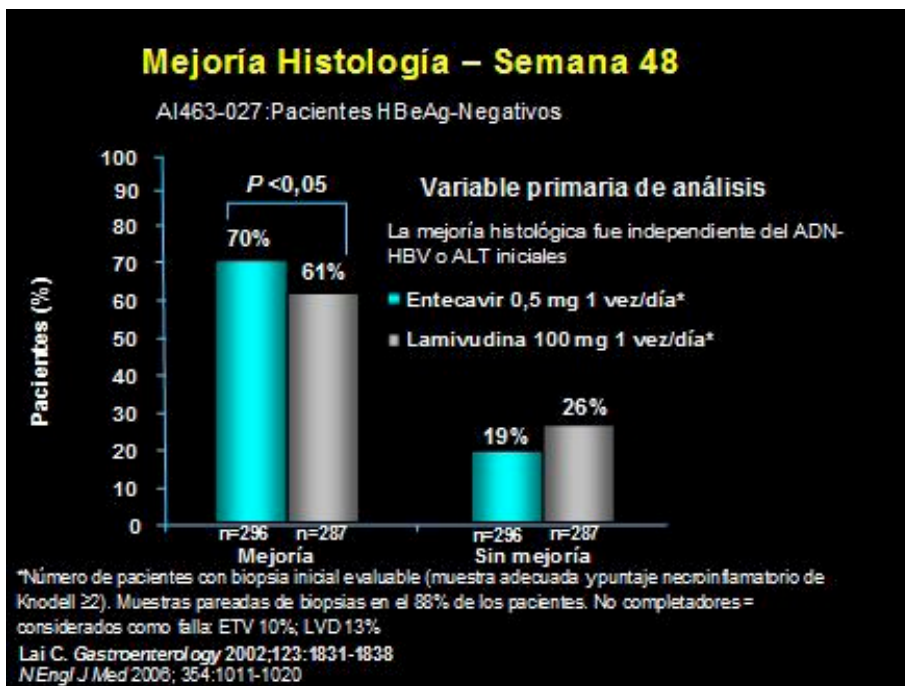


Figura 21. Mejoría histológica según tratamiento: lamivudina o entecavir

A la semana 24 meses de tratamiento no se observaron “rebotes virológicos” asociados a resistencia en los pacientes naïve; ni resistencia primaria a entecavir y olo en el 9% de los pacientes refractarios a lamivudina.

Referencias bibliográficas

- Luerman, A. Eine icterusepidemie. Berl. Klein. Wochenschr. 22: 20, 1885.
- Beckman, L. Infectious Hepatitis in Europe. In Roden walt, E. (ed). : Work Atlas of Epidemic diseases. Part I. hamburg, Ed. Falk Verlag, 1952.
- Cockaine, E. a. Catarrhal Jaundice sporadica and epidemic, and its relation to acute yellow atrophy of the liver. Q.J. Med. 6:1, 1912.
- Sartewell, P.E. Infectious hepatitis in relation to blood transfusion. Bul. U.S. Army Med. Dept. 7:90:, 1947.
- Anónimo. Jaundice following yellow fever vaccination. JAMA. 119: 1110, 1942.
- Beeson, P.B., Chesney,G., McFarland , a. M. et al. Hepatitis following injection of mumps convalescent plasma. Lancet. 1: 814, 1944
- MacCallum, F. O. Infective Hepatitis. Lancet. 2: 435, 1947.
- Blumberg, B.S., Alter, H. J., Visnich,S. et al. A "new" antigen in leukemia sera. JAMA. 191:541, 1965.
- Blumberg, B. S., Stunick, London, W. T. Hepatitis and leukemia their relation to Australia antigen. Bull. N. Y. Acad. Med. 44:1566-1586, 1968.
- Prince, A. M. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 60:814-821, 1968.
- Okochi, K. S., Murakami, S, Ninomiya,K. Australia Antigen transfusion and transfusion hepatitis. Vox. Sang. 18:289, 1970.
- Dane, D. S., Cameron, C.H., Briggs, M. Virus -like particles in serum of patients with Australia - antigen -associated Hepatitis. Lancet. 1:695,1970.
- Millinship, S. Hepatitis B Virology and Immunology. www.hon.ch/Library/Theme /HepB/virology.html.
- Krugman, S. Giles, J. P. Viral Hepatitis: New Light on an Old Disease. JAMA. 212 (6): 1019, 1970.
- Prince, A. M., Brotman,B., Grady, G. F. et al. Long incubation post transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. Lancet. 2:241-246,1974.
- Choo, Q. L., Kuo, G., Weiner, A. J., Overby, L.R., Bradley, D.W., Houghton, M. Isolation of a cADN clone derived from a blood -borne non-A, non -B viral hepatitis genome. Science. 1989; 244:359 -361.
- Rizzetto, M.,Canese, m.G., Avico, S. et al. Immunofluorescence detection of a new antigen/antibody system (delta/antidelta) associated with hepatitis B virus in liver and serum of HBsAg carriers. Gut. 18:997-1003,1977.
- Rizzetto, M. The Delta Agent. Hepatology. 3:729- 737, 1983.
- Reyes, G. r., Purdy, M. A., Kim, J. P. et al. Isolation of cDNA from the virus responsible for enterically transmitted Non A, non B hepatitis. Science. 2471335-1339,1990.
- Mushahawar I. K, Dawson, G.J., reyes, G.R. Hepatitis E virus: molecular biology, epidemiology and diagnosis. Europ. J. Gastroenterol. Hepatol. 1996.
- Simons, J. N., Mushahawar I. K Los virus GB de la Hepatitis. Hepatología Clínica. 1: 16, 1996.
- Szmuness, W., Stevens, C.e., Zang, E. A. et al. A controlled clinical trial of the efficacy of the Hepatitis B vaccine (Heptavax): A Final Report. Hepatology. 1:377-381, 1981.
- Beasley, R.P, Hwang, L.W, Lin C. C. et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B. virus. A prospective Study of 22707 men in Taiwan. Lancet. 2.1129-1132,1981.
- Chang, M. H., Chen, P., J. Y. et al Hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma in childhood. Hepatology. 13:316-320, 1991.
- Chen, et al. REVEAL Study. EASL 2005. Abstract 35.
- Chen, et al. REVEAL Study. EASL 2005. Abstract 476.
- Iloeje, et al. REVEAL Study. EASL 2005. Abstract 496.
- Chang MH, Shau WY, Chen CJ, Wu TC, Kong MS, Liang DC, Hsu HM, Hsu HY, Chen HL, Chen DS. The Gender Effect of Universal Hepatitis B Vaccination on Hepatocellular Carcinoma in Children: Gender Difference. J. of Pediat. Gastroent. and Nut.. Vol. 31, Supplement 2, 2000.
- INS. SIVIGILA. Situación de la Hepatitis B en Colombia a 2003. Feb.1 -7, 2004.
- IQUEN/SIVIGILA. Diciembre 16 al 22 de 2001.
- WHO Fact Sheets, www.who.Septiembre 24, 2004.
- Perrillo, R. P., Schiff, E.R., Davis, G.L. et al. A Randomized controlled trial of interferon alpha -2b alone and after prednisone withdrawal after the treatment of chronic hepatitis B. N. engl. J. med. 323: 295-301, 1990.
- Hoofnagle, J.H., DiBisceglie, A. M. Wagnoe, J.J. et al Interferon alpha with clinically apparent cirrhosis due to chronic Hepatitis B. Hepatology. 104:1116-1121,1993.
- Lai CL, Chien RN, Leung NW et al. A one year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. N. Engl. J. Med 1998; 339:61-68, 1998.
- Liaw, YF, Leung ,NW, Chang, TT, Guan, R, Lee, CM, Ng KY, Wu PC et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. Gastroenterology. 119:172-180, 2000.
- Sokal, EM, Kelly, D, Mizerski, J, Badia, I, Areias, J, Schwarz, K, Little N. et al. An international double - blind placebo-controlled trial of lamivudine in 286 children with chronic hepatitis B. J. Hepatol. 34 (suppl. 1):23 A, 2001.
- Chang, T.S., Gish, R.G., de Man , R., Gadanao, A, et al. Acomparision of Entecavir and Lamiduvine for HBeAg - Positive Chronic Hepatitis B. N.Eng. J. Med. 354 (10), March. 2006.
- Lung Lai, Ch., Shouval, D., Lok, A. S. Et al. Entecavir Versus Lamiduvine for Patients with HbeAg - Negative Chronic Hepatitis B. N. Eng. J. Med. 354:10, March9, 2006.
- Sherman, M., Yurdanin, C., Sollano, J. Et al. Entecavir for Treatment of Lamiduvine- Refractory, HbeAg-Positive Chronic Hepatitis B. Gastroenterolgy. 130: 2039-2049, 2006.
- Robinson, W. S., Miller, H., Marion, P.L. Hepadnaviruses and Retroviruses are Phylogenetically Related. Viral Hepatitis and AIDS. Ed. by V. M. Villarejos. San José - Costa Rica, Ed. Trejos Hnos. 1987. pp. 91-109.
- McMahon. Genotypes of Hepatitis B virus. Sem Liver Dis. 24:17-21, 2004.

42. Carman, W.F, Zanetti, A.R., Karayiannis, P, Waters, J, Manzillo, G, Tanzi E, Zuckerman, A.J, Thomas, H.C. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*. Aug. 11; 336(8711):325-9, 1990.
43. Karthigesu, V.D., Allison, L.M.C., Fortuin, M., Mendy, M., Whittle, H.C. Howard, C.R. A novel hepatitis B variant in the sera of immunized children. *J. Gen. Virol.* 75:443-8,1994.
44. Fortuin, M., Karthigesu, V., Allison, L., Howard, C., Hoare, S., Mendy, M., Whittle, H.C., Breakthrough infections and identification of a viral variant in Gambian children immunized with hepatitis B vaccine. *J. Infect. Dis.* 6:1374-6, 1994.
45. Coleman, P. F. Detecting Hepatitis B Surface Antigen Mutants. *Emerging Infectious Diseases*. www.cdc. Vol. 12, No. 2, February 2006.
46. Lai et al. Serum HBV DNA as a marker of efficacy of antiviral treatment. *Hepatology*. 38: A262, 2003.
47. Mommeja-Marin et al. Serum HBV DNA as a marker of efficacy. Analysis and review of the literature. *Hepatology*, 37: 1309, 2003.
48. Tanno, H., Fay, O. Hepatitis viral en América Latina. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* sept. 35(3):169-182, 2005.
49. Juliao R, O. Prevalencia de antígeno de superficie de Hepatitis "B" en Colombia, *Biomédica, Ene- Oct.* 11(4-1):56-7,1991.
50. Isaac, J., C. Jaramillo, M. Restrepo. Antígeno Australia en población rural y urbana. Resúmenes de trabajo. III Congreso de Medicina Interna, Medellín, Colombia 1974.
51. Gómez, M. E. P. Olivares de A., Mariaka y C. Jaramillo. AgsHB y sus anticuerpos en los indios Cuna de Turbo (Antioquia). *Rev. E.N.S.P.* 2(4):6 9, 1976.
52. Jaramillo, A. C. *Act. Med. Col.* 2 (1), 1977; *HSM*, Feb. 1977.
53. Jaramillo, C. y P. Mariaka. "Hepatitis Viral en Antioquia Colombia, de 1973 a 1977". *Relatos Médicos y de Seguridad Social.* 70 (1 2): 99, 1978.
54. Jaramillo, C. Hepatitis Viral. *Relatos Médicos y de Seguridad Social* 7 (1 2): 95, 1978.
55. Jaramillo, C. Hepatitis Viral. *Bol. Soc. Col. de Parasitol y Med. Trop.* 1(5): 1, 1978.
56. Jaramillo, C., P. Olivares de A. Hepatitis Viral de Medellín: Resumen de Hallazgos de 1973 a 1977. *Act. Med. Col.* 3(1): 11, 1978.
57. Arbeláez G., M., C. Jaramillo, J.L. Arango, A. Hurtado, P. Olivares de A., P. Mariaka, A.E. Arango, L. Mejía y L. Borrero. 1978. Hepatitis Viral tipo B en la Unidad Renal de Medellín. *Res.V. Congreso. Nacional de Med. Interna., Cali, Colombia, S.A.P.43.*
58. Jaramillo T., C. y P. Olivares de A., 1979. Hepatitis crónica Medellín, Colombia, S.A. Resumen de Hallazgos de 1973 a 1978. *Bol. Soc. Lat. Am. de Hepatol.* 1 (1): 3 4.
59. Jaramillo C., R. Ramírez y Otros. 1986. Hepatitis Viral: Actualización de conceptos. Comportamiento Epidemiológico en Antioquia. 1980 1986. *Boletín Epidemiológico de Antioquia.* XI (3). 141 165.
60. Barco, C., Ospina, D., C., Jaramillo, J.P. Escobar y L. Restrepo. Evaluación Serológica y de Hábitos Laborales en Personal de Alto Riesgo para la Infección con el Virus de la Hepatitis B. Clínica León XIII, Medellín, Colombia. S. América. (Tesis de Grado ECNSP, Medellín). 1990.
61. Mazzur, S., N. Nath, C. Fang. M. J. Bastiaan, J. L. Molinares, F. M. Ayala, M. Balcázar, S. Becker, E.A. Brunnings, A.R.E. Cameron, A. Gutiérrez D., V. Farrel, O.H., Fay, Gonzales L., C. Jaramillo, T., R. Kats, B., Lema L., E. Levy Koenig, J. Rodríguez, H. Rodríguez M., R.A. Torres, M. Velasco. Distribution of Hepatitis B Virus (HBV) Marker's in blood donors of thirteen Latin America Countries. Proceedings of the Red Cross Latin American. Hepatitis B Workshop. *Bull. Pan Am. Health. Org.* 14(1): 44051, 1980.
62. Jaramillo, C. Subtipos del antígeno superficial de la hepatitis B en donantes de sangre en Medellín, Colombia, S.A. *Act. Méd. Col.* 2(1): 3 9. 1971.
63. Jaramillo, C.M.E. Ospina, A.E. Arango y P. Mariaka. HBsAg Subtypes at the Saint Vicent's Hospital blood bank, Medellín, Colombia, S.A. H.S.M. Memo II 1178: 1, 1977.
64. Jaramillo, A. C. Hepatitis in Colombia. Comité ad Hoc en Hepatitis - OPS. Río de Janeiro, Mayo 13 -17, 1985.
65. Cavanzo, F. Fassler, S., De Bowen, A., Cadena, D., Muñoz, J. *Act. Med. Col.* 7(39), 1982.
66. Adam, E, Hollinger, F. B., Melnick, J. L. , A. Dueñas, Rawls, W.E. Type B hepatitis Antigen and antibody among Prostitutes And Nuns. A Study of Possible Venereal Transmission. *J. infec. Dis.* 129(3):317-321, 1974.
67. Jaramillo, A. C., Velásquez, L. S., Barrera, G. Hepatitis B en Nariño Cundinamarca. (Manuscrito en Preparación).
68. Arroyave, M. L., M. R. Echeverry, C. Jaramillo et al. 1985. Infección por el virus de la Hepatitis B (VHB) en el personal de Instituciones de Salud de Medellín Colombia. *Medicina UPB.* 4 (1): 17 29, 1985.
69. Jaramillo C., M. Plazas y T. Giraldo. Hepatitis viral B, un riesgo en la profesión odontológica: Estudio de un grupo de odontólogos de Medellín, Colombia, 1984. *Acta Clínica Odontológica.* 7(13 14): 34 38, 1984.
70. Jaramillo T., A.C.; A. Figueroa; A. Rubio; L.S. Velásquez; N. Restrepo. Conocimientos, actitudes, creencias y prácticas de riesgo para VHB y VHC, En Personal de Salud del ISS Colombia, 1995. *Tribuna Médica.* 93(8), 1996.
71. Muñoz, J. J., Rodríguez, H., Jaramillo, A. C. Conocimientos, actitudes, creencias y prácticas de riesgo para VHB y VHC, en Personal de Salud de 3 Hospitales de Cundinamarca, Colombia, S. Am. (Manuscrito en Preparación).
72. Jaramillo, A. C. *Boletín SLH.* 001/79, 2000.
73. Rojas, J. H. *Biomédica,* 20:283-8, 2000.
74. Jaramillo, C., Melo, J. C., Pabón, A.R., Plata, A. I., Sussmann, O. Hepatocarcinoma y Hepatitis B: Estudio Retrospectivo en el ICC y Clínica San Pedro Claver del ISS, 1975 -1995.