

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Implicación del virus de hepatitis B en hepatopatías crónicas

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Rafael Bueno Vallejos

DIRECTOR:

Rafael Fernández Muñoz

Madrid, 2015

TP
1984

027

Rafael Bueno Vallejos



* 5 3 0 9 8 6 3 0 3 2 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-007170-2

IMPLICACION DEL VIRUS DE HEPATITIS B EN HEPATOPATIAS CRONICAS

Departamento de Microbiología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1984



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº

27/84

© Rafael Bueno Vallejos
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1984
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-3293-1984

TESIS

IMPLICACION DEL VIRUS DE HEPATITIS B EN HEPATOPATIAS CRONICAS

por

RAFAEL BUENO VALLEJOS

Licenciado en Medicina y Cirugía

presentada en la

FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

para la obtención del

GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA

dirigida por el Dr. RAFAEL FERNANDEZ MUÑOZ

UNIDAD DE VIROLOGIA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA DEL CENTRO
ESPECIAL RAMON Y CAJAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE LA SALUD

Madrid, mayo de 1982



Ministerio de Sanidad y Seguridad Social
Instituto Nacional de la Salud
Centro Especial "Ramón y Cajal"

Carreters de Colmenar. Km. 9.100
MADRID-34

RAFAEL FERNANDEZ MUÑOZ, DOCTOR EN FARMACIA Y LICENCIADO EN CIENCIAS QUIMICAS, JEFE DE SECCION Y DE LA UNIDAD DE VIROLOGIA (SERVICIO DE MICROBIOLOGIA) DEL CENTRO ESPECIAL "RAMON Y CAJAL" DEL INSTITUTO NACIONAL DE LA SALUD, COLABORADOR DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS EN EXCEDENCIA VOLUNTARIA

C E R T I F I C O:

Que D. RAFAEL BUENO VALLEJOS, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado en la Unidad de Virología de este Centro y bajo mi dirección, el trabajo que constituye el objeto de esta memoria para obtener el grado de Doctor en Medicina, con título "IMPLICACION DEL VIRUS DE HEPATITIS B EN HEPATOPATIAS CRONICAS".

Y para que conste a efectos de presentación de esta Tesis Doctoral, firmo la presente en Madrid a cuatro de mayo de mil novecientos ochenta y dos.

Rafael Muñoz

Expreso mi agradecimiento

**Al Dr. Rafael Fernández Muñoz, Colaborador del C.S.I.C. y -
Jefe de la Unidad de Virología del Servicio de Microbiología
del Centro Especial Ramón y Cajal de Madrid, por sus inapre-
ciables enseñanzas y por la dirección de esta Tesis Doctoral.**

**Al Dr. Jorge Tamarit Torres, Catedrático de Fisiología de -
la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Ma-
dríd, por aceptar gentilmente la tutoría de esta Tesis y -
por sus valiosos consejos y revisión crítica.**

**Al Dr. Fernando Baquero Mochales, Jefe del Servicio de Micro-
biología del Centro Especial Ramón y Cajal.**

**Al Dr. Víctor Moreira por su amigable y estupenda coopera-
ción al desarrollo de esta Tesis.**

**A la Dra. Concepción Zamora, de Banco de Sangre del Centro
Ramón y Cajal, por su colaboración en proporcionar las mues-
tras de donantes voluntarios de sangre para este estudio.**

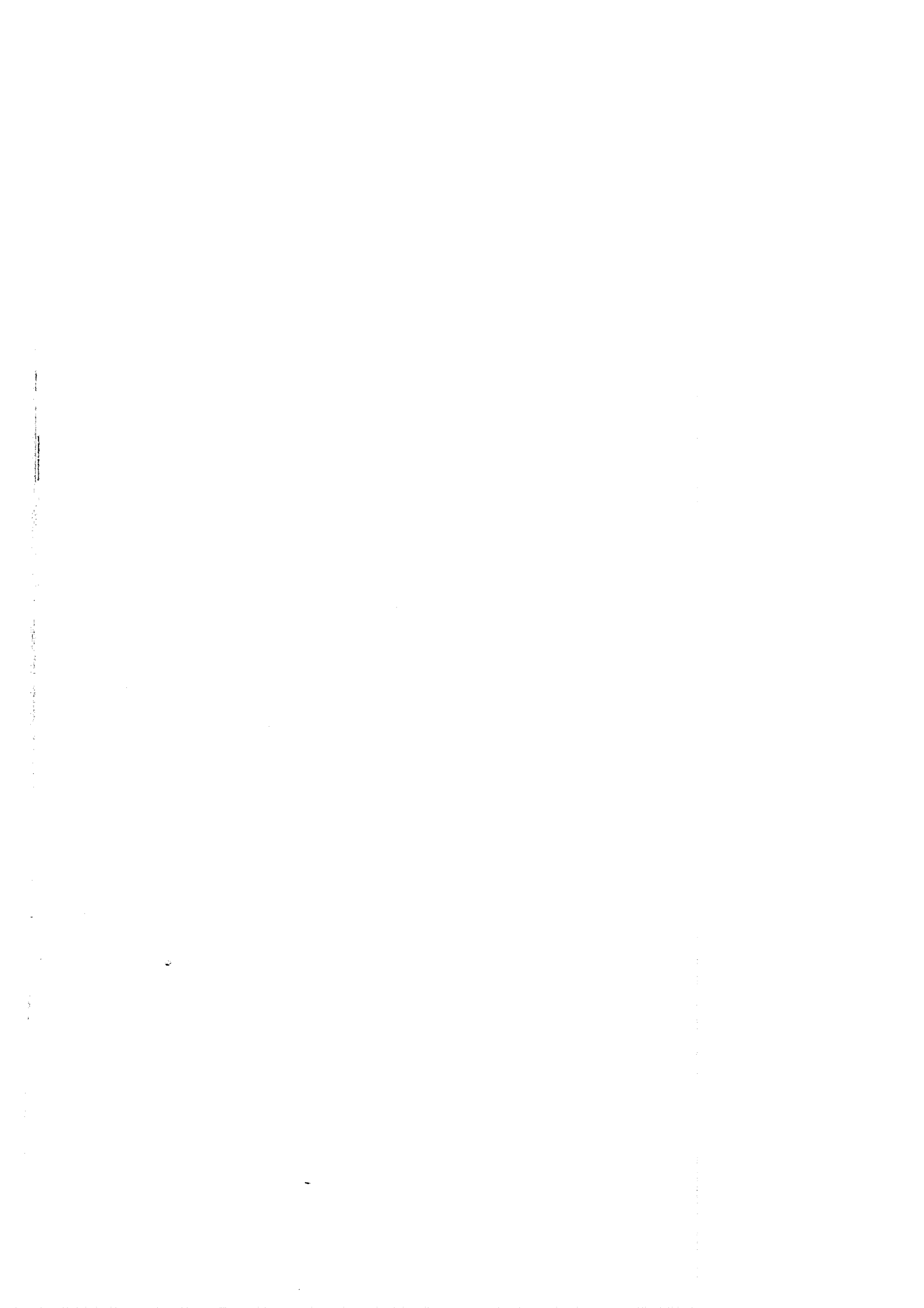
**A todos mis compañeros de la Unidad de Virología, por su -
amistad y ayuda.**

INDICE

	<u>Página</u>
<u>INTRODUCCION</u>	1
I.- Perspectiva histórica	1
II.- Naturaleza del virus de la Hepatitis B ...	5
III.- Epidemiología de la Hepatitis B	11
IV.- Infecciones agudas y crónicas por el virus de Hepatitis B: expresión de antígenos vi- rales y respuesta inmune	12
V.- Objetivo de este trabajo	31
<u>MATERIAL Y METODOS</u>	33
I.- Poblaciones estudiadas. Caracterización ..	34
II.- Procedimientos para determinación en los - sueros, de los antígenos y anticuerpos del virus de la Hepatitis B	35
a).- Detección de HBsAg	35
b).- Detección de anti-HBc	37
c).- Detección de anti-HBs	38
d).- Detección de HBeAg	38
e).- Detección de anti-HBe	38

	<u>Página</u>
III.- Análisis estadístico (metodología)	48
<u>RESULTADOS</u>	50
A.- POBLACIONES ESTUDIADAS	51
I.- Poblaciones control	52
1.- Donantes voluntarios de sangre	52
2.- Pacientes en hemodiálisis renal crónica	56
II.- Poblaciones con hepatopatía crónica	58
1.- Hepatitis crónica	58
- Hepatitis crónica persistente	59
- Hepatitis crónica septal	62
- Hepatitis crónica activa	65
- Conjunto de todas las hepatitis - crónicas	68
2.- Hepatopatía alcohólica	72
- Hepatopatía alcohólica (excluidas las cirrosis)	73
- Cirrosis alcohólica	76
- Conjunto de todas las hepatopatías alcohólicas	79
3.- Cirrosis	83
- Cirrosis micronodular.....	84

	<u>Página</u>
- Cirrosis macronodular	87
- Cirrosis mixta	90
- Cirrosis biliar primaria	93
- Cirrosis no clasificadas en los grupos anteriores	96
- Conjunto de todas las cirrosis.	99
4.- Carcinoma hepatocelular	103
- Carcinoma hepatocelular con cirrosis	104
- Carcinoma hepatocelular sin cirrosis	107
- Conjunto de todos los hepatocarcinomas	110
5.- Resumen del conjunto de las hepatopatías crónicas	114
III.- Portadores asintomáticos	118
B.- ANALISIS ESTADISTICO	121
<u>DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES</u>	146
<u>RESUMEN</u>	156
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	159



INTRODUCCION.

INTRODUCCION

I.- Perspectiva histórica.

Aunque las primeras descripciones de ictericia epidémica - (probablemente causadas por el virus de hepatitis A) se remontan a autores griegos y romanos ya en el siglo V antes de Cristo, la primera descripción hoy conocida de hepatitis transmitida parenteralmente por suero (probablemente causada por virus de hepatitis B), no se produce hasta 1.885 cuando Lürman (1) describe un brote de hepatitis en los trabajadores de los astilleros de Bremen que fueron vacunados contra viruela con linfa glicerinada - de origen humano.

La introducción a gran escala del uso de jeringas y agujas para la inyección de salvarsan desde 1.909, fué seguida por frecuentes brotes de ictericia en clínicas venéreas, así como tras inyecciones de insulina en diabéticos. Sin embargo, hasta 1943 no se sugirió, por Mac Callum, que la transmisión de estas hepatitis pudiera ser causada por el uso de agujas y jeringas insuficientemente esterilizadas.

La etiología viral de la hepatitis se estableció finalmente durante la Segunda Guerra Mundial, mediante la transmisión de hepatitis a humanos en Alemania, Inglaterra y Estados Unidos de América.

Al ir aumentando los casos reportados, la hepatitis comenzó

a ser reconocida como problema médico y social de importancia creciente; lo anterior, junto a los reiterados fracasos en cultivar el virus sobre células u órganos, así como para encontrar animales de experimentación susceptibles, motivó que en la década de 1.940, diversos grupos de trabajo (Voegt, 1.942; Mac Callum, 1944; etc.) iniciaran estudios de transmisión sobre voluntarios humanos. Estos estudios aportaron pruebas indirectas acerca de la etiología viral de las hepatitis tipo A y tipo B, resaltando las diferencias epidemiológicas e inmunológicas entre ambas.

Se demostró que la hepatitis A tenía un periodo de incubación relativamente corto (2 a 6 semanas) en comparación al tipo B (2 a 6 meses). La primera solía transmitirse por la vía oro-fecal y la segunda por la vía parenteral. Se demostró inmunidad homóloga pero no heteróloga entre los tipos A y B.

La distinción entre ambos tipos de hepatitis, A y B, se basaba tan solo en los hallazgos clínicos y epidemiológicos, siendo frecuentes las confusiones diagnósticas entre ambas (demostrado por la investigación ulterior de sueros de archivo). Fue por esta época que proliferaron los sinónimos para designar a la hepatitis viral B, llegando a existir más de veinte denominaciones -- distintas: hepatitis sérica, hepatitis de larga incubación, etc.

Entre las décadas de 1.950 y primeros de la siguiente, se realizaron nuevos estudios de transmisión humana, destacando los de la Willowbrook de Krugman et al (2), que confirmaron y ampliaron las observaciones ya publicadas sobre evolución, epidemiología y prevención de la hepatitis vírica de los tipos A y B.

El descubrimiento del Antígeno Australia (3) y su asociación con transmisión de hepatitis, ha marcado un hito en el estudio de la hepatitis viral a partir del cual se ha iniciado un desarrollo exponencial en el conocimiento del virus de hepatitis B.

En 1.963, mientras estudiaba sueros de pacientes politransfundidos a fin de determinar si desarrollaban anticuerpos frente a proteínas séricas polimórficas, Blumberg observó que, entre el suero de un hemofílico y el de un aborigen australiano, se formaba una única banda de precipitación en la inmunodifusión bidimensional de Ouchterlony (3). Ulteriores estudios revelaron que el factor antigénico del suero del aborigen australiano (antígeno "Australia") era una lipoproteína, pero diferente de las lipoproteínas beta del suero normal, pues contenía mucho menos lípido y aparecía raramente en la población general. Blumberg y colaboradores consideraron que tal antígeno era un ejemplo de carácter adquirido y en consecuencia se inició su búsqueda serológica entre diversas poblaciones de todas partes del mundo (4). Estos estudios demostraron una curiosa distribución del antígeno Australia: era raro en las poblaciones de Estados Unidos y Europa (del 0.1 al 1%) y más frecuente en los trópicos y sudeste asiático (1 al 20%).

Durante 1.966 y 1.967, Blumberg y colaboradores observaron en sueros de un paciente con síndrome de Down y un auxiliar de su laboratorio, la aparición de antígeno Australia coincidiendo con la manifestación de hepatitis (5). En 1.968 Prince (6), usando métodos similares a los empleados por Blumberg, detectó un antígeno que denominó SH (serum hepatitis) en el suero de pacientes durante el período de incubación o fases tempranas de hepati

tis postransfusionales. Pronto se evidenció la identidad entre el antígeno Australia , el antígeno SH y el agente productor de hepatitis MS-2 de Krugman y colaboradores (7).

Además de en los pacientes con hepatitis viral, se encontró que, el antígeno Australia era también muy frecuente en enfermos con leucemia (10-15%) (8), enfermedad de Hodgkin (13%), síndrome de Down recluidos en instituciones (30%) y lepra lepromatosa - (9.4%) entre otros.

La demostración de que el antígeno Australia se asociaba netamente con la hepatitis viral, fué seguida de una avalancha de informes que potenciaron el rápido acúmulo de nuevos conocimientos. Ya en la década de los 70 se logró la transmisión de los virus de la hepatitis A y B a primates no humanos (9), que junto a la visualización de ambos por microscopía electrónica y aplicación de específicas y sensibles técnicas serológicas, hicieron posible la identificación específica de estos virus y delimitar claramente, no solo la epidemiología de las hepatitis tipo A y tipo B, sino revelar también la existencia de otros virus (no A-no B), que así mismo se asocian con la clásica hepatitis vírica.

A fin de unificar la terminología del virus de la hepatitis B con sus correspondientes antígenos y anticuerpos, el Comité de Expertos de la OMS en Hepatitis Vírica propuso en su Informe Técnico nº 602 (1.977), las siguientes abreviaturas:

HBV Virus de la hepatitis B. Virus de doble cubierta de 42 m μ , conocido originalmente con el nombre de partícula de Dane.

- HBsAg Antígeno superficial de la hepatitis B. Antígeno de la hepatitis B que se encuentra en la superficie del virus y sobre las partículas esféricas libres (de 22 nm) y las partículas tubulares.
- HBcAg Antígeno central de la hepatitis B. Antígeno de la hepatitis B que se encuentra en la parte central del virus.
- HBeAg Antígeno e, estrechamente asociado a la infección por hepatitis B.
- anti-HBs ... Anticuerpo contra el antígeno superficial de la hepatitis B.
- anti-HBc ... Anticuerpo contra el antígeno central de la hepatitis B.
- anti-HBe ... Anticuerpo contra el antígeno e.

II.- Naturaleza del virus de la Hepatitis B

El virus de la Hepatitis B humana se sabe hoy que pertenece a una familia de virus que infecta naturalmente a distintas especies de mamíferos y aves. Así recientemente se han encontrado virus de similar morfología (proteína y estructura del genoma) en marmotas, ardillas y patos (10, 11 y 12). Estos virus tienen una estructura distinta de las otras familias de virus descritas hoy y se ha propuesto el nombre de Hepadnavirus (W.S. Robinson in - the 1981 International Symposium on Viral Hepatitis. Nueva York. Abril 1.981).

En la sangre de un paciente en fase aguda de infección por virus de Hepatitis B, se observan al microscopio electrónico las siguientes estructuras (ver figura 1):

- Partículas cuasi esféricas de 15 a 25 nm de diámetro sin estructura apreciable por tinción negativa.
- Partículas alargadas de 15 a 25 nm de diámetro y de hasta 200 nm de longitud.
- Partículas esféricas con cubierta y nucleocápsida interna de 42 nm de diámetro, que puede presentar un centro denso o vacío y denominadas partículas Dane.

Las partículas esféricas y tubulares de diámetro medio 20 nm están constituidas de lípido y proteína, análogamente a la cubierta de las partículas Dane y no se ha detectado en ellas ácido nucleico. Presentan determinantes antigénicos (HBsAg) comunes con las partículas Dane y constituyen la mayor parte del Antígeno -- Australia que se detecta en el suero. Así, mientras que el número de partículas Dane en portadores oscila en torno a 10^5 partículas por ml. (pudiendo oscilar en algunos desde 10^3 hasta 10^8 partículas por ml.), el número de partículas 20 nm es normalmente de 10^3 a 10^8 veces mayor que el de partículas Dane.

El antígeno de superficie HBsAg, muestra una considerable heterogeneidad en determinantes antigénicos, habiéndose establecido la existencia de un determinante común de grupo "a" y dos pares de determinantes que se excluyen mutuamente denominados d/y y w/r (13). Así se encuentran los cuatro subtipos adw, adr, ayw y ayr. Hoy se conocen variantes relativas a los determinantes -

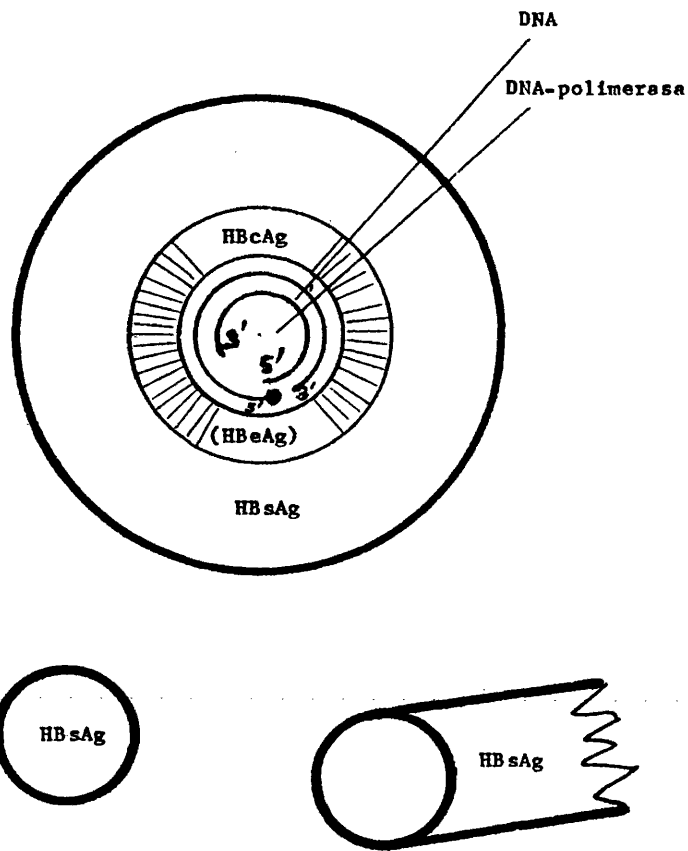


Figura 1.- Diagrama del virus de hepatitis B (HBV)

w y r (14). Estas variaciones antigénicas se deben mayoritariamente a cambios en la secuencia del DNA que producen variaciones en la estructura primaria de las proteínas constituyentes del HBsAg (13).

Existen diferencias geográficas en la distribución de los distintos subtipos, y no se ha encontrado hasta el presente asociación entre ellos y los diversos cursos clínicos de infección por HBV.

La cubierta del virus de Hepatitis B está constituida mayoritariamente por proteína y aproximadamente un 30% en peso de lípidos (mayoritariamente fosfolípidos y colesterol). El componente proteico está constituido predominantemente por una proteína de peso molecular 23.000 daltons, una glicoproteína de peso molecular 29.500 daltons asociada a aquella y otras proteínas minoritarias de pesos moleculares 72.000 y 32.000 más albúmina humana. En la cubierta se encuentra la antigenicidad HBsAg (Antígeno Australia).

La nucleocápsida, de 27 nm de diámetro, está constituida mayoritariamente por una proteína de peso molecular 19.000 daltons y manifiesta una actividad antigénica HBcAg distinta de HBsAg.

El tratamiento de las nucleocápsidas obtenidas de hígado o partículas Dane de suero, con detergentes y agentes reductores, destruyen la antigenicidad HBcAg y provocan la aparición de HBeAg (15). Así mismo, del tratamiento de nucleocápsidas (cores) con proteasas, resulta la aparición de péptidos con actividad antigénica HBe.

El DNA se compone de una banda de 3.200 bases en la que se

detecta una interrupción y de otra banda complementaria más corta de longitud variable. El extremo 5' de la banda larga se encuentra bloqueado, probablemente por una proteína. Dentro de la nucleocápsida (core) se detecta una actividad enzimática DNA polimerasa en dógena, que in vitro completa la banda más corta de DNA usando como molde la banda larga. Esta reacción permite detectar partículas de Dane en sueros de pacientes. Así mismo se detecta una actividad enzimática proteína-kinasa que in vitro fosforila la proteína componente principal de la nucleocápsida, sin que se conozca hoy que función biológica pueda tener.

Las proteínas mayoritarias de la nucleocápsida (19.000 daltons) y de la cubierta están codificadas en el DNA encapsidado en las partículas de Dane y han podido ser sintetizadas en bacterias a partir de este DNA (16, 17 y 18).

En 1.972 Magnus y Epsmark (19) describieron una familia compleja de proteínas solubles en sueros de pacientes HBsAg positivos, a la que denominaron HBeAg, con antigenicidad distinta de HBsAg. Mediante inmunodifusión cruzada se han identificado al menos tres determinantes HBe/1, 2 y 3, de los cuales HBe/1 está presente en todos los portadores de HBeAg. HBe/3 se detecta especialmente con una replicación más activa de las partículas virales de HBV. HBeAg se encuentra también en el suero asociado a inmunoglobulinas.

El antígeno de nucleocápsida, HBcAg, se ha detectado en núcleos de hepatocitos de pacientes y animales de experimentación infectados y no se ha detectado hasta el presente libre en el suero. El antígeno de superficie, HBsAg, se localiza mayoritariamente en el

citoplasma de hepatocitos. Se detectan células que expresan solo HBcAg, otras solo HBsAg y una minoría que expresan ambos en su núcleo y citoplasma (20).

En el núcleo de algunos hepatocitos infectados por virus de Hepatitis B se ha detectado un antígeno denominado delta (21) y que posiblemente es un virus defectivo que necesita del HBV para su replicación (Rizetto et al. (1.981). International Symposium on Viral Hepatitis).

Todavía no ha podido obtenerse una confirmación directa de la infectividad de la partícula de Dane, debido en gran medida a la falta de un sistema de cultivo de células en el que pueda propagarse el virus. Sin embargo, existen indicaciones muy sólidas para considerar que al menos una proporción de estas partículas de 42 nm constituyen la partícula viral infectiva del virus de Hepatitis B; estas indicaciones son:

- 1).- Su estructura, con una molécula de DNA (ácido desoxirribonucleico) de secuencia homogénea que codifica por péptidos y se transcribe en RNA (ácido ribonucleico) en los tejidos infectados; su DNA polimerasa endógena y la estructura de la nucleocápsida (core) que se asemeja a -- otras cápsidas virales icosaédricas y el ser la única estructura que contiene ácido nucleico.
- 2).- Su tamaño asimilable con el del agente causante de Hepatitis B en pruebas de ultrafiltración.
- 3).- Su concentración en el suero se correlaciona positivamente con la infectividad de los sueros y concentrados

enriquecidos en partículas de 42 nm muestran ser más infectivos.

- 4).- Su antígeno de cubierta, HBsAg, induce anticuerpos protectores (anti-HBs).

III.- Epidemiología de la Hepatitis B

Existe un enorme reservorio de virus de Hepatitis B en la población de portadores crónicos del virus con infección activa persistente, que se evalúa en cerca de 200 millones de personas. Esta población constituye un porcentaje de incidencia que oscila entre 0.1% en Europa del Norte y Norte América al 20% de la población total en algunas zonas tropicales (4). A los portadores se añaden como fuente de infección los pacientes en fase aguda de hepatitis.

Como vehículo de transmisión originalmente se encontró la sangre y productos derivados, tanto en transfusiones como en trazas de la misma a través de jeringas, agujas y otros instrumentos no esterilizados suficientemente. Hoy se sabe que hay sangre de alta infectividad, de la que un volumen de menos de un microlitro puede infectar a un receptor susceptible.

Con las técnicas de alta sensibilidad para detección de antígenos virales hoy disponibles, se ha detectado HBsAg no solo en sangre de portadores, sino también en otros fluidos orgánicos - (22): saliva, semen, lágrimas, leche, fluido amniótico. Aún no se puede evaluar con precisión en que cuantía estos fluidos contribuyen significativamente en la transmisión de la Hepatitis B.

Existen indicaciones epidemiológicas de que puede transmitirse por vía venérea. Así mismo se ha detectado HBsAg en el tubo digestivo de insectos hematófagos (mosquitos, chinches), aunque no se ha de mostrado hasta hoy que haya multiplicación activa del virus en los mismos.

En hijos de madres portadoras del virus se encuentra una considerable proporción de infecciones perinatales, probablemente -- producidas durante el parto, sin que haya actualmente pruebas de infección intrauterina durante el embarazo (23). La frecuencia de infección en recién nacidos varía considerablemente en los distintos grupos étnicos, siendo particularmente alta en población de raza china, con una probabilidad de hasta el 65% de adquirir la infección perinatal (24). Estas diferencias parece que sean debi das al distinto contenido en partículas infectivas de la sangre de las portadoras de los distintos grupos. Así aquellas madres - portadoras HBeAg positivas, de cualquier grupo étnico, transmiten con similar frecuencia el virus de Hepatitis B a sus hijos recién nacidos, mientras que las que manifiestan anti-HBe lo transmiten con baja frecuencia. Estas infecciones tempranas, con un alto porcentaje de persistencia, parecen ser importantes en la determinación del número de portadores de las distintas poblaciones (23, - 24).

IV.- Infecciones agudas y crónicas por el virus de hepatitis B:
expresión de antígenos virales y respuesta inmune.

La infección por el virus de hepatitis B puede resultar en una variedad de síndromes: hepatitis aguda seguida de recupera-- ción, hepatitis fulminante, hepatitis crónica activa que con fre

cuencia desemboca en cirrosis, hepatitis crónica persistente o un estado portador asintomático.

El cuadro clínico de la hepatitis aguda muestra grandes variaciones. La enfermedad suele ser más benigna y de curso más breve en niños que en adultos; en ambos grupos, la ictericia puede ser nula, evanescente, o puede durar semanas. Se desconoce la proporción entre casos ictericos y no ictericos; en los adultos se ha estimado que es por lo menos de 1:1, probablemente mayor en los niños. El curso de la enfermedad suele separarse en dos periodos: preictérico e icterico, aunque no es raro que la ictericia sea el síntoma con que debuta la enfermedad.

Si clínicamente la hepatitis B puede ser muy parecida a la hepatitis A, histológicamente son indistinguibles.

Quizá lo más interesante, al tratar de la hepatitis B aguda - aquí, sea bosquejar la pauta diagnóstica a seguir. En concreto esbozaremos la empleada por nosotros en la Unidad de Virología del Centro Ramón y Cajal.

A la hora de establecer en firme el diagnóstico de hepatitis B aguda, existen dos ideas fundamentales que es de importancia considerar:

- a).- En todo episodio de hepatitis aguda se han de tener siempre presentes las diversas y posibles etiologías.
- b).- La expresión serológica de la hepatitis aguda B es compleja, dinámica y secuencial. Si ello no se valora de forma integrada, se corre peligro de cometer errores diagnósticos.

Respecto de a) se han de valorar cuidadosamente la clínica y los factores epidemiológicos, los cuales orientarán las preferencias en el diagnóstico diferencial. A menudo este se ha de hacer con:

- Virus de la hepatitis A (HAV) ... Mediante detección de IgM específica (25 y 26)
- Citomegalovirus (CMV) Mediante fijación de complemento y aislamiento en cultivos celulares
- Epstein Barr (EBV) Mediante el test de Paul - Bunnell modificación de Davidsohn.
- Coxiella burnetii (Fiebre Q) Mediante fijación de complemento.
- Otros virus productores de hepatitis (rubeola, herpes simple, etc.) en los que el diagnóstico diferencial se plantea más raramente.
- Virus de la hepatitis noA-noB .. por exclusión de todos los demás.

Respecto de b) se ha de tener presente la secuencia evolutiva (ver figura 2) a nivel serológico de los distintos marcadores del HBV, los cuales se investigan mediante radioinmunoensayo de alta especificidad y sensibilidad.

El HBsAg aparece en la sangre alrededor de seis semanas después de la infección, varias semanas antes de los síntomas y desaparece aproximadamente hacia los tres meses. Su persistencia - por más de seis meses implica un estado de portador que a menudo

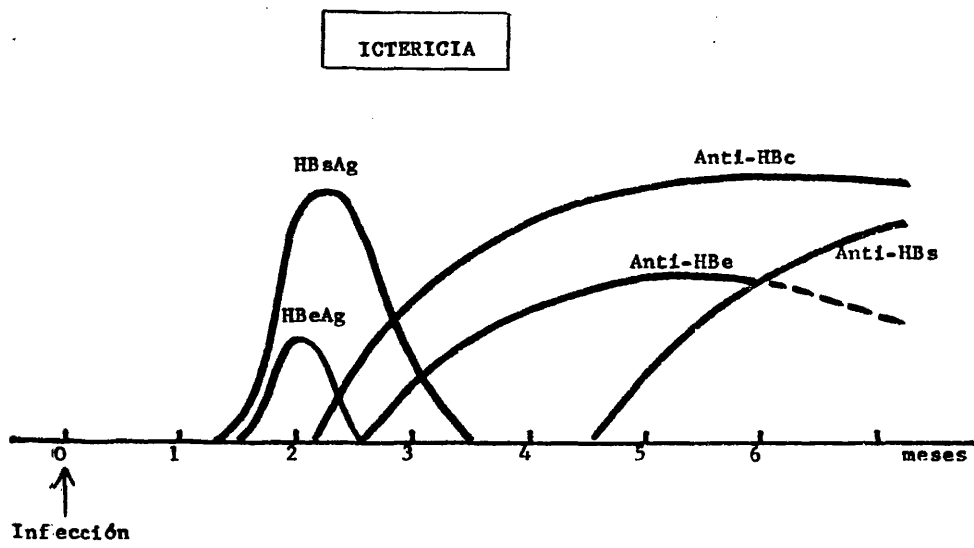


Figura 2.- Serología de la infección por el virus de hepatitis B.

se sigue del desarrollo de una hepatitis crónica (28 , 22). El titulo de HBsAg decrece gradualmente hasta desaparecer, pero si permanece elevado por más de seis semanas, a menudo es indicio de paso a la cronicidad (29). El hallazgo del HBsAg en un suero es indicativo de infección activa por el HBV, ya sea aguda o crónica. Su precocidad el aparecer es en parte proporcional al inóculo y está en relación con la vía de infección, apareciendo mucho antes si es parenteral que si es oral. A veces es posible detectarlo, por radioinmunoensayo, tan pronto como en seis días después de exposición parenteral. El anti-HBs aparece más tarde, alrededor de tres meses después del inicio de los síntomas y siempre, en general, una vez desaparecido el HBsAg (hay casos, por ejemplo en hepatis B fulminante, en que puede observarse aparición de anti-HBs durante la fase aguda; así mismo es común el detectar complejos inmunes de tipo HBsAg-anti HBs durante la fase aguda de la hepatitis B (30)). A veces su aparición se retrasa por meses e incluso un 10-15% de pacientes con hepatitis aguda B nunca desarrollan anticuerpos. Los niveles de anti-HBs son persistentes, raramente elevados y confieren inmunidad. En caso de reinfección, los niveles residuales de anti-HBs muestran, una a dos semanas después de la exposición, una subida espectacular (respuesta secundaria o --anamnésica), en tanto que los niveles de anti-HBc permanecen congtantes (caso de estar este presente).

El anticuerpo al core de la hepatitis B (anti-HBc) ha sido el marcador más extensamente estudiado durante los últimos años y uno de los que promete ser de más utilidad, en especial el anti-HBc de la clase IgM (31, 32, 33,34). Con muy pocas excepciones el anti-HBc está presente en la fase aguda, a veces incluso antes de que aparezcan los síntomas. Permanece medible durante muchos

años, quizá toda la vida (29). En estudios epidemiológicos, el anti-HBc se ha mostrado como el mejor marcador para evaluar la prevalencia de infección por HBV. Investigado el anti-HBc en diversas poblaciones, se identificaron de un 2 a un 4% más de casos de infección previa por HBV, que cuando solo se investigó el anti-HBs. La desaparición del anti-HBc con persistencia del anti-HBs es una situación rara pero que puede ocurrir. Lo usual en los estudios epidemiológicos es encontrar ambos anticuerpos.

En la mayoría de los casos el anti-HBc de la clase IgM es el primer anticuerpo en aparecer, a la misma vez que los síntomas o incluso un poco antes. En general persiste unos meses, hasta un año. La desaparición del anti-HBc.IgM puede ser el más fidedigno indicador para reconocer el aclaramiento del HBV, mientras que su persistencia parece asociarse con replicación viral continuada y paso a la cronicidad. En general, durante las fases aguda y convalesciente de una hepatitis B, los títulos de IgM de anti-HBc suelen ser altos, en tanto que, en las hepatitis crónica persistente y activa, suelen ser mucho más bajos, aunque la elevación del título no se correlaciona con la severidad de la enfermedad.

En 1.978 Hoofnagle y colaboradores (35) demostraron que las sangres con un título alto de anti-HBc como único marcador de infección previa por HBV (HBsAg, anti-HBs, HBeAg y anti-HBe eran todos indetectables), podían ser infecciosas si se usaban para transfusiones.

El HBeAg aparece alrededor de una semana después que los síntomas y en general no dura más allá de dos semanas, desapareciendo antes que el HBsAg. Un título alto de HBeAg o bien la persistencia del mismo por más de 6-8 semanas (aún a título no demasia

do alto) es indicio de probable evolución a cronicidad (36). Su persistencia implica la existencia de replicación viral activa y la gran mayoría de sueros, con títulos medios o altos de HBeAg, también presentan actividad DNA-polimerasa y en consecuencia partículas de Dane completas, demostrables por microscopía electrónica. La sangre de tales pacientes debe ser considerada como altamente infecciosa.

La desaparición del HBeAg y aparición de los correspondientes anticuerpos anti-HBe, es en general indicio de buen pronóstico, - aun cuando no garantiza completa del aclaramiento del HBV. El anti-HBe suele permanecer detectable durante bastantes meses mediante radioinmunoensayo.

Es importante considerar que los fluidos corporales conteniendo HBsAg no necesariamente son infecciosos y, la presencia de marcadores nucleares (HBeAg y DNA-polimerasa) son en este sentido muy significativos, indicando con su presencia persistencia de la infecciosidad.

Visto ya la evolución serológica de los distintos marcadores del HBV y considerada su significación diagnóstica y pronóstica, estamos en condiciones de entrar a describir la pauta diagnóstica seguida por nosotros para filiar la hepatitis B aguda.

Consideremos un esquema del episodio "típico" de hepatitis B aguda autolimitada, que podría ser como sigue:

Marcadores \ Secuencias evolutivas	I II III IV V VI VII							VIII
	HBsAg	-	+	+	+	+	-	
HBeAg	-	-	+	+	-	-	-	-
anti-HBc	-	-	-	+	+	+	+	+
anti-HBe	-	-	-	-	+	+	+	-
anti-HBs	-	-	-	-	-	-	+	+

	↑ Infección	↑ Aparición de los síntomas	
└──────────┘		└──────────┘ └──────────┘ └──────────┘	
PERIODO DE INCUBACION	FASE AGUDA	CONVALENCIA	Patrón serológico residual y perdurable

En las secuencias I, II, III: de ordinario no se plantea ningún problema diagnóstico, pues aún no hay clínica. Tan solo cabe aquí el hallazgo fortuito.

En IV: se puede establecer ya un diagnóstico inicial de infección activa por el HBV a partir del HBsAg (+). Después hay que hacer el diagnóstico diferencial entre infección aguda o estado portador; si se dispone de un suero de archivo se podrá demostrar seroconversión al HBsAg, HBeAg o anti-HBc, caso de tratarse de un episodio agudo; si no hay suero de archivo, como es lo usual será

necesario investigar una nueva sangre tomada varios meses después (dos a tres) y en la que se buscará:

- Desaparición del HBsAg o disminución de su título.
- Desaparición del HBeAg y aparición de anti-HBe
- Aumento del título de anti-HBc

En V: emplear mismos criterios que en IV.

En VI: nos encontramos en el llamado "efecto ventana", en -- donde ya no se detecta HBsAg y aún tampoco el anti-HBs. Basar el diagnóstico en la búsqueda de anti-HBc y anti-HBe y volver a in-- vestigar más adelante buscando la aparición de anti-HBs.

En VII, VIII: el único diagnóstico que se puede establecer - es el de infección pasada, pero ya no se puede categorizar acerca de la etiología del episodio agudo de referencia.

Refiriendonos ahora a la inmunopatología de la hepatitis B, cabe reseñar que en la patogénesis del daño de las células hepáticas probablemente intervienen los siguientes mecanismos:

En primer lugar, la existencia de portadores asintomáticos del virus de HBV, expresando considerable HBsAg en hepatocitos, y de pacientes inmunosuprimidos expresando en hígado HBcAg, sin mostrar en ambos casos daño celular hepático significativo, indí ca que HBV no ejerce un efecto citopático directo.

Los mecanismos que conducen a la necrosis celular y a la - erradicación del virus no se conocen bien aún, suponiéndose que una respuesta inmune-celular y humoral, actuando conjuntamente,

inciden sobre uno o varios antígenos diana expresados en la superficie de la célula infectada.

Estos antígenos diana, existe indicación de que sean virales y celulares. Entre los virales el candidato más probable es HBsAg, que se expresa en la membrana celular y que podría desencadenar - inmunidad celular contra las células que lo llevan. HBcAg, HBeAg y antígeno asociado a las partículas Dane son candidatos menos -- probables para este efecto. Una pérdida de tolerancia hacia antígenos celulares, tales como LSP (Liver specific membrane protein) podrían también desencadenar, junto con los antígenos virales, - un ataque inmune celular hacia los hepatocitos infectados, principalmente por linfocitos T.

Inducción de la síntesis de moléculas reguladoras de la inmu nidad como RIF (Rosette inhibitum factor) podrían afectar la relación entre las subpoblaciones de los linfocitos T y linfocitos B, afectando la tolerancia de antígenos celulares como LSP (37).

Entre los mecanismos que podrían responsabilizar el que una infección por HBV evolucione a resolución o hacia cronicidad, se han postulado entre otros, la parada de la expresión del genoma de HBV que llevaría a la normalización en la biosíntesis hepática de las moléculas inmunoreguladoras.

Otro mecanismo podría ser la liberación de moléculas inmunoreguladoras LEx (liver Extract) como consecuencia del daño hepatocelular, inhibiendo la citotoxicidad espontánea mediada por cé lulas y la citotoxicidad inducida por mitógenos, frenando así el daño celular y explicando la distribución focal del mismo (38).

A su vez puede existir un mecanismo de patogenicidad por complejo inmune con respecto a las manifestaciones extrahepáticas de la hepatitis B: artritis, dermatitis, glomerulonefritis, vasculitis.

Aunque existe una plétora de información respecto a la patogenicidad de HBV, hasta que no se conozca la biología de este virus y se desarrolle un sistema autólogo de células susceptibles, no se podrá establecer definitivamente cuales son los mecanismos de patogenicidad de este virus.

Revisando brevemente los distintos estadios de afectación hepática y su correlato con la infección persistente por el HBV, - cabe comenzar por el estado de portador asintomático de HBsAg. Se ha postulado (39) que la sensibilidad del estado de portador se hereda como rasgo autosómico recesivo, pero es incierto el grado en que influyen los factores genéticos por un lado y ambientales por otro (40). De forma análoga requieren nuevos estudios, su asociación con el grupo sanguíneo A y determinadas especificidades HLA.

La edad es un factor importante en el desarrollo del estado portador. En países tropicales, a menudo aparece a una edad temprana, debido ello a la frecuencia de la transmisión vertical; - por el contrario, en las comunidades occidentales es raro encontrar portadores en la niñez. El estado portador también es raro en la vejez, presumiblemente a causa de la eliminación espontánea del HBsAg (41).

En todas las comunidades, la frecuencia de portadores varo-

nes es sustancialmente mayor. No se sabe si esto se debe a una mayor posibilidad de infección con el HBV a causa de la forma de vida, o bien se trata de un fenómeno genético relacionado con el sexo. Se ha tratado de explicar este predominio mediante reactividad cruzada entre el HBsAg y un antígeno de tejidos determinado (42), de forma que el varón es tolerante frente al HBsAg y, por lo tanto, presenta una defensa inmunológica alterada en tal sentido.

Además de la edad, el sexo y los factores genéticos, el estado de portador tiende a desarrollarse más en aquellos individuos que presentan mayor riesgo de exposición (ej. politransfundidos, drogadictos, personal sanitario, etc.) y en los que presentan algún tipo de déficit inmunológico (ej. pacientes oncológicos, síndrome de Down, lepra lepromatosa, etc.)

Aunque la denominación de portador "asintomático" ya implica una ausencia de síntomas clínicos, a otros niveles, como el bioquímico e histológico pueden encontrarse signos de afectación hepática que puede variar desde la completa normalidad hasta la cirrosis. La alteración histológica, cuando la hay, suele aparecer en portadores con pruebas de función hepática alterada aún cuando también lo puede hacer en aquellos con función hepática normal. Lo contrario, es decir, portador con biopsia hepática normal en presencia de alteración de la función hepática, suele ser excepcional.

Los portadores con HBeAg detectable y elevada actividad de la DNA-polimerasa, presentan elevada infectividad y están más predispuestos a presentar lesiones activas que los que tienen anti-HBe; no obstante, esta correlación ha de ser aplicada con prudencia, necesitándose de nuevos estudios que maten lo ante-

dicho, especialmente a la luz de la significación de los subtipos del HBeAg (Villarejos y col.).

Después de infección aguda por el HBV, con o sin ictericia, los síntomas clínicos y alteraciones bioquímicas pueden persistir durante meses o años, estableciéndose un estado de hepatitis crónica persistente (HCP) o hepatitis crónica activa (HCA), cuya distinción esencial se realiza en base al examen histológico del material de la biopsia hepática. Aunque en muchos casos la etiología es distinta del HBV o bien es desconocida, existe una asociación entre la HCP y la hepatitis B (43), habiéndose observado una más alta frecuencia de casos allí donde abundan más los portadores de HBV; así mismo es más frecuente entre el personal sanitario en estrecho contacto con sangre o derivados.

El diagnóstico puede ser hecho a continuación del episodio agudo (lo más frecuente después de una infección anictérica), constatándose como en el paciente no ocurre, pasados unos meses, la eliminación del HBsAg. En un estudio de seguimiento realizado por Chadwick y cols. (44) los títulos séricos de HBsAg fueron superiores en los pacientes con HCP en comparación con los de HCA.

Los pacientes con HCP consecuente a hepatitis B, suelen ser en general HBsAg positivos, aunque a veces el único marcador detectable es el anti-HBc. El HBeAg es en general negativo, a diferencia de las HCA en donde con frecuencia es positivo. El HBsAg puede ser demostrado histológicamente en el hígado.

Parece razonable considerar a la HCP por el HBV como un proceso benigno. No obstante, en algunos casos (quizá los mal diagnosticados en un comienzo) puede ocurrir progresión a HCA.

En la hepatitis crónica activa (HCA) han sido identificados dos tipos fundamentales: uno que se asocia a la persistencia de la infección por HBV (HCA con HBsAg positivo) y otro grupo, asociado a un resultado negativo para el HBV (HCA con HBsAg negativo) y en el cual, un 15% de los pacientes presentan positivo el fenómeno - LE, lo cual ha motivado sea denominado como "lupoide".

El porcentaje de positividad del HBsAg en las HCA presenta una sorprendente variación geográfica, desde muy baja en Gran Bretaña (Sherlock y cols. (1.970): 8% para n=74. Holdstock y cols. (1979): 6% para n=31), hasta muy alta en el litoral mediterráneo, Oriente Medio; Africa y Sudeste asiático (40% Grecia, 51% Italia, 35% -- Francia, 81% Irak, etc.). es probable que estas diferencias estén en relación con la prevalencia del estado portador aún cuando tam poco pueden ser descartados otros factores, como los genéticos o inmunológicos.

Respecto del sexo, en la mayor parte de las series existentes predominan los varones. La edad de aparición suele ser en general por encima de los 30 años, aun cuando puede hacerlo a cualquier - edad, incluso en la infancia.

En los pacientes con HCA, el título de HBsAg es significativamente inferior que en los enfermos con HCP o en los portadores (45).

Mayor valor, como índice pronóstico, se ha concedido a la -- persistencia del HBeAg. En la serie de Nielsen (46) se detectó el HBeAg en el 58% de los pacientes con HCA positiva al HBsAg. De forma similar en la casuística de Eleftheriou (47) el 44% - presentaron HBeAg y solo dos pacientes de 79 presentaron anti-HBe.

Otros autores (48) inciden en la necesidad de ser cautos al asimilar la persistencia de HBeAg con la existencia de una patología crónica agresiva o en que los anti-HBe presuponen atemperación -- del proceso.

Los anticuerpos al core (anti-HBc) sean, quizá, un índice más sensible de la replicación del HBV que el propio HBsAg, ya que -- persisten a veces en el suero, después de la desaparición del - HBsAg. Su detección en el suero de los pacientes con HCA negativa frente al HBsAg de diversas series, varía grandemente, oscilando entre 0% y 40% (49,50).

En ocasiones, el HBsAg y HBcAg son demostrables en el hígado del enfermo con HCA, aún cuando se encuentran distribuidos al - azar por todo el órgano y predominan en las áreas donde la necrosis es mínima. El HBsAg puede ser demostrado por medio de la tinción con orceína, y tanto el HBcAg como el HBsAg, por las técni--cas de inmunoperoxidasa e inmunofluorescencia.

El pronóstico de la HCA positiva al HBsAg es muy variable, - dependiendo en gran medida del modo de presentación. Aquellos casos que lo hacen con las complicaciones de hepatitis crónica activa o de cirrosis, tales como ascitis, varices sangrantes o insuficiencia hepática, tienen mal pronóstico. Los que han sido des cubiertos incidentalmente o que han sido seguidos desde un episoodio de hepatitis vírica aguda, tienen pronóstico incierto, aunque bueno, ya que en algunas ocasiones el periodo de latencia de desarrollo de una cirrosis clínica es largo.

El alcohol constituye en muchos países la causa más importante de hepatopatía crónica, constituyendo el grupo específicamen-

te denominado como hepatopatía alcohólica. Para la mayoría de los autores existe unanimidad en aceptar que, de aquellos pacientes - con un consumo diario de alcohol superior a 160 g., alrededor de un 70% desarrollarán una hepatopatía alcohólica (aproximadamente 30% desarrollarán cirrosis y un 40% lesión hepatocelular no cirrútica: esteatosis, fibrosis o hepatitis alcohólica), en tanto que el 30% restante, a pesar de continuar con el hábito alcohólico, - no tendrán manifestaciones clínicas, analíticas ni histológicas indicativas de daño hepático. La razón por la que aproximadamente un 30% de pacientes alcohólicos, a pesar de hallarse sometidos al mismo tipo de noxa lesiva y bajo idénticas condiciones clínicas, no desarrollan enfermedad hepática alguna, no ha podido ser explicada satisfactoriamente.

De entre las diversas hipótesis que se han invocado para explicar tan diferente respuesta, una de ellas sugiere que la presencia de un daño hepático preexistente pudiera modificar la capacidad lesiva del alcohol sobre el hígado, favoreciendo las alteraciones orgánicas del mismo y el daño preexistente estaría, - según esta hipótesis, responsabilizado por la infección previa - con el virus de hepatitis B; así pues, el HBV y el hábito alcohólico actuarían conjuntamente como agentes etiológicos responsables de la lesión hepática. Diversos estudios han aportado que - el HBV se da con más frecuencia en la población alcohólica. Así en Francia existe una exposición al HBV del 31% en bebedores importantes asintomáticos, del 55% en cirrosis hepática alcohólica y del 22% en hepatocarcinoma primario, en comparación con un 5% en donantes de sangre (51).

La cirrosis hepática es enfermedad extraordinariamente fre-

cuenta. En países como el nuestro, la etiología más comunmente reconocida es la alcohólica, pero ocurre que después de descartada la etiología alcohólica, así como otras causas identificables (autoimmune, cardíaca, hemocromatosis, etc.), queda aún un porcentaje cercano a la tercera parte de los casos, en el que en gran medida se reconoce como factor etiológico la infección previa por el HBV.

Ya desde 1.940 el estudio histológico hepático mediante series de biopsias hepáticas con aguja ha demostrado la transición de la hepatitis vírica aguda a la hepatitis crónica y ulterior cirrosis (52). El descubrimiento del HBsAg proporcionó sólidas bases para establecer la asociación entre cirrosis e infección por el HBV.

El antecedente de cirrosis más frecuentemente encontrado es el de hepatitis crónica activa (53). La cirrosis adopta en general uno de los siguientes tipos de presentación:

- 1.- Inmediatamente después de una agresión aguda por virus de la hepatitis.
- 2.- Asintomática, descubierta accidentalmente.
- 3.- Como estadio evolutivo de una HCA.
- 4.- Como una o más complicaciones del estadio final de la cirrosis.
- 5.- Como cáncer hepático primitivo.

La cirrosis posthepatítica de tipo B parece afectar más a me

nudo a varones que a hembras, en proporción 7/3 (54).

La edad media de diagnóstico, en una serie de 59 pacientes - con cirrosis asociada al HBsAg, fué de 42 años (54).

El estudio de la prevalencia de marcadores del HBV en el conjunto general de los pacientes cirróticos, ya a nivel de infección activa (HBsAg o anti-HBc solo), infección pasada (anti-HBs solo o con anti-HBc) o infección global, es algo aún no bien establecido. En una serie de Zuckerman (1.972) constituida por 30 pacientes con cirrosis criptogenética, se detectó HBsAg por radioinmunoensayo - en el 20%. En las cirrosis HBsAg positivas, el título de antígeno de superficie tiende a ser bajo. En las series estudiadas de cirrosis con HBsAg positivo, el HBeAg se encuentra en proporción importante; en un estudio comparativo el 31% de las cirrosis con -- HBsAg positivo presentaron HBeAg detectable, frente al 58% en las HCA (55).

La cirrosis posthepatítica con HBsAg positivo parece seguir - un curso relativamente benigno. Las muertes tempranas son raras y en general se deben a insuficiencia hepática. Más tarde el principal problema es el carcinoma hepatocelular.

En el caso de la cirrosis biliar primaria (CBP), su posible relación con la hepatitis B ha sido extensamente estudiada. En un principio se reportó que la mayoría de los pacientes examinados presentaban positividad al HBsAg, pero tales hallazgos no fueron confirmados después sobre la base de pruebas más sensibles. En la actualidad, la opinión más generalizada es que el HBV no desempeña ningún papel etiológico en la CBP.

A partir de 1.970 se han realizado estudios epidemiológicos y experimentales que indican una asociación entre infección por HBV y el carcinoma hepatocelular (CHC) (56)

El cáncer de hígado primario es el cáncer más frecuente , especialmente en Africa tropical y Lejano Oriente. Estudios epidemiológicos han mostrado una correspondencia entre áreas de frecuencia alta en hepatocarcinoma primario y áreas donde el HBV es hiperendémico.

Además de esta correlación geográfica, los siguientes hechos sugieren una implicación de la infección por HBV en la etiología del hepatocarcinoma primario (PHC):

- El factor de riesgo para el desarrollo del PHC es relativamente constante para varones portadores crónicos de HBsAg, con una frecuencia anual de muertes por PHC, referida a esta población, de 250 a 500 por 100.000. Dado que se estima en cerca de 200 millones el número de portadores de HBsAg en el mundo, se producen entre ellos de 350.000 a 400.000 casos de muerte al año por PHC.
- La infección por HBV precede o acompaña al desarrollo de PHC (57).
- Antígenos y HBV DNA están presentes en el hígado tumoral, el DNA integrado en el genoma celular (58), con producción de HBsAg por algunas líneas de células hepáticas de tumores humanos.
- Un virus con estructura similar al HBV descubierto en marmotas

produce cirrosis y hepatocarcinoma en estos animales (10, 11 12).

Así pues, existe indicación muy fuerte de que el virus de hepatitis B puede ser un factor o cofactor en la producción de hepatocarcinoma primario en humanos.

V.- Objetivo de este trabajo.

Hemos visto que HBV se ha manifestado como un agente etiológico importante de hepatitis agudas en humanos. Así mismo, se sabe que en una proporción significativa de casos, la infección evoluciona a cronicidad, sugiriendo que el HBV puede jugar un papel -- causal en distintas hepatopatías crónicas en humanos.

Sin embargo no es solo el virus de hepatitis B el que produce infecciones crónicas y así, alguno(s) componente del todavía no bien caracterizado grupo de virus "noA-noB" , aparte de hepatitis agudas, produce también infecciones crónicas (59, 60, 61, 62).

Es importante el responder en que medida el virus de hepatitis B está asociado a las distintas hepatopatías crónicas en el hombre, dado que son varios los virus, aparte otros agentes (autoinmunes, aflatoxina, etc.), que en principio pueden causarlas.

Dado que todavía no ha habido tiempo de proceder a un seguimiento de suficiente duración para responder a esta pregunta, es obligado el estudiar posibles infecciones por este virus en las poblaciones de hepatopatías crónicas.

Este trabajo pretende el contribuir a responder a esa pregunta mediante el estudio de los distintos antígenos y anticuerpos -

para las distintas proteínas virales presentes en sueros de pacientes diagnosticados, clínica e histológicamente, de diversas hepatopatías. Especialmente se trata de distinguir entre infecciones pasadas, antiguas o recientes, e infecciones en curso. Así mismo en los casos de infecciones persistentes activas tratamos de correlacionar el grado de actividad de la replicación viral con los distintos cuadros mediante la determinación del sistema HBeAg/anti-HBe.

82

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL Y METODOS

I.- Poblaciones estudiadas. Caracterización.

II.- Procedimientos para determinación en los sueros, de los antígenos y anticuerpos del virus de hepatitis B:

- a).- Detección de Antígeno de superficie (HBsAg)
- b).- Detección de Anticuerpos al core (Anti-HBc)
- c).- Detección de Anticuerpos de superficie (Anti-HBs)
- d).- Detección de Antígeno "e" (HBeAg)
- e).- Detección de Anti-e (Anti-HBe)

III.- Análisis estadístico (metodología).

I.- POBLACIONES ESTUDIADAS. CARACTERIZACION.

Las poblaciones estudiadas fueron básicamente de dos tipos: por un lado pacientes afectos de hepatopatía crónica y por otro, ciertas poblaciones (donantes voluntarios de sangre y pacientes en hemodiálisis renal crónica) que jugaron el rol de poblaciones de control.

Los pacientes con hepatopatía crónica, que en número de 423 fueron incorporados al estudio procedían de distintos servicios del Centro Especial Ramón y Cajal, principalmente de Gastroenterología. Para su inclusión se exigió como requisito previo que su hepatopatía estuviera filiada clínica e histológicamente, es to último a través de biopsia hepática o necropsia. De los 423 casos de hepatopatía crónica estudiados: 100 eran hepatitis crónicas, 84 hepatopatías alcohólicas, 182 cirrosis y 57 hepatocarcinomas.

Respecto de las poblaciones control, fueron estudiados 190 donantes voluntarios de sangre y 147 pacientes en hemodiálisis renal crónica, procedentes respectivamente del Banco de Sangre y de la Unidad de Diálisis, del Centro Especial Ramón y Cajal.

Sueros de pacientes y controles.

Para la investigación de los pacientes con hepatopatía y - controles, objeto de este trabajo, se partió de sangre coagulada colectada en tubo estéril, de la cual se decantó el suero - previa centrifugación. Cuando los sueros no fueron estudiados

de inmediato se conservaron en congelación a -20° C. Las sucesivas pruebas en los sueros (estos siempre por duplicado), fueron programadas de forma tal que fuera mínimo el número de descongelaciones necesarias y dando prioridad, en el orden de ejecución, a la determinación de los marcadores más lábiles, cual es el caso del Anti-HBe. En buena parte de los casos, los sueros fueron alicuotados, por ejemplo en la serie de los hepatocarcinomas, a fin de preservar en lo posible la integridad de los marcadores.

II.- PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINACION EN LOS SUEROS DE LOS ANTI GENOS Y ANTICUERPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B.

Este trabajo se realizó mediante la aplicación de radioinmunoensayos en fase sólida, comercializados por la casa ABBOTT y siguiendo las instrucciones de los fabricantes con ligeras modificaciones introducidas por nosotros. En dichos radioinmunoensayos, la fase sólida consiste en bolitas de poliestireno revestidas de antígeno o anticuerpo, según los casos, y que, en un momento dado de la secuencia de reacciones serán alojadas en los pocillos de placas de reacción. Para separar la radiactividad no ligada y demás excedentes de reacción se recurre a lavar las bolitas en dichos pocillos mediante la ayuda de un sistema semiautomático de lavado. Los cálculos de los distintos radioinmunoensayos y criterios de validación, se esquematizan al final del capítulo (ver TABLA 8). En el caso del HBsAg se usó también una técnica distinta al radioinmunoensayo: la hemaglutinación pasiva.

a).- DETECCION DEL HBsAg

Se usó el radioinmunoensayo AUSRIA II-125 basado en el

"principio del sandwich". Bolitas de poliestireno revestidas de Anti-HBs se incuban con el suero problema; si existe HBsAg, éste se fijará al anticuerpo de la bolita. Finalmente se añade Anti-HBs(I¹²⁵) que cerrará el sandwich, formandose un complejo del tipo:

(BOLA)Anti-HBs --- HBsAg --- Anti-HBs(I¹²⁵)

cuya emisión (cpm) al ser medida en un contador para radiaciones gamma, permitirá, dentro de ciertos límites, cuantificar el HBsAg, ya que a mayor concentración de HBsAg en el suero problema, mayor nivel de cpm (ver TABLA 1), (63).

Los sueros HBsAg positivos por AUSRIA II-125 (técnica de tercera generación y la de mayor sensibilidad de entre las conocidas actualmente para la detección de este antígeno), fueron confirmados como tales positivos por un procedimiento diferente al radioinmunoanálisis, una técnica de hemaglutinación pasiva de segunda generación: AUSCELL, de la casa ABBOTT. En ella se incuban glóbulos rojos humanos sensibilizados con Anti-HBs, con el suero problema del paciente. Ante la presencia de suficiente cantidad de HBsAg en el suero problema, el anticuerpo que reviste a las células sensibilizadas forma un complejo que ocasiona aglutinación visible (ver TABLA 2).

En aquellos casos de sueros HBsAg positivos bajos o dudosos, fué necesario recurrir al radioinmunoensayo AUSRIA II-125 CONFIRMACION (ABBOTT), que en esencia consiste en un RIA análogo al AUSTIA II-125 pero con la diferencia de que se incluye una prueba de neutralización por anti-HBs. Después de incubar (al igual que AUSRIA) las bolitas revestidas de Anti-HBs (aquí se usan cua

tro por cada paciente) con el suero problema, se tratan dos de ellas con suero Anti-HBs (+) (SOLUCION A) y las otras dos con suero Anti-HBs (-) (SOLUCION B); si el HBsAg estaba presente en el suero problema, se formará un SANDWICH NO RADIATIVO sobre las bolitas tratadas con la solución A:

(BOLA)Anti-HBs --- HBsAg --- Anti-HBs

y no se completará el sandwich en las tratadas con la solución B. Finalmente se añade Anti-HBs(I^{125}), con lo que, si el suero a confirmar era verdaderamente HBsAg (+), se acabará formando sandwich sobre las cuatro bolitas: NO RADIATIVO en las dos primeras (ya formado en el paso anterior) y RADIATIVO en las dos segundas:

(BOLA)Anti-HBs --- HBsAg --- Anti-HBs(I^{125})

según la diferencia de cpm entre ambos pares de bolitas, el suero problema será confirmado o no como HBsAg (+) (ver TABLA 3).

b).- DETECCION DE Anti-HBc

Se realiza merced a un RIA de competición: GORAB en el cual se incuban conjuntamente bolitas de poliestireno revestidas de HBcAg, el suero problema y un reactivo yodado (Anti-HBc(I^{125})). El Anti-HBc del suero problema y el reactivo Anti-HBc(I^{125}) compiten entre sí por fijarse al antígeno HBc adsorbido a las bolitas, resultando finalmente que la radiactividad (cpm) será menor al aumentar el nivel de Anti-HBc en el problema (Ver TABLA 4).

c).- DETECCION DE Anti-HBs

Se lleva a cabo mediante el RIA AUSAB basado en el - "principio de sandwich", en el que bolitas de poliestireno revestidas de HBsAg se incuban con el suero problema. Si el suero investigado tiene Anti-HBs, permitirá cerrar el sandwich al añadir HBsAg(I¹²⁵) en un paso ulterior:

(BOLA) HBsAg --- Anti-HBs --- HBsAg(I¹²⁵)

resultando, después de incubar y lavar, que a más concentración de Anti-HBs en el suero problema, mayor nivel de radiactividad (ver TABLA 5).

d).- DETECCION DE HBeAg

Se investiga con un RIA tipo "sandwich": "ABBOTT-HBe", en el que bolitas revestidas de Anti-HBe se incuban junto con el suero a estudiar. Si existe HBeAg en el suero problema, se formará un complejo que será punto de partida, al añadir Anti-HBe(I¹²⁵) en ulterior paso, para formar el sandwich:

(BOLA)Anti-HBe --- HBeAg --- Anti-HBe(I¹²⁵)

La radiactividad final (cpm) guarda proporcionalidad con la concentración de HBeAg en el suero problema (ver TABLA 6).

e).- DETECCION DE Anti-HBe

Se realiza con el mismo radioinmunoensayo comercial descrito anteriormente: (ABBOTT-HBe), pero que aquí se hace median

te la incorporación del antígeno HBe, funcionando según el "principio de competencia".

Las bolitas revestidas de Anti-HBe son incubadas con el suero problema en presencia de una cantidad prefijada de HBeAg. Ambos, el Anti-HBe de las bolitas y el Anti-HBe del suero problema (si lo hubiere), compiten por el HBeAg, resultando que: la cantidad de HBeAg específicamente unido a la bolita decrecerá al aumentar la concentración de Anti-HBe existente en el suero problema. En un segundo paso, se evidencia el HBeAg ligado mediante incubación con el reactivo Anti-HBe(I¹²⁵). Resultará finalmente que, -- dentro de ciertos límites, a mayor cantidad de Anti-HBe en el suero problema, menor número de cpm arrojarán las bolitas (ver TABLA 7).

TABLA 1

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA
EN EL RIA PARA HBsAg (AUSRIA II-125)

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (POGILLOS)		
	----- Controles (+)	Controles (-)	Muestras
Bolita revestida de Anti-HBs	1	1	1
SUERO CONTROL (+)	0.2 ml	-	-
SUERO CONTROL (-)	-	0.2 ml	-
SUERO PROBLEMA	-	-	0.2 ml

MEZCLAR E INCUBAR A TEMP.AMB. POR 12 a 20 HORAS

LAVAR 4 VECES

Anti-HBs(¹²⁵ I)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
-----------------------------------	--------	--------	--------

MEZCLAR E INCUBAR A 45° C POR UNA HORA

LAVAR 4 VECES

TRANSFERIR LAS BOLITAS A TUBOS Y CONTAR

VALIDACION DEL RIA Y CALCULOS

TABLA 2

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA EN
HEMAGLUTINACION PASIVA PARA HB_sAg (AUSCELL)

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (POCILLOS)		
	Control (+)	Control (-)	Huestras
BUFFER	25 µl	25 µl	25 µl
SUERO CONTROL (+) ..	2 µl	-	-
SUERO PROBLEMA	-	-	2 µl

MEZCLAR

SUSPENSION DE G.R. .. revestidos de Anti-HBs	25 µl	25 µl	25 µl
---	-------	-------	-------

MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE

LEER PASADA 1 HORA

TABLA 3

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA EN CONFIRMACION DEL RIA PARA HBsAg

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (FOCILLOS)									
	Controles (+) (4 pocillos)				Controles (-) (7 pocillos re- cibiendo todos ellos igual - tratamiento)		Muestras (4 pocillos - por paciente)			
	a	a	b	b			a	a	b	b
BOLITA revestida de Anti-HBs ...	1	1	1	1	(1)		1	1	1	1
SUERO CONTROL (+)	0.2	0.2	0.2	0.2 ml	(-)		-	-	-	-
SUERO CONTROL (-)	-	-	-	-	(0.2 ml)		-	-	-	-
SUERO PROBLEMA ..	-	-	-	-	(-)		0.2	0.2	0.2	0.2 ml
MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 12-20 HORAS										
LAVAR 4 VECES										
SOLUCION A (Anti-HBs) ...	0.2	0.2 ml-	-		(-)		0.2	0.2 ml-	-	
SOLUCION B (Blanco)	-	-	0.2	0.2 ml	(0.2 ml)		-	-	0.2	0.2 ml
MEZCLAR E INCUBAR A 45° C POR 1 HORA										
Anti-HBs(I ¹²⁵).	0.2	0.2	0.2	0.2 ml	(0.2 ml)		0.2	0.2	0.2	0.2 ml
MEZCLAR E INCUBAR A 45° C POR 3 HORAS										
LAVAR 4 VECES. TRANSFERIR A TUBOS Y CONTAR.VALIDACION Y CALCULOS										

TABLA 4

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA
EN RIA PARA Anti-HBc (CORAB)

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (POCILLOS)		
	----- Controles (+)	Controles (-)	Muestras
Anti-HBc(1125)	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
SUERO CONTROL (+) ...	0.1 ml	-	-
SUERO CONTROL (-) ...	-	0.1 ml	-
SUERO PROBLEMA	-	-	0.1 ml

MEZCLAR

BOLITA revestida de HBcAg	1	1	1
------------------------------------	---	---	---

MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 18-22 HORAS

LAVAR 4 VEGES

TRANSFERIR A TUBOS Y CONTAR

VALIDACION DEL RIA Y CALCULOS

TABLA 5

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA
EN RIA PARA Anti-HBs (AUSAB)

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (PUCILLOS)		
	----- Controles (+)	Controles (-)	Muestras
BOLITA revestida de HBsAg	1	1	1
SUERO CONTROL (+) ...	0.2 ml	-	-
SUERO CONTROL (-) ...	-	0.2 ml	-
SUERO PROBLEMA	-	-	0.2 ml
<hr/> MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 16-20 HORAS			
<hr/> LAVAR 4 VECES			
HBsAg(¹²⁵ I)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
<hr/> MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 4 HORAS			
<hr/> LAVAR 4 VECES			
<hr/> TRANSFERIR A TUBOS Y CONTAR			
<hr/> VALIDACION DEL RIA Y CALCULOS			

TABLA 6

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA EN
RIA PARA HBeAg (ABBOTT-HBe)

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (POCILLOS)		
	----- Controles (+)	Controles (-)	Muestras
SUERO CONTROL (+) ...	0.2 ml	-	-
SUERO CONTROL (-) ...	-	0.2 ml	-
SUERO PROBLEMA	-	-	0.2 ml
BOLITA revestida de Anti-HBe	1	1	1
MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 18-22 HORAS			
LAVAR 4 VECES			
Anti-HBe(I ¹²⁵)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
MEZCLAR E INCUBAR A 45° C POR 3 HORAS			
LAVAR 4 VECES			
TRANSFERIR A TUBOS Y CONTAR			
VALIDACION DEL RIA Y CALCULOS			

TABLA 7

**REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TECNICA USADA
EN RIA PARA Anti-HBe (ABBOTT-HBe)**

REACTIVOS	PLACA DE REACCION (POCILLOS)		
	----- Controles (+)	Controles (-)	Muestras
REACTIVO NEUTRALIZAN TE (Contiene HBeAg)..	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
SUERO CONTROL (+)	0.1 ml	-	-
SUERO CONTROL (-)	-	0.1 ml	-
SUERO PROBLEMA	-	-	0.1 ml
BOLITA revestida de Anti-HBe	1	1	1
MEZCLAR E INCUBAR A TEMPERATURA AMBIENTE POR 18-22 HORAS			
LAVAR 4 VECES			
Anti-HBe(I125)	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
MEZCLAR E INCUBAR A 45º C POR 3 HORAS			
LAVAR 4 VECES			
TRANSFERIR A TUBOS Y CONTAR			
VALIDACION DEL RIA Y CALCULOS			

TABLA 8

VALIDACION Y CALCULOS EN LOS DIVERSOS RADIOINMUNOENSAYOS
EMPLEADOS PARA ESTUDIO DE LOS MARCADORES DEL VIRUS DE HEPATITIS B

RIA	Nº DE CONTROLES		CRITERIO DE VALIDEZ: EL COCIENTE (R) HA - DE SER MAYOR QUE UN NUMERO DADO	VALOR FINAL (VF)
	(+)	(-)		
HBsAg	3	7	$R = P/N \geq 5$	N . 2,1
Anti-HBc	5	5	$R = N/P > 5$	$(P+N)/2$
Anti-HBs	3	7	$R = P/N \geq 15$	N . 2,1
HBeAg	3	3	$R = P/N \geq 4$	N . 2,1
Anti-HBe	3	3	$R = N/P \geq 4$	$(P+N)/2$

P = Media aritmética de los CONTROLES (+)

N = Media aritmética de los CONTROLES (-)

Serán considerados POSITIVOS todos aquellos sueros, que presen-
tando un duplicado homogéneo, den un cpm medio mayor que el valor
final en los radioinmunoensayos para HBsAg, Anti-HBs, HBeAg y me-
nor que el valor final en Anti-HBc y Anti-HBe.

III.- ANALISIS ESTADISTICO (METODOLOGIA)

Los datos obtenidos en este trabajo, fueron estudiados desde el punto de vista del análisis estadístico, con el objeto de - contrastar la fiabilidad de los mismos y establecer márgenes de - seguridad para los resultados y conclusiones.

Dentro del proceso de inferencia estadística realizado, la metodología empleada se estructuró a tres niveles diferentes y, - a la vez, complementarios:

- a).- Estudio de la proporción (Q) de infectados por el virus de hepatitis B en las diversas poblaciones consideradas (controles y hepatopatías) y establecimiento de los correspondientes intervalos de seguridad a los niveles de confianza del 95 y 99%. Los límites de dichos intervalos se calcularon siempre que ello fué posible en referencia a los límites exactos derivados de la distribución binomial; en su defecto se usó la distribución normal como aproximación de la anterior.
- b).- Contraste de hipótesis, aplicado a cada una de las poblaciones con hepatopatía, mediante la prueba de significación de la χ^2 (chi - cuadrado), a fin de aceptar o rechazar la hipótesis alternativa de que los pacientes con hepatopatía presentan una incidencia significativamente mayor de infecciones por HBV que las poblaciones de referencia. En aquellos casos en que las condiciones de la muestra no permitió la aplicación de la χ^2 , se usó el test de la probabilidad exacta

ta de Fisher.

- c).- Estudio de la homogeneidad, también mediante el test de la χ^2 , en los distintos grupos de poblaciones estudiados.

478

RESULTADOS.

RESULTADOS

A).- POBLACIONES ESTUDIADAS

I.- POBLACIONES CONTROL

- 1.- Donantes voluntarios de sangre
- 2.- Pacientes en hemodiálisis renal crónica

II.- POBLACIONES CON HEPATOPATIA CRONICA

1.- Hepatitis crónica:

- Hepatitis crónica persistente
- Hepatitis crónica septal
- Hepatitis crónica activa
- Conjunto de todas las hepatitis crónicas

2.- Hepatopatía alcohólica:

- Hepatopatía alcohólica (excluidas las cirrosis)
- Cirrosis alcohólicas
- Conjunto de todas las hepatopatías alcohólicas

3.- Cirrosis :

- Cirrosis micronodular
- Cirrosis macronodular
- Cirrosis mixta
- Cirrosis biliar primaria
- Cirrosis no clasificadas como las anteriores
- Conjunto de todas las cirrosis

4.- Carcinoma hepatocelular:

- Carcinoma hepatocelular con cirrosis
- Carcinoma hepatocelular sin cirrosis
- Conjunto de todos los hepatocarcinomas

5.- Resumen de todas las hepatopatías crónicas

III.- PORTADORES ASINTOMATICOS

B).- ANALISIS ESTADISTICO

A.- POBLACIONES ESTUDIADAS.

Los datos expuestos en esta primera parte del capítulo de RESULTADOS, fueron obtenidos a partir del estudio de, fundamentalmente, tres tipos de poblaciones:

- I.- Poblaciones control integradas por sujetos sin hepatopatía (donantes voluntarios de sangre y pacientes en hemodiálisis renal crónica).
- II.- Poblaciones con hepatopatía crónica (hepatitis crónica, hepatopatía alcohólica, cirrosis y carcinoma hepatocelular).
- III.- Un último grupo integrado por portadores asintomáticos de HBsAg.

Los datos de las correspondientes series se presentan tabulados a fin de una mayor comprensión de los mismos y facilitar el establecimiento de las oportunas comparaciones. (En la segunda parte de este capítulo se detalla el análisis estadístico realizado).

POBLACION CONTROL I.- DONANTES VOLUNTARIOS DE SANGRE

Marcadores del HBV en suero

		VALORES ABSOLUTOS (%)				
		Casos con marcador positivo por RIA para :				
CASOS ESTUDIADOS		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV
190	(100.0)	2 (1.1)	5 (2.6)	35 (18.4)	6 (3.2)	48 (25.3)

DONANTES VOLUNTARIOS DE SANGRE

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 25.3 %	19.3 - 32.1	Nivel de confianza del 95%
	17.5 - 34.2	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	24	73	97
	H	24	69	93
		48	142	190

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	20	88	108
	$> \bar{x}$	28	54	82
		48	142	190

Edad media de la población { No infectada (n=142) ... 33.0 años
 Infectada (n= 48) ... 37.6 años
 Total (n=190) ... 34.2 años

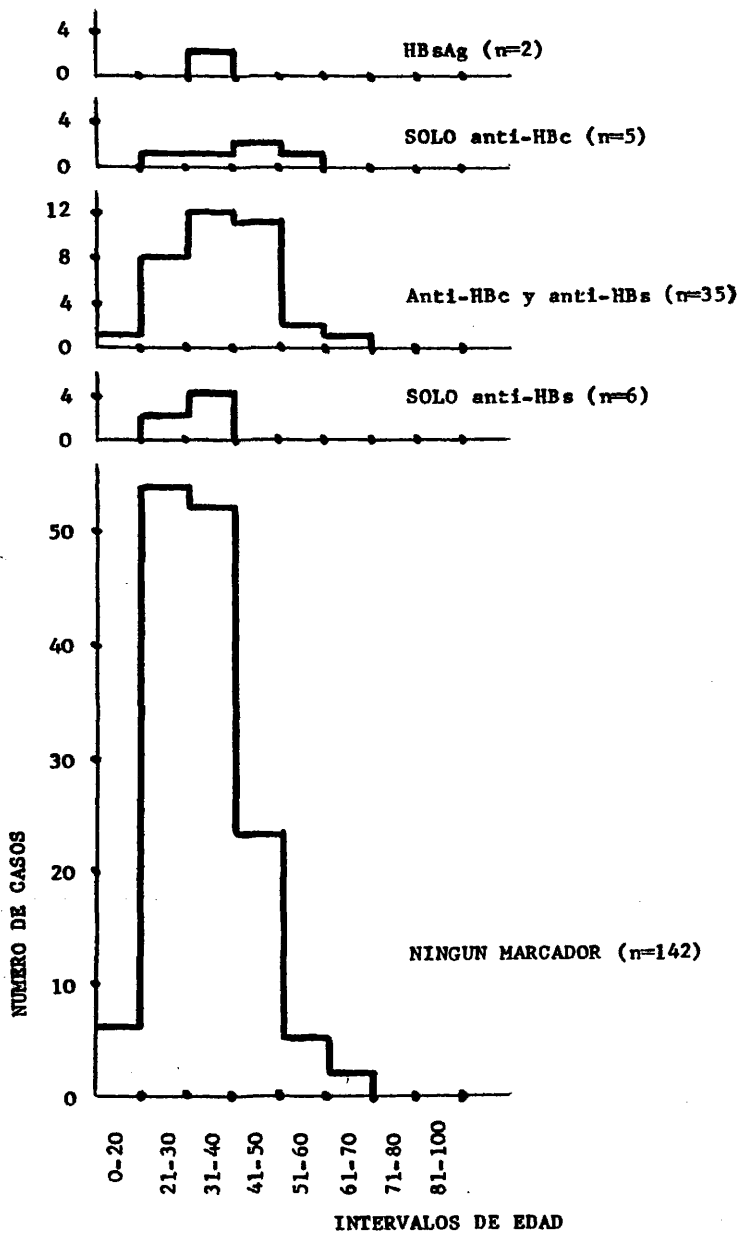
Edad media = \bar{x} = 34.2 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- DONANTES VOLUNTARIOS (n= 190)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20			1		6	7	3.7
21-30		1	8	2	54	65	34.2
31-40	2	1	12	4	52	71	37.4
41-50		2	11		23	36	18.9
51-60		1	2		5	8	4.2
61-70			1		2	3	1.6
71-80							
81-100							
TOTAL	2	5	35	6	142	190	100.0

DONANTES VOLUNTARIOS DE SANGRE (N = 190)

Distribución por edades de los marcadores del HBV (REPRESENTACION GRAFICA)



POBLACION CONTROL II.- PACIENTES EN HEMODIALISIS RENAL CRONICA

Marcadores del HBV en suero

PACIENTES EN HEMODIALISIS RENAL CRONICA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)				
		Casos con marcador positivo por RIA para :				
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV
	147 (100.0)	3 (2.0)	2 (1.4)	25 (17.0)	9 (6.1)	39 (26.5)

PACIENTES EN HEMODIALISIS RENAL CRONICA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN DISTRIBUCION NORMAL

Q = 26.5 %	19.3 - 33.7	Nivel de confianza del 95%
	17.1 - 35.9	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	24	70	94
	H	15	38	53
		39	108	147

C).- Presentación por edades:

Edad media de la población de hemodiálisis
crónica 45 años

HEPATITIS CRONICA

Marcadores del HBV en suero

HISTOLOGIA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)					
		Casos con marcador positivo por RIA para :					
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV	
HCP	20 (100.0)	2 (10.0)	1 (5.0)	11 (55.0)	1 (5.0)	15 (75.0)	
HCS	6 (100.0)	2 (33.3)	1 (16.7)	1 (16.7)	0 (0.0)	4 (66.7)	
HCA	74 (100.0)	17 (23.0)	14 (19.2)	11 (15.1)	4 (5.5)	46 (62.2)	
TOTAL	100 (100.0)	21 (21.0)	16 (16.0)	23 (23.0)	5 (5.0)	65 (65.0)	

HEPATITIS CRONICA PERSISTENTE

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 75.0 %	50.9 - 91.3	Nivel de confianza del 95%
	44.0 - 94.2	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	13	4	17
	H	2	1	3
		15	5	20

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	10	3	13
	$> \bar{x}$	5	2	7
		15	5	20

Edad media = \bar{x} = 33.3 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATITIS CRONICA PERSISTENTE (n = 20)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20		1	4		1	6	30.0
21-30			4		2	6	30.0
31-40			2			2	10.0
41-50	2		1			3	15.0
51-60					2	2	10.0
61-70				1		1	5.0
71-80							
81-100							
TOTAL	2	1	11	1	5	20	100.0

SISTEMA HBeAg / Anti-HBe EN HEPATITIS CRONICA PERSISTENTE (n = 20)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	2 (100.0)	2 (100.0)
SOLO Anti-HBe	1 (100.0)	0 (0.0)
Anti-HBe y Anti-HBs	11 (100.0)	6 (54.5)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	5 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	20 (100.0)	8 (40.0)

HEPATITIS CRONICA SEPTAL

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 66.7 %	22.3 - 95.7	Nivel de confianza del 95%
	14.4 - 98.1	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	3	1	4
	H	1	1	2
		4	2	6

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	2	2	4
	$> \bar{x}$	2	0	2
		4	2	6

Edad media = \bar{x} = 53.5 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATITIS CRONICA SEPTAL (n = 6)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20							
21-30							
31-40	2					2	33.3
41-50							
51-60			1		2	3	50.0
61-70							
71-80		1				1	16.7
81-100							
TOTAL	2	1	1	0	2	6	100.0

SISTEMA HBeAg / Anti-HBe EN HEPATITIS CRONICA SEPTAL (n = 6)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/ anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	2 (100.0)	1 (50.0)
SOLO Anti-HBc	1 (100.0)	0 (0.0)
Anti-HBc y Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBs	0 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	2 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	6 (100.0)	1 (16.7)

HEPATITIS CRONICA ACTIVA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 62.2 %	50.1 - 73.2	Nivel de confianza del 95%
	46.6 - 76.2	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	29	18	47
	H	17	10	27
		46	28	74

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	\bar{x}	21	11	32
	\bar{x}	25	17	42
		46	28	74

Edad media = \bar{x} = 48.8 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATITIS CRONICA ACTIVA (n = 74)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20	2					2	2.7
21-30	2	2				4	5.4
31-40	5		1		7	13	17.6
41-50	5	2	6	2	2	17	23.0
51-60	3	6	4	2	10	25	33.8
61-70		3			7	10	13.5
71-80					2	2	2.7
81-100				1		1	1.3
TOTAL	17	14	11	4	28	74	100.0

SISTEMA HBeAg / Anti-HBe EN HEPATITIS CRONICA ACTIVA (n = 74)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	17 (100.0)	8 (47.0)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	4 (28.6)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	3 (27.3)
SOLO Anti-HBs	4 (100.0)	1 (25.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	0 (0.0)	0 (0.0)
TOTAL	74 (100.0)	16 (21.6)

Conjunto de las HEPATITIS CRONICAS

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 65.0 %	54.8 - 74.3	Nivel de confianza del 95%
	51.7 - 76.8	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	45	23	68
	H	20	12	32
		65	35	100

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	< \bar{x}	33	16	49
	> \bar{x}	32	19	51
		65	35	100

Edad media = \bar{x} = 46.0 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- TOTAL HEPATITIS CRONICAS (n = 100)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20	2	1	4		1	8	8.0
21-30	2	2	4		2	10	10.0
31-40	7		3		7	17	17.0
41-50	7	2	7	2	2	20	20.0
51-60	3	6	5	2	14	30	30.0
61-70		3		1	7	11	11.0
71-80		1			2	3	3.0
81-100		1				1	1.0
TOTAL	21	16	23	5	35	100	100.0

SISTEMA HBeAg / Anti-HBe EN EL CONJUNTO DE LAS HEPATITIS CRONICAS (n = 100)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	21 (100.0)	11 (52.4)
SOLO Anti-HBc	16 (100.0)	4 (25.0)
Anti-HBc y Anti-HBs	23 (100.0)	9 (39.1)
SOLO Anti-HBs	5 (100.0)	1 (20.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	35 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	100 (100.0)	25 (25.0)

HEPATOPATIA ALCOHOLICA

Marcadores del HBV en suero

HISTOLOGIA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)				
		Casos con marcador positivo por RIA para :				
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV
HEPATOPATIA ALCOHOLICA (NO CIRROSIS)	52 (100.0)	0 (0.0)	5 (9.6)	15 (28.8)	1 (1.9)	21 (40.4)
CIRROSIS ALCOHOLICA	32 (100.0)	3 (9.4)	8 (25.0)	9 (28.1)	1 (3.1)	21 (65.6)
TOTAL	84 (100.0)	3 (3.6)	13 (15.5)	24 (28.6)	2 (2.4)	42 (50.0)

HEPATOPATIA ALCOHOLICA (EXCLUIDAS CIRROSIS)

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 40.4 %	27.0 - 54.9	Nivel de confianza del 95%
	23.5 - 59.1	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	18	29	47
	H	3	2	5
		21	31	52

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	13	14	27
	$> \bar{x}$	8	17	25
		21	31	52

Edad media = \bar{x} = 45.6 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATOPATIA ALCOHOLICA (NO CIRROSIS) (n = 52)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20			2		2	4	7.7
21-30			3		4	10	19.2
31-40		3	5	1	14	21	40.4
41-50		1	1		10	12	23.1
51-60		1	4		1	5	9.6
61-70							
71-80							
81-100							
TOTAL	0	5	15	1	31	52	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN HEPATOPATIA ALCOHOLICA (NO CIRROSIS) (n = 52)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBsAg	0 (100.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBc	5 (100.0)	2 (40.0)
Anti-HBc y Anti-HBs	15 (100.0)	6 (40.0)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	1 (100.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	31 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	52 (100.0)	9 (17.3)

CIRROSIS ALCOHOLICA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 65.6 %	46.8 - 81.4	Nivel de confianza del 95%
	41.5 - 85.1	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	16	9	25
	H	5	2	7
		21	11	32

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	< \bar{x}	9	6	15
	> \bar{x}	12	5	17
		21	11	32

Edad media = \bar{x} = 51.1 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIRROSIS ALCOHOLICA (n = 32)

EDAD	HBSAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20			1			1	3.1
21-30			1		2	3	9.4
31-40			2		4	8	25.0
41-50	2		3		4	14	43.7
51-60	1	5	2	1	1	6	18.8
61-70		3					
71-80							
81-100							
TOTAL	3	8	9	1	11	32	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS ALCOHOLICA (n = 32)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/ anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	3 (100.0)	2 (66.7)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	2 (25.0)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	2 (22.2)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	0 (0.0)	0 (0.0)
TOTAL	32 (100.0)	6 (18.7)

TOTAL HEPATOPATIA ALCOHOLICA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 50.0 %	38.9 - 61.1	Nivel de confianza del 95%
	35.7 - 64.3	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	34	38	72
	H	8	4	12
		42	42	84

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	22	20	42
	$> \bar{x}$	20	22	42
		42	42	84

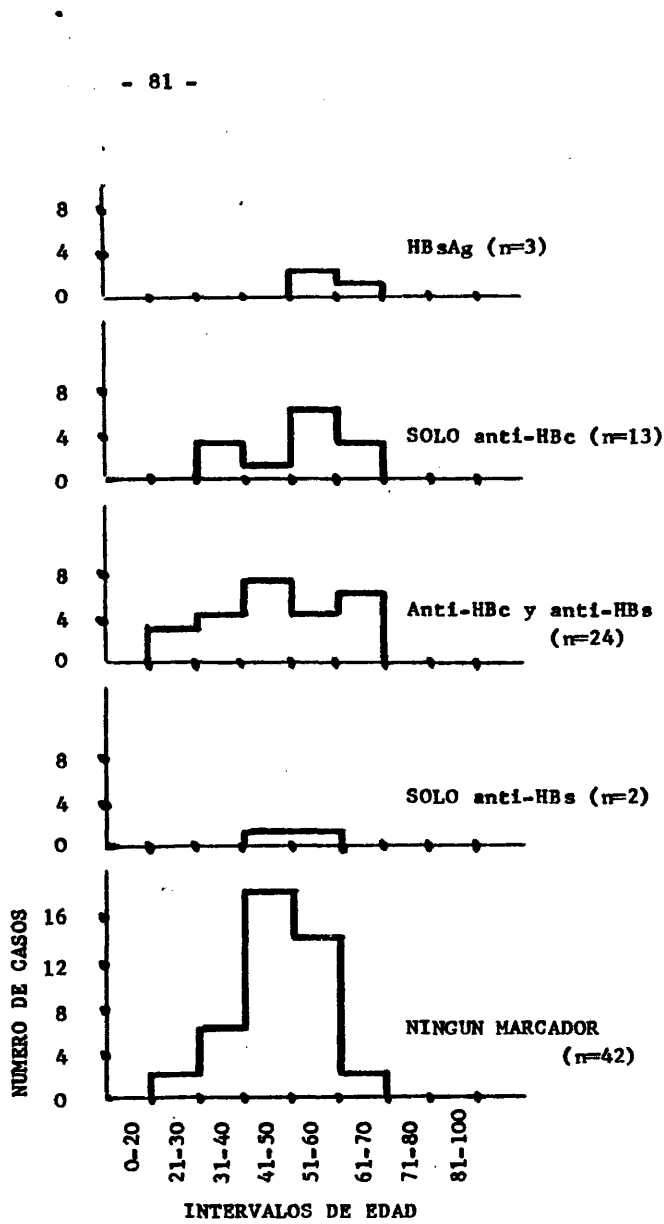
Edad media = \bar{x} = 47.7 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- TOTAL HEPATOPATIA ALCOHOLICA (n = 84)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20			3		2	5	6.0
21-30		3	4		6	13	15.5
31-40			7	1	18	29	34.5
41-50	2	1	4	1	14	26	30.9
51-60	1	6	6		2	11	13.1
61-70		3					
71-80							
81-100							
TOTAL	3	13	24	2	42	84	100.0

TOTAL HEPATOPATIA ALCOHOLICA (N = 84)

Distribución por edades de los marcadores del HBV (REPRESENTACION GRAFICA)



SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CONJUNTO DE LAS HEPATOPATIAS ALCOHOLICAS (n = 84)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	3 (100.0)	2 (66.7)
SOLO Anti-HBe	13 (100.0)	4 (40.8)
Anti-HBe y Anti-HBs	24 (100.0)	8 (33.3)
SOLO Anti-HBs	2 (100.0)	1 (50.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	42 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	84 (100.0)	15 (17.9)

CIRROSIS

Marcadores del HBV en suero

HISTOLOGIA HEPATICA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)					
		Casos con marcador positivo por RIA para:					
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV	
MICRONODULAR	36 (100.0)	2 (5.5)	13 (36.1)	5 (13.9)	1 (2.8)	21 (58.3)	
MACRONODULAR	16 (100.0)	1 (6.3)	2 (12.5)	6 (37.5)	1 (6.2)	10 (62.5)	
MIXTA	60 (100.0)	8 (13.3)	18 (30.0)	16 (26.7)	0 (0.0)	42 (70.0)	
CBP	4 (100.0)	0 (0.0)	1 (25.0)	2 (50.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	
NO CLASIFICADAS EN GRUPOS ANTERIORES	66 (100.0)	6 (9.1)	13 (19.7)	23 (34.8)	2 (3.0)	44 (66.7)	
TOTAL	182 (100.0)	17 (9.3)	47 (25.8)	52 (28.6)	4 (2.2)	120 (65.9)	

GIRROSIS MICRONODULAR

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 58.3 %	40.8 - 74.5	Nivel de confianza del 95%
	35.9 - 78.5	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	18	13	31
	H	3	2	5
		21	15	36

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	12	9	21
	$> \bar{x}$	9	6	15
		21	15	36

Edad media = \bar{x} = 52.8 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIBROSIS MICRONODULAR (n = 36)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20					2	2	5.6
21-30					3	11	30.5
31-40					5	14	38.9
41-50	2	4	2	1	5	9	25.0
51-60		5	3				
61-70		4					
71-80							
81-100							
TOTAL	2	13	5	1	15	36	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS MICRONODULAR (n = 36)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	2 (100.0)	2 (100.0)
SOLO Anti-HBc	13 (100.0)	2 (15.4)
Anti-HBc y Anti-HBs	5 (100.0)	1 (20.0)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARGADOR DE HBV	15 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	36 (100.0)	5 (13.9)

CIRROSIS MACRONODULAR

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 62.5 %	35.4 - 84.8	Nivel de confianza del 95%
	28.7 - 89.1	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	8	3	11
	H	2	3	5
		10	6	16

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	4	3	7
	$> \bar{x}$	6	3	9
		10	6	16

Edad media = \bar{x} = 55.3 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIRROSIS MACRONODULAR (n = 16)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20							
21-30			2			2	12.5
31-40					1	2	12.5
41-50	1		2	1	4	7	43.8
51-60			2		1	5	31.2
61-70		2					
71-80							
81-100							
TOTAL	1	2	6	1	6	16	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS MACRONODULAR (n = 16)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	1 (100.0)	1 (100.0)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	0 (0.0)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBs	0 (0.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	0 (0.0)	0 (0.0)
TOTAL	16 (100.0)	1 (6.3)

CIRROSIS MIXTA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 70.0 %	56.8 - 81.1	Nivel de confianza del 95%
	52.8 - 83.9	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	27	10	37
	H	15	8	23
		42	18	60

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	23	9	32
	$> \bar{x}$	19	9	28
		42	18	60

Edad media = \bar{x} = 57.5 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIRROSIS MIXTA (n = 60)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20			1			1	1.7
21-30					1	2	3.3
31-40	1		4		3	12	20.0
41-50	4	1	7		6	22	36.7
51-60	2	7	4		5	17	28.3
61-70	1	7			3	6	10.0
71-80		3					
81-100							
TOTAL	8	18	16	0	18	60	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS MIXTA (n = 60)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	8 (100.0)	5 (62.5)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	2 (11.1)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	6 (37.5)
SOLO Anti-HBs	0 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	18 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	60 (100.0)	13 (21.7)

CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 75.0 %	19.4 - 99.4	Nivel de confianza del 95%
	11.1 - 99.9	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	0	0	0
	H	3	1	4
		3	1	4

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	2	0	2
	$> \bar{x}$	1	1	2
		3	1	4

Edad media = \bar{x} = 53.0 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIRROSIS BILIAR PRIMARIA (n = 4)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20							
21-30						1	25.0
31-40			1			1	25.0
41-50		1				1	25.0
51-60			1			1	25.0
61-70					1	1	25.0
71-80							
81-100							
TOTAL	0	1	2	0	1	4	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS BILIAR PRIMARIA (n = 4)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	0 (100.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBe	1 (100.0)	1 (100.0)
Anti-HBe y Anti-HBs	2 (100.0)	2 (100.0)
SOLO Anti-HBs	0 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	1 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	4 (100.0)	3 (75.0)

GIRROSIS NO CLASIFICADAS EN LOS GRUPOS ANTERIORES

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza: SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 66.7 %	54.0 - 77.8	Nivel de confianza del 95%
	50.2 - 80.7	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	36	18	54
	H	8	4	12
		44	22	66

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	20	13	33
	$> \bar{x}$	24	9	33
		44	22	66

Edad media = \bar{x} = 57.5 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- CIRROSIS NO CLASIFICADAS EN LOS GRUPOS ANTERIORES (n = 66)

EDAD	HBsAg	SOLO anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20					1	1	1.5
21-30						3	4.5
31-40	1	2			3	7	10.6
41-50	2	1	1		9	25	37.9
51-60	1	5	10		7	27	40.9
61-70	2	5	11	2		3	4.5
71-80			1				
81-100							
TOTAL	6	13	23	2	22	66	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN CIRROSIS NO CLASIFICADAS COMO LAS ANTERIORES (n = 66)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	6 (100.0)	2 (33.3)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	4 (30.8)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	9 (39.1)
SOLO Anti-HBs	2 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	22 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	66 (100.0)	15 (22.7)

Conjunto de todas las CIRROSIS

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN DISTRIBUCION NORMAL

Q = 65.9 %	58.9 - 72.9	Nivel de confianza del 95%
	56.8 - 75.0	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	89	44	133
	H	31	18	49
		120	62	182

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	61	34	95
	$> \bar{x}$	59	28	87
		120	62	182

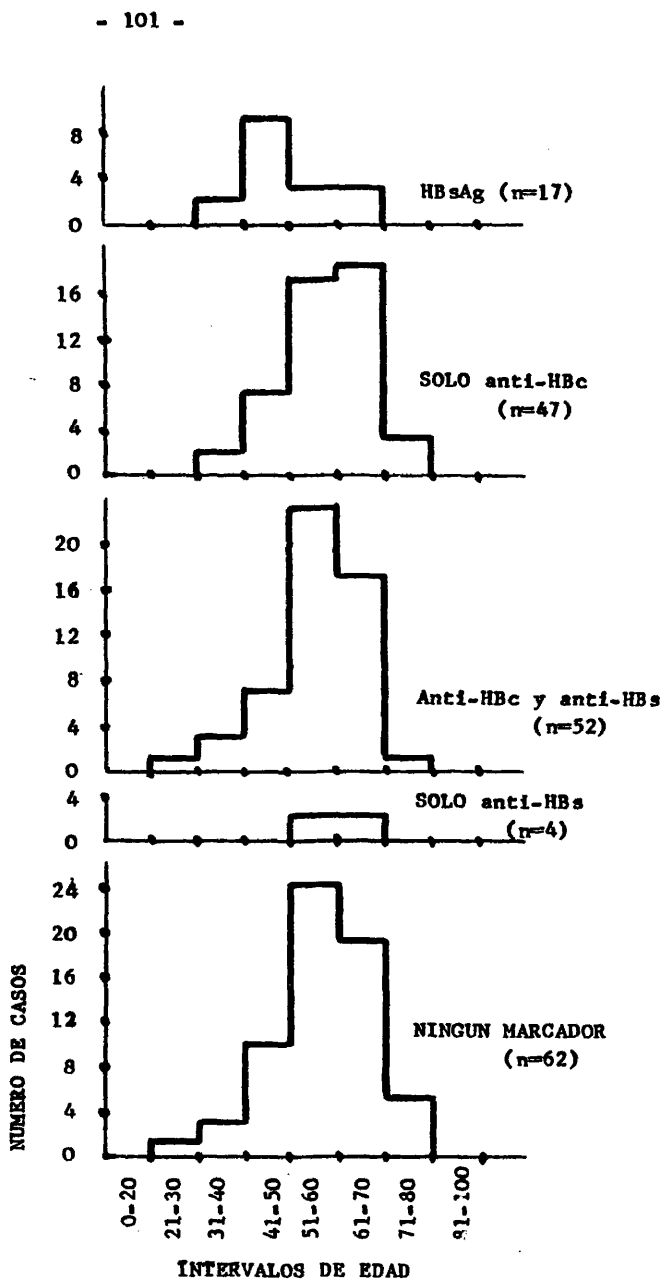
Edad media = \bar{x} = 56.3 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- TOTAL CIRROSIS (n = 182)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DB HBV	TOTAL	%
0-20			1		1	2	1.1
21-30			3		3	10	5.5
31-40	2	2	7		10	33	18.1
41-50	9	7	23	2	24	69	37.9
51-60	3	17	17	2	19	59	32.4
61-70	3	18	1		5	9	4.9
71-80		3					
81-100							
TOTAL	17	47	52	4	62	182	100.0

TOTAL CIRROSIS (N = 182)

Distribución por edades de los marcadores del HBV (REPRESENTACION GRAFICA)



SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CONJUNTO DE LAS CIRROSIS (n = 182)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	17 (100.0)	10 (58.8)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	9 (19.1)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	18 (34.6)
SOLO Anti-HBs	4 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	0 (0.0)	0 (0.0)
TOTAL	182 (100.0)	37 (20.3)

CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC)

Marcadores del HBV en suero

HISTOLOGIA HEPATICA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)				
		Casos con marcador positivo por RIA para:				
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV
CHC CON CIRROSIS	41 (100.0)	5 (12.2)	11 (26.8)	13 (31.7)	1 (2.4)	30 (73.2)
CHC SIN CIRROSIS	16 (100.0)	1 (6.3)	3 (18.7)	3 (18.7)	1 (6.3)	10 (62.5)
TOTAL	57 (100.0)	6 (10.5)	14 (24.6)	16 (28.1)	2 (3.5)	40 (70.2)

(1)

(1) Dos pacientes con CHC SIN CIRROSIS, ambos fallecidos (estudio serológico post mortem), presentaron el siguiente perfil respecto de los marcadores del HBV: HBsAg (-), anti-HBc (-), anti-HBs (-), HBeAg (+) y anti-HBe (+).

CARCINOMA HEPATOCELULAR CON CIRROSIS

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 73.2 %	57.1 - 85.8	Nivel de confianza del 95%
	52.2 - 88.6	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	27	10	37
	H	3	1	4
		30	11	41

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	14	6	20
	$> \bar{x}$	16	5	21
		30	11	41

Edad media = \bar{x} = 59.5 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATOCARCINOMA CON CIRROSIS (n = 41)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20							
21-30						2	4.9
31-40	2					4	9.8
41-50	2	1	1			13	31.7
51-60	1	4	2		6	18	43.9
61-70		4	10	1	3	4	9.8
71-80		2			2		
81-100							
TOTAL	5	11	13	1	11	41	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR CON CIRROSIS (n = 41)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	5 (100.0)	2 (40.0)
SOLO Anti-HBe	11 (100.0)	0 (0.0)
Anti-HBe y Anti-HBs	13 (100.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV	11 (100.0)	0 (0.0)
TOTAL	41 (100.0)	2 (4.9)

CARCINOMA HEPATOCELULAR SIN CIRROSIS

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 62.5 %	35.4 - 84.8	Nivel de confianza del 95%
	28.7 - 89.1	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	9	5	14
	H	1	1	2
		10	6	16

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	4	3	7
	$> \bar{x}$	6	3	9
		10	6	16

Edad media = $\bar{x} = 53.8$ años

DISTRIBUCION POR EDADES.- HEPATOCARCINOMA SIN CIRROSIS (n = 16)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV (como los anteriores)	TOTAL	%
0-20					1	2	12.5
21-30			1		1	1	6.2
31-40					1	2	12.5
41-50	1				2	3	18.8
51-60		1			1	5	31.2
61-70		2	1	1		3	18.8
71-80			1		2		
81-100							
TOTAL	1	3	3	1	8	16	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR SIN CIRROSIS (n = 16)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBsAg	1 (100.0)	0 (0.0)
SOLO Anti-HBc	3 (100.0)	2 (66.7)
Anti-HBc y Anti-HBs	3 (100.0)	1 (33.3)
SOLO Anti-HBs	1 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV (como los anteriores)	8 (100.0)	2 (25.0)
TOTAL	16 (100.0)	5 (31.3)

TOTAL CARCINOMA HEPATOCELULAR

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 70.2 %	56.6 - 81.6	Nivel de confianza del 95%
	52.5 - 84.4	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	36	15	51
	H	4	2	6
		40	17	57

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	18	9	27
	$> \bar{x}$	22	8	30
		40	17	57

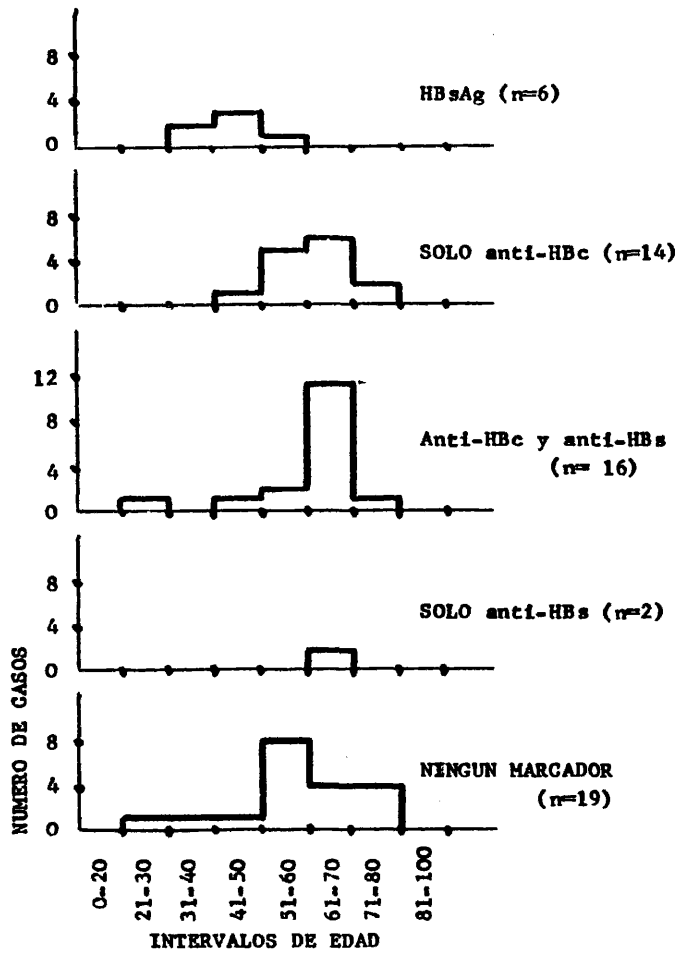
Edad media = \bar{x} = 56.8 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- TOTAL HEPATOCARCINOMAS (n = 57)

EDAD	HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV (como los anteriores)	TOTAL	%
0-20							
21-30			1		1	2	3.5
31-40	2				1	3	5.3
41-50	3	1	1		1	6	10.5
51-60	1	5	2		8	16	28.1
61-70		6	11	2	4	23	40.3
71-80		2	1		4	7	12.3
81-100							
TOTAL	6	14	16	2	19	57	100.0



TOTAL HEPATOCARCINOMAS (N = 57)
Distribución por edades de los marcadores del HBV (REPRESENTACION GRAFICA)



SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CONJUNTO DE LOS CARCINOMAS HEPATOCELULARES (n = 57)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBeAg	6 (100.0)	3 (50.0)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	6 (52.9)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	5 (31.3)
SOLO Anti-HBs	2 (100.0)	0 (0.0)
NINGUN MARCADOR DE HBV (como los anteriores)	2 (10.5)	2 (10.5)
TOTAL	4 (7.0)	16 (28.1)

RESUMEN DE HEPATOPATIAS

Marcadores del HBV en suero

HISTOLOGIA HEPATICA	CASOS ESTUDIADOS	VALORES ABSOLUTOS (%)				
		Casos con marcador positivo por RIA para:				
		HBsAg	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	ALGUN MARCADOR DE HBV
HEPATITIS CRONICA	100 (100.0)	21 (21.0)	16 (16.0)	23 (23.0)	5 (5.0)	65 (65.0)
HEPATOPATIA ALCOHOLICA	84 (100.0)	3 (3.6)	13 (15.5)	24 (28.6)	2 (2.4)	42 (50.0)
CIRROSIS	182 (100.0)	17 (9.3)	47 (25.8)	52 (28.6)	4 (2.2)	120 (65.9)
HEPATOGARCINOMA	57 (100.0)	6 (10.5)	14 (24.6)	16 (28.1)	2 (3.5)	40 (70.2)
TOTAL	423 (100.0)	47 (11.1)	90 (21.3)	115 (27.2)	13 (3.1)	267 (63.1)

RESUMEN DE HEPATOPATIAS

A).- Estimación del porcentaje poblacional (Q) e intervalos de confianza:

Q = 63.1 %	58.4 - 67.8	Nivel de confianza del 95%
	57.2 - 69.0	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
SEXO	V	204	120	324
	H	63	36	99
		267	156	423

C).- Presentación por edades:

		INFECTADOS POR HBV		
		SI	NO	
EDAD	$< \bar{x}$	134	79	213
	$> \bar{x}$	133	77	210
		267	156	423

Edad media = \bar{x} = 52.2 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- RESUMEN DE HEPATOPATIAS (n = 423)

EDAD	HBSAG	SOLO Anti-HBc	Anti-HBc y Anti-HBs	SOLO Anti-HBs	NINGUN MARCADOR DE HBV	TOTAL	%
0-20	2	1	4		1	8	1.9
21-30	2	2	9		6	19	4.5
31-40	11	5	10		17	43	10.2
41-50	21	11	22	3	31	88	20.8
51-60	8	34	34	5	60	141	33.3
61-70	3	30	34	5	32	104	24.6
71-80		6	2		11	19	4.5
81-100		1				1	0.2
TOTAL	47	90	115	13	158	423	100.0

SISTEMA HBeAg/Anti-HBe EN EL CONJUNTO DE HEPATOPATIAS (n = 423)

VALORES ABSOLUTOS (%)

Nº de casos con :	SISTEMA e/anti-e	
	HBeAg	Anti-HBe
HBsAg	47 (100.0)	26 (53.3)
SOLO Anti-HBe	0 (0.0)	23 (25.6)
Anti-HBe y Anti-HBs	0 (0.0)	40 (34.8)
SOLO Anti-HBs	13 (100.0)	2 (15.4)
NINGUN MARCADOR DE HBV	2 (1.3)	2 (1.3)
TOTAL	423 (100.0)	93 (22.0)

PORTADORES ASINTOMÁTICOS (n = 92)

VALORES ABSOLUTOS (%)

	CASOS ESTUDIADOS	SISTEMA e/anti-e			
		SOLO HBeAg	HBeAg y Anti-HBe	SOLO Anti-HBe	NINGUNO DE LOS ANTERIORES
VARONES	61	3	4	52	2
HEMBRAS	31	2	1	27	1
TOTAL	92 (100.0)	5 (5.4)	5 (5.4)	79 (85.9)	3 (3.3)

PORTADORES ASINTOMATICOS

A).- Estimación del porcentaje de portadores HBeAg positivo (Q)
e intervalos de confianza:

SEGUN TABLAS BINOMIAL (límites exactos)

Q = 10.87 %	5.34 - 19.08	Nivel de confianza del 95%
	4.16 - 21.84	Nivel de confianza del 99%

B).- Presentación por sexo:

Total portadores = 92 (100%) :

VARONES = 61 (66.3 %)

HEMRAS = 31 (33.7 %)

VARONES = 2

HEMRAS = 1

C).- Presentación por edades:

Edad media = 29.2 años

DISTRIBUCION POR EDADES.- PORTADORES ASINTOMATICOS (n = 92)

EDAD	SOLO HB _e Ag	HB _e Ag y Anti-HB _e	SOLO Anti-HB _e	NINGUNO DE LOS ANTERIORES	TOTAL	%
0-10			1		1	1.1
11-20	1	1	7		9	9.8
21-30	2	3	43	2	50	54.3
31-40	1	1	22	1	25	27.2
41-50	1		6		7	7.6
51-60						
61-70						
71-80						
81-90						
91-100						
TOTAL	5	5	79	3	92	100.0

B .- ANALISIS ESTADISTICO.

El objeto de este análisis es contrastar la posible significación estadística del presente estudio y facilitar la elaboración de conclusiones.

Conceptualmente consideraremos tres tipos de CONJUNTOS o UNIVERSOS a estudiar:

- UNIVERSO I .- Constituido por las poblaciones SIN hepatopatía
- UNIVERSO II .- Constituido por las poblaciones CON hepatopatía
- UNIVERSO III.- Población constituida por los portadores sanos del HBV.

En lo que sigue, nos centraremos fundamentalmente en estudiar las relaciones existentes entre los dos primeros universos.

De ambos universos, I y II, a nosotros nos interesan solo ciertas poblaciones (o SUBCONJUNTOS), cuales son:

Del UNIVERSO I:

- Población de DONANTES voluntarios de sangre .
 - Población de pacientes en HEMODIALISIS renal crónica,
- poblaciones ambas, que funcionarán en este estudio como POBLACIONES CONTROL.

Del UNIVERSO II:

- Hepatitis crónica

- Hepatopatía alcohólica
- Cirrosis
- Carcinoma hepatocelular

Las poblaciones del Universo II, pueden a su vez descomponerse en SUBPOBLACIONES (subconjuntos), tal como sigue:

- HEPATITIS CRONICA (HC):
 - . HCP (Hepatitis crónica persistente).
 - . HCS (Hepatitis crónica septal).
 - . HCA (Hepatitis crónica activa).
- HEPATOPATIA ALCOHOLICA (HEPAT. ALCOH.):
 - . HEPATOPATIA ALCOHOLICA (NO C) (Hepat. alcoh. excluidas las cirrosis)
 - . CIRROSIS ALCOH (Cirrosis alcohólica).
- CIRROSIS (C):
 - . C. MICRO (Cirrosis micronodular)
 - . C. MACRO (Cirrosis macronodular)
 - . C. MIXTA (Cirrosis mixta = micro-macronodular)
 - . CBP (Cirrosis biliar primaria)
 - . C.NO CLAS.(Cirrosis no clasificadas en los anteriores grupos)
- CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC)
 - . CHC CON C (CHC con cirrosis)
 - . CHC SIN C (CHC sin cirrosis)

Para el estudio de estas POBLACIONES y SUBPOBLACIONES finitas, que en principio podemos aceptar corresponden al área de influencia del Centro Ramón y Cajal, se procedió a obtener las correspondientes MUESTRAS a partir de las cuales se elaboró el correspondiente proceso de inferencia.

En la obtención de las muestras se evitó todo tipo de componente intencional y los individuos fueron incorporados al estudio a medida que pasaron por el Hospital. El hecho de que todos los pacientes pertenecientes al UNIVERSO II, estén filiados y clasificados histológicamente en función de la punción biopsia hepática, condiciona que las poblaciones y subpoblaciones estudiadas de este universo queden definidas homogéneamente, lo cual es garantía de que las muestras tendrán mayor probabilidad de ser representativas.

Veamos un resumen de lo dicho, que servirá además para especificar la nomenclatura a seguir y describir el tamaño (n) de las muestras empleadas (ver TABLA 9).

A partir de estas muestras, vamos a iniciar nuestro estudio de inferencia, estableciendo una serie de pruebas de significación, cuyo punto de partida es la siguiente HIPOTESIS NULA (H₀): "NO EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LAS POBLACIONES DE AMBOS UNIVERSOS (SIN Y CON HEPATOPATIA) RESPECTO DEL CARACTER ESTUDIADO (PRESENCIA DE MARCADORES DEL HBV EN SUERO)", que contrastaremos frente a la HIPOTESIS ALTERNATIVA (H₁): "EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE AMBOS TIPOS DE POBLACIONES, PRESENTANDO

TABLA 9

UNIVERSOS	POBLACIONES	SUBPOBLACIONES	Tamaño MUESTRA
POBLACIONES SIN HEPATOPATIA	DONANTES		190
	DIALIZADOS		147
POBLACIONES CON HEPATOPATIA	HEPATITIS CRONICA	HCP	20
		HCS	6
		HCA	74
	HEPATOPATIA ALCOH.	HEPAT.ALCOH.(NO CIRROSIS)	52
		CIRROSIS ALCOHOLICA	32
	CIRROSIS	C. MICRO	36
		C. MACRO	16
		C. MIXTA	60
		CBP	4
		C. NO CLAS.	66
CARCINOMA HEPATOCE-LULAR	CHC CON C.	41	
	CHC SIN C.	16	

LAS POBLACIONES CON HEPATOPATIA UNA PROPORCION DE MARCADORES DEL HBV EN SUERO SUPERIOR A LA DE LAS POBLACIONES DEL UNIVERSO CONTROL". Es decir:

Ho: Q (control) = Q (hepatopatías)

H1: Q (control) < Q (hepatopatías)

en donde Q expresa la proporción de sueros "positivos" (entendiendo por suero "positivo" aquel que presenta alguno de los marcadores del HBV).

El problema se nos plantea como una SITUACION BINOMIAL en donde:

- 1) El resultado de la investigación de un suero solo ofrece dos alternativas: positivo o negativo.
- 2) El resultado de cada suero es independiente del de los demás sueros.
- 3) Dentro de cada población estudiada, los individuos integrantes tienen sensiblemente la misma probabilidad de ser incluidos en el estudio.

La resolución práctica de nuestro problema de inferencia, la contemplaremos a tres niveles:

- A) Estimación, a partir de cada una de las muestras, del correspondiente parámetro poblacional (Q = proporción poblacional) y establecimiento de los oportunos intervalos de confianza para medir la seguridad de dicha estimación.

- B) Contraste entre las proporciones de las poblaciones (o subpoblaciones) con hepatopatía y las de la población - control para, a la luz de los resultados, aceptar o rechazar la hipótesis nula.
- C) Estudio de homogeneidad de las diferentes muestras, para tratar así de responder a la pregunta de si pueden o no ser consideradas como procedentes de la misma población.

A).- ESTIMACION DE Q E INTERVALOS DE CONFIANZA.

Para estimar el parámetro poblacional Q (PROPORCION de sujetos "positivos" en la población) usaremos como estimador la proporción muestral, \hat{q} , aprovechando que dicho estimador verifica las propiedades de ser insesgado y consistente. Dicha estimación puntual se acompaña de dos intervalos de confianza, al 95 y 99 % respectivamente, cuyos límites se prefirió, siempre que ello fué posible, calcularlos a partir de las "tablas de la distribución binomial" (LIMITES EXACTOS). Cuando los límites buscados no estaban contenidos en dichas tablas, los intervalos de confianza se calcularon en base a la aproximación de la distribución normal como límite de la binomial (TEOREMA DE MOIVRE).

Los correspondientes valores estimados para Q, junto a sus respectivos intervalos al 95 y 99 % de confianza, se resumen en la TABLA 10 (A efectos de simplificación, en lo sucesivo no matizaremos entre población y subpoblación, refiriéndonos simplemente a poblaciones). En dicha tabla n es el tamaño de la muestra y x el número de "positivos".

TABLA 10

POBLACIONES	n	x	VALOR DE Q	INTERVALOS DE CONFIANZA		METODO EMPLEADO
				95%	99%	
DONANTES	190	48	25.3	19.3 - 32.1	17.5 - 34.2	BINOMIAL
DIALIZADOS	147	39	26.5	19.3 - 33.7	17.1 - 35.9	N (0,1)
HCP	20	15	75.0	50.9 - 91.3	44.0 - 94.2	BINOMIAL
HCS	6	4	66.7	22.3 - 95.7	14.4 - 98.1	BINOMIAL
HCA	74	46	62.2	50.1 - 73.2	46.6 - 76.2	BINOMIAL
TOTAL HC	100	65	65.0	54.8 - 74.3	51.7 - 76.8	BINOMIAL
HEPAT. ALCOH. (NO C.)	52	21	40.4	27.0 - 54.9	23.5 - 59.1	BINOMIAL
CIRROSIS ALCOHOLICA	32	21	65.6	46.8 - 81.4	41.5 - 85.1	BINOMIAL
TOTAL HEPAT. ALCOH.	84	42	50.0	38.9 - 61.1	35.7 - 64.3	BINOMIAL
C. MIGRO	36	21	58.3	40.8 - 74.5	35.9 - 78.5	BINOMIAL
C. MACRO	16	10	62.5	35.4 - 84.8	28.7 - 89.1	BINOMIAL
C. MIXTA	60	42	70.0	56.8 - 81.1	52.8 - 83.9	BINOMIAL
CBP	4	3	75.0	19.4 - 99.4	11.1 - 99.9	BINOMIAL
C. NO CLAS.	66	44	66.7	54.0 - 77.8	50.2 - 80.7	BINOMIAL
TOTAL CIRROSIS	182	120	65.9	58.9 - 72.9	56.8 - 75.0	N (0,1)
CHC CON CIRROSIS	41	30	73.2	57.1 - 85.8	52.2 - 88.6	BINOMIAL
CHC SIN CIRROSIS	16	10	62.5	35.4 - 84.8	28.7 - 89.1	BINOMIAL
TOTAL CHC	57	40	70.2	56.6 - 81.6	52.5 - 84.4	BINOMIAL
TOTAL HEPATOPATIAS	423	267	63.1	58.4 - 67.8	57.2 - 69.0	N (0,1)

B).- ANALISIS DE SIGNIFICACION ENTRE LAS POBLACIONES CONTROL Y LAS POBLACIONES CON HEPATOPATIA, A FIN DE CONTRASTAR LA HIPOTESIS NULA.

En el caso que nos ocupa, un primer test de conformidad nos lo ofrece ya el estudio realizado sobre los intervalos de confianza.

Al observar los intervalos de confianza de las POBLACIONES CON HEPATOPATIA, en busca de solapamientos con los intervalos de las POBLACIONES CONTROL, se constata que solapan con los DONANTES (y por supuesto también con los DIALIZADOS), las siguientes poblaciones:

- HCS (solapa al 95%)
- HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS) (solapa al 95%)
- C. MACRO (solapa al 99%)
- CBP (solapa al 95%)
- CHC SIN CIRROSIS (solapa al 99%)

y poblaciones que solo solapan con DIALIZADOS son:

- TOTAL HEPAT. ALCOH. (solapa al 99%)
- C. MICRO (no solapa pero interfiere al limite del 99%)

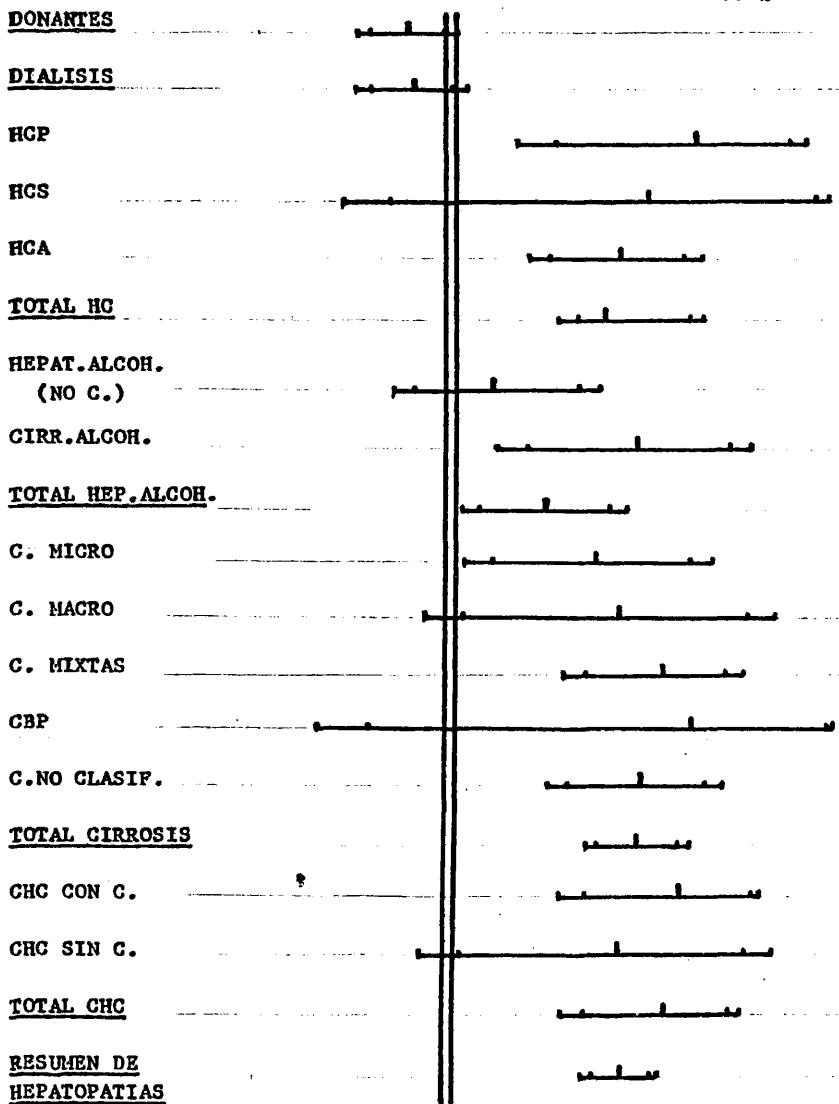
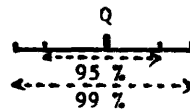
La existencia o no de solapamiento, se aprecia más fácilmente en el gráfico siguiente (ver figura 3).

El motivo de emplear dos poblaciones control: DONANTES y DIALIZADOS, se apoyó en el hecho de que al ser:

FIGURA 3

FORCENTAJE DE INFECTADOS (Q) E INTERVALOS DE CONFIANZA

REPRESENTACION GRAFICA



- edad media de los DONANTES = 34.2 años

- edad media de los paciente con HEPATOPATIA = 52.2 años

surge la duda de si en caso de emplear muestras control con edad media más elevada, pudiese ello condicionar una mayor proporción de infectados por HBV y dejar de ser significativas las diferencias observadas entre DONANTES y HEPATOPATIAS.

Por ello, se incluyó una segunda población control: DIALIZADOS, con edad media de 45 años, la cual se encuentra ya en un orden más parecido a las HEPATOPATIAS y además, dadas las especiales características de esta población, se puede aceptar como razonable que su proporción de infectados por HBV ($Q = 26.5$), suponga un "techo" por encima del cual es muy improbable pueda encontrarse la población general.

En lo sucesivo, fundamentalmente trabajaremos con solo la población control de DONANTES.

Vemos pues, como para la mayoría de las poblaciones con hepatopatía, existe una diferencia significativa respecto de las poblaciones control, obligando ello, en dichos casos, a rechazar la hipótesis nula de una población única y común y a aceptar la hipótesis alternativa que afirma que: AMBAS POBLACIONES, LA DE CONTROL Y HEPATOPATIAS, SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES EN LO CONCERNIENTE A SU PROPORCION DE INDIVIDUOS POSITIVOS (CON MARCADORES HBV EN SUERO), ES DECIR, SE TRATA DE DOS POBLACIONES DISTINTAS RESPECTO DEL CARACTER ESTUDIADO.

Referente a las poblaciones cuya diferencia no es significativa a los niveles de significación $\alpha = 0.05$ ó $\alpha = 0.01$, hemos de observar que sus muestras presentan un exiguo tamaño que condiciona una inferencia débil. Distinto es el caso de la población HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS) que se nos presenta con unas características peculiares y de la que nos ocuparemos en otro lugar.

Es aconsejable, para completar esta inferencia preliminar basada en los intervalos de confianza, proceder a contrastar nuestros resultados mediante algún test de significación apropiado.

A este fin elegimos la prueba χ^2 para ir comparando cada muestra de las poblaciones con HEPATOPATIA, con la muestra de la población control de DONANTES y establecer la relación existente entre ambas muestras independientes. Como esta comparación se traducirá en tablas de contingencia 2 x 2 de 1 grado de libertad, tendremos en cuenta las siguientes limitaciones:

- a) Dado que χ^2 se basa en la aproximación normal a la distribución binomial, se precisa de una corrección por discontinuidad (corrección de Yates), que para una mayor uniformidad en los cálculos, aplicaremos a todos los casos 2 x 2, aún cuando en algunos de ellos no fuese necesario por ser las frecuencias teóricas de todas las células mayor de 10.

b) Cuando alguna frecuencia teórica sea < 5 y $N < 40$, usaremos el test de la probabilidad exacta de Fisher.

Y ahora iniciaremos el estudio sistemático de estas relaciones:

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	No	
HCP	15	5	20
DONANTES	48	142	190
	63	147	210

$$\chi^2 = 19.0 > \chi_{99}^2 (=6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
HCS	4	2	6
DONANTES	48	142	190
	52	144	196

Aplicamos el método -

exacto de Fisher :

$$P = 0.044 \begin{cases} < 0.05 \\ > 0.01 \end{cases}$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.05$)

NO SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
HCA	46	28	74
DONANTES	48	142	190
	94	170	264

$$\chi^2 = 30.0 > \chi_{99}^2 (=6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
Total HC	65	35	100
DONANTES	48	142	190
	113	177	290

$$\chi^2 = 41.8 > \chi^2_{99} (=6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
HEPAT. ALCH. (NO C.)	21	31	52
DONANTES	48	142	190
	69	173	242

$$\chi^2 = 3.87$$

$$\chi^2_{95} < \chi^2 < \chi^2_{99}$$

(3.84) (6.64)

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.05$)

NO SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
CIRROSIS ALCOH.	21	11	32
DONANTES	48	142	190
	69	153	222

$$\chi^2 = 19.0 > \chi^2_{99} (= 6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL HEPAT. ALCOH.	42	42	84
DONANTES	48	142	190
	90	184	274

$$\chi^2 = 15.1 > \chi^2_{99} (= 6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
C. MICRO	21	15	36
DONANTES	48	142	190
	69	157	226

$$\chi^2 = 14.1 > \chi^2_{99} (= 6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
C. MACRO	10	6	16
DONANTES	48	142	190
	58	148	206

$$\chi^2 = 8.4 > \chi^2_{99} (= 6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
G. MIXTA	42	18	60
DONANTES	48	142	190
	90	160	250

$$\chi^2 = 37.7 > \chi_{99}^2 (6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
CBP	3	1	4
DONANTES	48	142	190
	51	143	194

Aplicamos el test exacto de Fisher

$$P = 0.056$$

CUASI SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.05$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
G. NO CLAS	44	22	66
DONANTES	48	142	190
	92	164	256

$$\chi^2 = 34.7 > \chi_{99}^2 (6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL CIRROSIS	120	62	182
DONANTES	48	142	190
	168	204	372

$$\chi^2 = 60.5 > \chi^2_{99} (= 6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
CHC CON CIRROSIS	30	11	41
DONANTES	48	142	190
	78	153	231

$$\chi^2 = 34.8 > \chi^2_{99} (6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
CHC SIN CIRROSIS	10	6	16
DONANTES	48	142	190
	58	148	206

$$\chi^2 = 10.1 > \chi^2_{99} (6.64)$$

SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL GHC	40	17	57
DONANTES	48	142	190
	88	159	247

$\chi^2 = 36.6 > \chi_{99}^2 (= 6.64)$
SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL HEPATO PATIAS	267	156	423
DONANTES	48	142	190
	315	298	613

$\chi^2 = 73.7 > \chi_{99}^2 (= 6.64)$
SIGNIFICATIVO ($\alpha = 0.01$)

A continuación resumiremos en una tabla los resultados del test de significación. Incluiremos también el cálculo, para cada una de las poblaciones, del coeficiente de Yule que nos mida la intensidad de la relación tipo de hepatopatía-infección por HBV y que permita establecer comparaciones entre las distintas poblaciones (ver TABLA 11).

En resumen, vemos como aplicando la prueba de la χ^2 o, en su defecto, el test exacto de Fisher, se ha constatado la reali-

TABLA 11

POBLACIONES	n	x	TEST χ^2 VALOR DE χ^2	TEST DE FISHER VALOR DE P	SIGNIFICACION VALORES ALCANZADOS DE α	COEFICIENTE DE YULE
HCP	20	15	19.0	-	< 0.0005	0.80
HCS	6	4	-	0.044	0.044	0.71
HCA	74	46	30.0	-	< 0.0005	0.65
TOTAL HC	100	65	41.8	-	< 0.0005	0.69
HEPAT.ALCOH.(NO C.)	52	21	3.87	-	0.01 < α < 0.05	0.33
CIRROSIS ALCOHOLICA	32	21	19.0	-	< 0.0005	0.70
TOTAL HEPAT.ALCOH.	84	42	15.1	-	< 0.0005	0.49
C. MICRO	36	21	14.1	-	< 0.0005	0.61
C. MAGRO	16	10	8.4	-	0.001 < α < 0.01	0.66
C. MIXTA	60	42	37.7	-	< 0.0005	0.74
CBP	4	3	-	0.056	0.056	-
C. NO CLASIFICADAS	66	44	34.7	-	< 0.0005	0.71
TOTAL CIRROSIS	182	120	60.5	-	< 0.0005	0.70
CHC CON CIRROSIS	41	30	34.8	-	< 0.0005	0.77
CHC SIN CIRROSIS	16	10	10.1	-	0.001 < α < 0.01	0.66
TOTAL CHC	57	40	36.6	-	< 0.0005	0.75
TOTAL HEPATOPATIAS	423	267	73.7	-	< 0.0005	0.67

dad de una relación entre las correspondientes poblaciones con hepatopatía y la infección por HBV.

Esta relación quedó establecida, a un nivel de confianza del 99%, para todas las poblaciones, excepto: HCS y HEPAT. ALCOH. (NO C), en donde la confianza alcanzada fué solo del 95% y CBP en donde no se llegó a alcanzar el nivel mínimo exigido del 95%. En este último caso faltó muy poco para alcanzar la significación, debido ello al pequeño tamaño de la muestra disponible.

En los casos en que quedó establecida la realidad de dicha relación, se procedió a medir, con efectos comparativos (no absolutos), la intensidad de tal relación mediante el coeficiente de - Yule. Llama la atención como en la población HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS), tal coeficiente se debilita considerablemente.

Lo dicho nos lleva, para todas aquellas poblaciones con hepatopatía en las que se demostró una diferencia significativa respecto a la población control, a rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa de que ambos tipos de población: población control de DONANTES por un lado y poblaciones con HEPATOPATIA por otro, constituyen poblaciones diferentes en lo referente al carácter estudiado (presencia de marcadores del HBV en suero).

C).- ESTUDIO DE HOMOGENEIDAD.

Apoyándonos de nuevo en la prueba de la χ^2 , vamos a tratar de verificar la homogeneidad o no-homogeneidad de las diferentes muestras estudiadas y en consecuencia de sus poblaciones de procedencia.

En esta ocasión trabajaremos agrupando las muestras en bloques, a fin de:

- 1.- Por un lado, reforzar las conclusiones alcanzadas en los anteriores apartados A y B; y
- 2.- Estudiar la homogeneidad dentro de cada uno de los UNIVERSOS considerados: poblaciones CONTROL (sin hepatopatía) por un lado y poblaciones con HEPATOPATIA por otro.

Empezamos considerando el estudio conjunto de ambos UNIVERSOS (POBLACIONES CONTROL y POBLACIONES CON HEPATOPATIA):

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
DONANTES	48	142	190
DIALIZADOS	39	108	147
TOTAL HC	65	35	100
TOTAL HEPAT. ALCOH.	42	42	84
TOTAL CIRROSIS	120	62	182
TOTAL CHC	40	17	57
	354	406	760

$\nu = \text{grados de libertad} = 5$
 $\chi^2 = 112.68 > \chi^2_{99} (15.09)$

NO HOMOGENEIDAD

Así pues, el conjunto formado por ambos UNIVERSOS (I y II) no es homogéneo, resultado que era de prever a la luz de los estudios anteriores (apartados A y B).

Ahora vamos a estudiar la homogeneidad de ambos UNIVERSOS (I y II), pero por separado.

En el UNIVERSO I (DONANTES + DIALIZADOS) tenemos:

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
DONANTES	48	142	190
DIALIZADOS	39	108	147
	87	250	337

$$\chi^2 = 0.08 \ll \chi^2_{95} (= 3.84)$$

HOMOGENEIDAD

Y en el UNIVERSO II (HC + HEPAT. ALCOH. + CIRROSIS + CHC), hacemos el mismo estudio:

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL HC	65	35	100
TOTAL HEPAT. ALCOH	42	42	84
TOTAL CIRROSIS	120	62	182
TOTAL CHC	40	17	57
	267	156	423

$$\begin{aligned} \sqrt{d} &= 3 \\ \chi^2 &= 8.16 \\ \chi^2_{95} &< \chi^2 < \chi^2_{99} \\ (7.81) & & (11.34) \end{aligned}$$

NO HOMOGENEIDAD a un nivel de significación $\alpha = 0.05$

SI HOMOGENEIDAD a un nivel de significación $\alpha = 0.01$

ya que al disminuir el error α aumenta consecuentemente el error β y con ello la probabilidad de aceptar la hipótesis nula (H_0 : existe homogeneidad) cuando esta sea falsa.

Si en el test de homogeneidad anterior, analizamos las distintas contribuciones al valor de χ^2 , vemos que son los términos correspondientes a TOTAL HEPAT. ALCOH. los que más contribuyen. Para analizar en que grado las HEPAT. ALCOH. disturbán la homogeneidad del UNIVERSO II, vamos a desglosar dicha población en sus dos subpoblaciones: HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS) y CIRROSIS ALCOH. y repetir el estudio de homogeneidad con cada una por separado.

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL HC	65	35	100
HEP.ALCOH.(NO CIRROSIS)	21	31	52
TOTAL CIRROSIS	120	62	182
TOTAL CHC	40	17	57
	246	145	391

$$\chi^2 = 13.4 > \chi^2_{99} (= 11.34)$$

NO HOMOGENEO

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
TOTAL HC	65	35	100
CIRROSIS ALCOH.	21	11	32
TOTAL CIRROSIS	120	62	182
TOTAL CHC	40	17	57
	246	125	371

$$\chi^2 = 0.473 \ll \chi^2_{95} (= 7.81)$$

HOMOGENEO

En consecuencia, vemos que al estudiar conjuntamente las - muestras de ambos UNIVERSOS (CONTROLES y HEPATOPATIAS): no presentan homogeneidad.

Estudiando independientemente el UNIVERSO I (CONTROLES: DONANTES + DIALIZADOS), se ve como constituye un bloque homogéneo.

Estudiado por otro lado el UNIVERSO II (HEPATOPATIAS: HC + HE PAT. ALCOH. + CIRROSIS + CHC), presenta una homogeneidad relativa ($\chi^2_{95} < \chi^2 < \chi^2_{99}$).

Profundizando en el análisis de éste último universo, se detecta que son las HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS), quienes disturbaban la homogeneidad del mismo; una vez excluida dicha subpoblación se observa como dicho UNIVERSO II, recupera la homogeneidad a los niveles de significación empleados.

Como corolario de todo lo anteriormente expuesto, concluimos:

1.- Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, es decir: las poblaciones con HEPATOPATIA son significativamente diferentes de las poblaciones base empleadas como CONTROLES, en lo concerniente al carácter estudiado (presencia de marcadores del HBV en suero).

2.- Dentro del Universo de las HEPATOPATIAS, la subpoblación HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS), aún cuando significativamente diferente de la población control ($\alpha = 0.05$), presenta:

- Por un lado, una baja intensidad de relación (coeficiente de Yule = 0.33) en comparación con el resto de las hepatopatías.
- Por otro, altera la homogeneidad del conjunto de las hepatopatías (UNIVERSO II).

nada de lo cual ocurre con la otra subpoblación de este grupo: CIRROSIS ALCOHOLICAS. Ello nos lleva a plantearnos la pregunta: ¿Existe diferencia significativa entre ambas subpoblaciones: HEPAT ALCOH. (NO CIRROSIS) y CIRROSIS ALCOHOLICA?. Para tratar de responder a ello aplicamos de nuevo la χ^2

	INFECTADOS POR HBV		
	SI	NO	
HEPAT. ALCOH. (NO CIRROSIS)	21	31	52
CIRROSIS ALCOHOLICA	21	11	32
	42	42	84

$$d = 1$$

$$\chi^2 = 5.05$$

$$\chi^2_{95} < \chi^2 < \chi^2_{99}$$

$$(3.84)$$

$$(6.64)$$

y vemos que entre ambas subpoblaciones existe una diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 % pero no del 99 %.

Dado que un nivel de significación del 5% ($\alpha = 0.05$) ofrece ya una gran fiabilidad, cabe considerar que ambas subpoblaciones son distintas respecto del carácter estudiado.

- - - - -

Respecto al análisis por sexo o por edades en las respectivas poblaciones estudiadas, solo se pudo constatar asociación o dependencia entre "infectados por HBV" y "edad", en la población DONANTES VOLUNTARIOS DE SANGRE, en donde :

$$\chi^2 = 6.05 \left\{ \begin{array}{l} > 3.84 \quad (\text{significativo al } 95 \%) \\ < 6.64 \quad (\text{no significativo al } 99 \%) \end{array} \right.$$

145'

DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Población de donantes voluntarios de sangre.

En la población control elegida, de donantes voluntarios de sangre, se observa que aproximadamente en una cuarta parte de la población se detecta algún marcador de infección por HBV en suero (pag. 52 a 54). Por otro lado, en esta población de donantes se encuentra una incidencia de aproximadamente un 1% de portadores de HBsAg (datos de Dra. C. Zamora de Banco de Sangre del Centro Ramón y Cajal y nuestros propios resultados). El que en casi un 25% de una muestra de esta población haya tenido o tenga infección por HBV al llegar a los 50 años indica que, la infección por este virus tiene una incidencia significativa en la población española. Esta incidencia es significativamente mayor que la encontrada en otros países del Norte de Europa y similar a la existente en Grecia y otros países mediterráneos; en Grecia se detecta una proporción de 4 a 5% de portadores de HBsAg (64), aunque hay que tener en cuenta que los métodos de RIA empleados en el presente estudio son de mayor sensibilidad que los usados en el trabajo griego (hemaglutinación pasiva y fijación de complemento).

En la población estudiada se observa, hasta un cierto límite, un aumento de la incidencia con la edad ($p=0.05$). No observamos diferencia en cuanto a sexo y este dato, junto con el de la proporción entre varones y hembras de 2/1 de los portadores de HBsAg, indica que aunque ambos sexos se infectan con similar frecuencia por HBV, se cronifican con mayor frecuencia las infecciones en varones, en línea con resultados obtenidos por Blumberg y colabora-

dores (65); estos autores han sugerido la hipótesis de que el antígeno HBsAg tendría algún componente antigénico común con un antígeno de superficie asociado al sexo masculino, que podría hacer reconocer en varones el HBsAg como propio y mostrar una tolerancia inmunológica que favorecería el estado portador.

Población de portadores asintomáticos de HBsAg.

En la población estudiada de portadores de HBsAg (pag. 118 a 120), detectados entre donantes voluntarios de sangre y familiares que conviven con pacientes con infección activa crónica por HBsAg, observamos en su distribución por edades como el grupo más afectado es el comprendido entre 20 y 30 años. No detectamos portadores asintomáticos en los grupos de edad más avanzada. Este hecho sugiere que aquellos portadores de HBsAg que no desarrollan una hepatopatía, pueden dejar de mostrar HBsAg libre en sangre. Por otro lado la presencia de anti-HBs aumenta con la edad.

En cuanto a la determinación de HBeAg/anti-HBe en esta población, encontramos que aproximadamente un 10% de los portadores son HBeAg positivos y de estos, en la mitad de los casos, se detecta simultáneamente anti-HBe. La detección simultánea de HBeAg y anti-HBe puede explicarse por la heterogeneidad que se ha encontrado en el sistema HBeAg (66).

En un 86% de los portadores se detecta anti-HBe y no se detecta HBeAg libre en suero y en un porcentaje residual del 3,3% no se detecta ni HBeAg ni anti-HBe.

Esta incidencia del HBeAg detectable en portadores asintomáticos

cos de HBsAg es intermedia entre, los valores encontrados en el North de Europa y Estados Unidos de América por un lado y los encontrados en poblaciones del Extremo Oriente por otro (67).

Está suficientemente comprobada la relación entre frecuencia de HBeAg en suero y alta proporción de partículas de Dane e infectividad de un suero.

Ha sido demostrada una relación entre la presencia de HBeAg en la sangre de madres portadoras y la infección perinatal de sus hijos, de los cuales la mayoría se convierten en infectados crónicos por HBV (23), contribuyendo este mecanismo de transmisión a la generación de una importante proporción de portadores. Por el contrario, los hijos de madres portadoras de HBsAg, anti-HBe positivas, sufren una muy baja proporción de infecciones perinatales. El que en nuestro país un 10% de las madres portadoras tengan HBeAg detectable en sangre, sugiere que el riesgo de infección perinatal es considerable en nuestra población. Así, en al menos uno de cada mil nacimientos, el niño tiene un alto riesgo de infectarse perinatalmente y sufrir una hepatopatía de gravedad variable y alta probabilidad de convertirse en portador. Este modo de transmisión puede contribuir significativamente a la generación de portadores de HBV en nuestra población y sugiere la necesidad de emprender una campaña de inmunización pasiva temprana, inmediatamente después del parto, de los hijos nacidos de madres portadoras de HBsAg o al menos de las que son HBeAg positivas (23).

Hepatitis crónicas

Los distintos marcadores de infección por HBV presentes en el

suero de estos pacientes así como otros resultados, se han presentado a lo largo de las páginas 58 a 71.

A efectos comparativos entre las distintas poblaciones de este grupo de hepatopatías crónicas, creemos esclarecedor el comparar el grupo de las HCP más HCS frente a HCA.

De los resultados obtenidos destacaremos:

La incidencia global de marcadores de infección por HBV disminuye al aumentar la gravedad pronóstica de la hepatitis crónica, 73% para HCP más HCS, y 62% para HCA. Sin embargo si consideramos los marcadores indicativos de infección activa: HBsAg positivo o anti-HBc positivo como único marcador detectable (en los que se ha encontrado HBcAg en hígado (31) y cuyas sangres pueden ser infectivas por transfusión (35)), vemos que la tasa aumenta paralelamente a la gravedad pronóstica, 23% para HCP más HCS frente a un 42% para HCA.

Del análisis por grupos de edad se desprende que en HCP más HCS los más infectados son estratos jóvenes (0-30 años) frente al de 50-60 años que es el más infectado para HCA.

Así, los pacientes de HCA, son "más viejos" y con mayor proporción de infecciones activas por HBV, mientras que las HCP más HCS son "más jóvenes" y con mayor proporción de infecciones pasadas (anti-HBs solo o en presencia de anti-HBc).

Existe pues una mayor incidencia de infección previa por HBV en las HCP, lo cual coincide con que estas evolucionen en general a curación.

Aun cuando en las HCA existe una significativa asociación con el virus de HBV, esta es menor que en HCP, sugiriendo ello un mayor papel etiológico, en las HCA, de otros posibles factores etiológicos: autoinmunes, virus noA-noB, etc.

Los datos del sistema HBeAg/anti-HBe con un 12% de HBeAg positivos para HCA y un 3.8% para HCP más HCS y un anti-HBe de 22% y 35% respectivamente, indican una mayor actividad en la replicación viral para el grupo HCA, la cual se asocia con una mayor agresividad y concretamente peor prognosis.

Hepatopatía alcohólica

Al comparar dentro de este grupo las dos poblaciones consideradas (hepatopatías alcohólicas excluidas las cirrosis y cirrosis alcohólicas), vemos como al aumentar la gravedad pronóstica:

- a).- Aumenta la incidencia global de marcadores de HBV.
- b).- Aumenta la incidencia de marcadores expresivos de infección activa.
- c).- No varía significativamente la incidencia de marcadores indicativos de infección pasada.

Al analizar el sistema HBeAg/anti-HBe se aprecia similar incidencia de anti-HBe en ambas poblaciones, pero el HBeAg solo aparece en la población "cirrosis alcohólica" (3.1%).

Los datos sobre hepatopatía alcohólica están recogidos en -- las páginas 72 a 82.

Como ya se apuntó en el análisis estadístico, las dos poblaciones que integran este grupo son significativamente diferentes respecto del carácter estudiado (presencia de marcadores del HBV en suero), a un nivel de confianza del 95% ($p=0.05$). La tasa global de infección por HBV es en HEPATOPATIAS ALCOHOLICAS (NO CIRROSIS) de 40.4%, cifra que se encuentra más cerca de la de la población control (25.3%), que la de la otra población considerada, CIRROSIS ALCOHOLICAS, que es del 65.6%.

Estos hallazgos sugieren, que dichas poblaciones son seguramente distintas en lo concerniente al rol jugado por el virus de hepatitis B. En tanto que en la primera (hepatopatías alcohólicas excluidas las cirrosis) quizá no exista ninguna causalidad por parte del HBV y sencillamente la mayor tasa de infección que la población control, pueda ser explicada como una consecuencia epidemiológica del comportamiento de este grupo de pacientes, en la segunda población (cirrosis alcohólicas), sí habría que reconocer una fuerte asociación con el HBV que, independientemente de su posible papel etiológico, no pueda ser únicamente explicado a partir de consideraciones meramente epidemiológicas.

Los datos obtenidos por nosotros concuerdan ampliamente con los del grupo de Goudeau A. y Maupas P. en Francia (51), los cuales dan como tasa global de infección por HBV: 31% para bebedores importantes asintomáticos y 55% para cirrosis hepática alcohólica.

Cirrosis

Los datos de marcadores obtenidos en sangre de los distintos pacientes de cirrosis se recogen en las páginas 83 a 102. Un avance de estos resultados ya fué reportado por nosotros en el último

Congreso Nacional de Microbiología (68).

A fines comparativos de esta parte de la discusión excluirémos las cirrosis biliar primaria (GBP) dada su exigua casuística, así como las cirrosis no clasificadas en grupos especificados, por -- considerar que estas últimas constituyen una mezcla de los restantes tipos.

Se ha encontrado una proporción significativamente alta de infección por el HBV para el grupo de las cirrosis, similar a la -- apuntada por otros grupos de trabajo (69).

Observamos que existe una proporción significativamente alta de infección previa por HBV en todos los grupos: 58.3% para las cirrosis micronodulares; 62.5% para la cirrosis macronodular y 70% para las cirrosis mixtas; con una ligera mayor asociación en las cirrosis con componentes macronodulares.

Cuando consideramos los marcadores indicadores de infección activa (HBsAg o anti-HBc sin HBsAg y anti-HBs detectables), como hemos hecho anteriormente, si se observa una clara diferencia entre las C. macronodulares (18.8%), las C. micronodulares (41.6%) y las C. Mixtas (43.3%), con una mayor actividad para las cirrosis con componente micronodular.

Por el contrario, para los marcadores de infección pasada (presencia de anti-HBs sin HBsAg detectable) mientras que las C. micronodulares dan solo un 16.7%, las C. mixtas dan un 26.7% y las C. macronodulares un 43.7%.

Destaca la proporción significativa de anti-HBc como único -

marcador de infección por HBV (25.8%), habiendo sido reportado recientemente resultados análogos (27%) (70).

Al analizar la distribución por edades se observa que no existe una desviación significativa de los marcadores de infección activa o pasada por HBV con la edad, exceptuando una ligera mayor incidencia de HBsAg positivos a edades más tempranas y de anti-HBs en ausencia de anti-HBc en edades más avanzadas.

Cuando se analiza la incidencia de los marcadores HBeAg/anti-HBe en la población de cirrosis, se observa una mayor incidencia de anti-HBe (20.3%) frente a la de HBeAg positivo (3.8%). Dado que está bien establecida, hoy en día, la conversión de HBeAg a anti-HBe en algunas infecciones crónicas por HBV (66), este resultado sugiere, que las infecciones por HBV en las cirrosis tienen una larga evolución.

Hepatocarcinoma:

En la población global de hepatocarcinoma celular (CHC) (pag. 103 a 113), se encuentra una proporción significativamente alta de infección previa por el virus de hepatitis B (70.2%), la mayor de entre las hepatopatías estudiadas por nosotros. Esta cifra es similar a las encontradas en Grecia y Hong Kong (56) e inferior a la registrada por Vargas en España de un 87% (69) y las encontradas en Senegal y Sudáfrica (56).

Al analizar el hepatocarcinoma en hígado cirrótico o no cirrótico, se observa una mayor asociación de marcadores para el HBV en CHC con cirrosis (73.2%), frente a un 62.5% en CHC sin cirrosis.

La proporción de marcadores sugerentes de infección activa es mayor en CHC con cirrosis (39%) que en CHC sin cirrosis (25%). Análogamente ocurre respecto de la presencia de marcadores sugerentes de infección pasada.

Resalta aquí también la alta proporción, 24.6%, de anti-HBe como único marcador de infección previa por HBV, cifra similar a la encontrada en las cirrosis (68).

Al igual que en las hepatopatías alcohólicas, en los hepatocarcinomas, la presencia de cirrosis va asociada a una mayor incidencia de marcadores de hepatitis B.

Al analizar la distribución de marcadores de HBV por edades, se observa una mayor incidencia de los patrones de infección activa (HBsAg y anti-HBe como único marcador) en edades más bajas y de los de infección pasada (anti-HBs solo o acompañado de anti-HBe) en edades más avanzadas.

El predominio de las frecuencias anti-HBe en CHC, puede considerarse como una indicación de un estadio tardío de una infección crónica por HBV. Así, la presencia de anti-HBe no significa una progresión favorable en aquellas enfermedades crónicas con HBsAg positivo (67).

Encontramos una alta asociación entre hepatocarcinoma e infección previa por HBV. Este estimado es un mínimo y es posible que la asociación sea mayor aún, basado ello en resultados de detección de DNA viral integrado en el cromosoma de pacientes con CHC y cirrosis, en cuyo suero no se detectan ningún marcador de HBV por las técnicas de mayor sensibilidad en uso (71).

En lo que hemos visto se hizo referencia a cada una de las - hepatopatías en particular. Si ahora consideramos a todas las hepatopatías conjuntamente (pág. 114 a 117), se ve como la proporción de infección global por el HBV es del 63.1%, la de infección pasada del 30.3% y la de infección activa del 33.4%. Así pues, en contramos una fuerte asociación entre la existencia de hepatopatía e infección por el HBV ($p < 0.0005$).

153

1552

RESUMEN.

RESUMEN

Este trabajo se encuadra en un proyecto que tiene por objetivo el evaluar la implicación de infecciones por virus de hepatitis B en hepatopatías crónicas en humanos.

La aproximación experimental del trabajo consiste en determinar mediante radioinmunoensayos, en sueros de pacientes diagnosticados clínicamente y anatomopatológicamente de hepatitis crónicas persistente y crónica activa, hepatopatía alcohólica, cirrosis y carcinoma hepatocelular, los distintos antígenos y anticuerpos del virus de hepatitis B (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg y anti-HBe). Estos marcadores de infección indican si se trata de infecciones activas o pasadas y en caso de ser activas, el grado de replicación del virus.

Como población control se ha estudiado una de donantes voluntarios de sangre (N = 190). En esta población, con una edad media de 34.2 años, hemos determinado que aproximadamente el 25% ha tenido infección previa por el virus de hepatitis B (HBV). Esta cifra es una indicación de la considerable difusión de este virus en la población española.

En la población estudiada de portadores asintomáticos de antígeno Australia (HBeAg) (N = 92), hemos determinado un 10.8% de casos HBeAg positivos, de ellos en la mitad coexistió el anti-HBe con el HBeAg. En un 86% aproximadamente se detectó solo anti-HBe y en un 3.3% residual no se detectó ni HBeAg ni anti-HBe. Estos

resultados indican que una proporción considerable de nuestros portadores son de alta infectividad, suponiendo las madres portadoras una fuente de hepatitis perinatales que en gran proporción contribuye a nutrir el reservorio de portadores en nuestra población.

En el estudio de la población de hepatitis crónica (N = 100) se determinó una proporción de infección de HBV del 65% , que se distribuye en un 75% para las hepatitis crónica persistente y un 63% para la crónica activa. Los indicadores de infección activa (HBsAg o anti-HBc en ausencia de anti-HBs) alcanzan mayor proporción en la hepatitis crónica activa que en la crónica persistente. En esta población el HBeAg se detecta también con mayor frecuencia en las formas agresivas, en tanto que el anti-HBe es predominante en la hepatitis crónica persistente.

En las hepatopatías alcohólicas (N= 84) se determinó una mayor incidencia de infección por HBV en el caso de las cirrosis alcohólicas, 66%, frente a un 40% en las no acompañadas de cirrosis. En tanto la proporción de infección pasada (anti-HBs solo en presencia de anti-HBc) no varía significativamente entre ambos grupos, - si se observa un aumento significativo de los marcadores de infección activa en el caso de las cirrosis alcohólicas frente a los casos no acompañados de cirrosis.

En la población estudiada de cirrosis (N = 182), la proporción de infección previa (global) por el HBV alcanza niveles significativos sobre la población control, siendo de un 58% para las cirrosis micronodulares, de un 62% para las macronodulares y de un 70% para las micro-macronodulares (mixtas). La proporción de infección pasada es significativamente mayor para las macronodulares (44%)

frente a un 27% en las mixtas y un 17% en las micronodulares. La proporción de infección activa es en cambio, menor en las macronodulares, 19%, elevándose a un 42% en las micronodulares y a un 43% en las mixtas.

En la población de hepatocarcinomas (N = 57) es donde se alcanza una mayor proporción de infección previa por el HBV (70%), con una proporción del 73% en hepatocarcinomas con cirrosis y de un 62% en ausencia de cirrosis. La proporción de marcadores de infección activa es de 39 y 25% en los hepatocarcinomas con y sin cirrosis respectivamente y de un 34 y 25% para el caso de marcadores de infección pasada. Vamos como al igual que ocurre en las hepatopatías alcohólicas, la presencia de cirrosis se asocia a una más alta proporción de infección por HBV.

En el conjunto de todas las hepatopatías estudiadas (N = 423) la proporción de marcadores de infección previa por HBV es de un 63% correspondiendo un 30% para marcadores de infección pasada y un 33% para los de infección activa. Así, se concluye que existe una asociación significativa ($p < 0.0005$) entre hepatopatías crónicas e infección por el HBV. En una tercera parte de los casos estudiados se encuentra indicación de replicación activa del virus. Estos resultados indican que el virus de hepatitis B aparte de ser un importante agente etiológico en hepatitis agudas, está implicado, en nuestro medio, en una variedad de hepatopatías crónicas incluyendo el carcinoma hepatocelular.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Lürman A. (1885). Eine Icterusepidemie. Berl Klin. Wochenschr, 22:20.
- 2.- Krugman S.; Ward R. and Giles J.P. (1962). The natural history of infectious hepatitis. Am. J. Med., 32:717.
- 3.- Blumberg B.S.; Alter H.J. y Visnich S. (1965). A "new" antigen in leukemia sera. JAMA, 191:541.
- 4.- Blumberg B.S. (1977). Australia antigen and the biology of hepatitis B. Science 197:17.
- 5.- Bayer H.E.; Blumberg B.S. y Werner B (1968). Particles associated with Australia Antigen in the sera of patients with leukemia, Down's syndrome and hepatitis. Nature, 218 , 1057 - 1059
- 6.- Prince A.M. (1968). An Antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc, Natl. Acad. Sci. U.S.A. 60:814
- 7.- Giles J.P. et al. (1969). Viral hepatitis: relationship of Australia/SH antigen to the Willowbrook MS-2 strain. N. Engl. J. Med. 281:119.
- 8.- Blumberg B.S. (1968). Australia antigen, hepatitis and leukemia. Tokyo J. Med. Sci. 76:1 .
- 9.- Maynard J.E., Berquist K.R., Krushak D.H. y Purcell R.H. -- (1972). Experimental infection of chimpanzees with the virus of Hepatitis B. Nature 237. 514-515.

- 10.- Marion P.L., Oshiro L, Regnerey D.C., Scullard G.H. y W.S. Robinson (1980). A virus in Beechey ground squirrels which is related to hepatitis B virus of man. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 2941.
- 11.- Mason W.S., Seal G, Sumner J. (1980) Virus of Pekin ducks - with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. J. Virol. 36 .829
- 12.- Werner B.G., Smolec J.M., Snyder R. y Sumner J. (1979). Serological relationship of Woodchuck hepatitis virus to human hepatitis B virus. J. Virol. 32. 314.
- 13.- Le Bouvier G.L. (1971). The heterogeneity of Australia antigen. Journal of Infectious Diseases 123. 671-675
- 14.- Le Bouvier G.L. and Williams A. (1975). Serotypes of hepatitis B antigen (HBsAg); the problem of "new" determinants as exemplified by "c". Am. J. med. Sci. 270. 165
- 15.- Takahasi K., Akahane T., Gotande T., Hishiro M. Imai M., Miyakawa Y. y M. Meyumi (1979). Demonstration of hepatitis B e antigen in the core of Dane particles. J. Immunol. 122. 275-279.
- 16.- Charnay P., Gervais M., Louise A., Galibert F. y P. Tiollais (1980). Biosynthesis of hepatitis B virus surface antigen in Escherichia coli. Nature 286. 893-895.
- 17.- Cohen B.J. y Richmond (1982) Electron microscopy of hepatitis B core antigen synthesized in Escherichia Coli. Nature 296. 677-678

- 18.- Burrell G.J., Mackay P., Greenaway P.J., Hofschneider P.H. y Murray K. (1979). Expression in E. coli of hepatitis B virus DNA cloned in plasmid pBR 322. *Mature* 279. 43-47.
- 19.- Magnus L.O., Espmark J.A. (1972). New specificities in Australian antigen positive sera distinct from the Le Bouvier - determinants. *J. Imm.* 109. 1017
- 20.- Bianchi L. y Gudat F. (1979). Immunopatología of Hepatitis B. In Popper H. and Scheffner (eds) *Progress in Liver Diseases* vol VI. 371 (Grune y Stratton. Nueva York).
- 21.- Rizzetto M., Canese M.G., Arico S., Grivelli O, Bonino F.O., Trepo C.G. y G. Verme (1977). Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (δ /anti δ) associated to the hepatitis B virus in the liver and in the serum of HBsAg carriers. *Gut* 18. 997-1003
- 22.- Krugman S. et al (1979). Viral hepatitis type B. Studies on Natural History and Prevention Re-examined. *The New England Journal of Medicine*, 300. 101-106
- 23.- Beasley R.P., Lin Ch.Ch., Wang K.Y., Hsieh F.J., Hwang L.Y, Stevens C.E., Sun T.S. y W Szmuness (1981) Hepatitis B immunoglobulin (HBIG) efficacy in the interruption of Perinatal - transmission of hepatitis B virus carrier state. *Lancet* ii 388-393.
- 24.- Derso A., Boxall E.H., Tarloco M.J., Flewett T.H. (1978). - Transmission of HBsAg from mother to infant in four ethnic groups. *Br. Med. J.* I 949-952.

- 25.- R. Bueno Vallejos, J. Glez. Sainz, M.L. Celma y R. Fernández Muñoz (1979). Diagnóstico virológico de hepatitis agudas. En sayo para diagnóstico rápido de hepatitis A. VII Congreso Nacional de Microbiología. Cádiz.
- 26.- G. Camarero, L. Suarez, H. Escobar, R. Fernández Muñoz, R. Bueno, J. González Sainz (1980). Acute hepatitis in childhood: usefulness of hepatitis A virus antibodies IgM in early etiological diagnosis of hepatitis A. 13th Annual Meeting European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Capri (Italy).
- 27.- Frosuer et al (1978). Detection of HBeAg and anti-HBe in acute hepatitis B by a sensitive radioimmunoassay. J. med. Virol. 3 . 67
- 28.- Nielsen J.O. et al (1971). Incidence and meaning of persistence of Australia antigen in patients with acute viral hepatitis: Development of chronic hepatitis. New Engl. J. Med. 285 . 1157.
- 29.- Deinhardt, F. (1980). Predictive Value of Markers of Hepatitis Virus Infection. The Journal of Infections Diseases 141 299-304
- 30.- Almeida J.D. and Waterson A.P. (1969). Immune complexes in hepatitis. Lancet, ii, 983-986.
- 31.- Robinson W.S. et al (1980). HBcAg, anti-HBc system, DNA polymerase. In L. Bianchi and other (ed.) Virus and liver. - MTP Press LTD. Lancaster.

- 32.- Gerlich W.H., Luer W. (1979). Selective detection of IgM antibody against core antigen of the hepatitis B virus by a modified enzyme immune reaction. J. Med. Virol. 4 . 227-238.
- 33.- Katchaki J.N. et al (1979). Hepatitis B core antibody in volunteer blood donors: comparison of radioimmunoassay and indirect immunofluorescence. J. Med. Virol. 3 . 275-280
- 34.- Gerlich W.H., Luer W, Thomssen R. (1980). Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. J. Infect. Dis.
- 35.- Hoofnagle J.H. et al (1978). Type hepatitis B after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. N. Engl. J. Med. 298 . 1379-1383.
- 36.- Aldershvile J. et al (1980). Hepatitis Be antigen and antibody measured by radioimmunoassay in acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis. J. Infect. Dis 141. 293-298.
- 37.- L. Bianchi. The immunopathology of Acute Type B Hepatitis - (1981). Spinger seminari in Immunopatologia 3 ; 421-438.
- 38.- Chisari F.V. (1978) Regulation of human lymphocyte function by a soluble extract from normal human liver. J. Immunology. 121 ; 1279
- 39.- Blumberg B.S. et al (1969). Hepatitis and Australian antigen: autosomal recessive inheritance of susceptibility to infection in humans. Proceedings of the National Academy of Sciences, 62; 1108-1115.

- 40.- Zuckerman A.J. (1974). Genetic factors in hepatitis. *Nature*, 248 ; 377.
- 41.- Szmuness W. (1975). Recent advances in the study of the epidemiology of hepatitis B. *American Journal of Pathology*, 81 629-649.
- 42.- Drew J.S. et al (1978). Hepatitis B virus and sex ratio of offspring. *Science* 20, 687-692.
- 43.- Sheila S. (1981). *Diseases of the liver and Biliary System*. 6 ed. Blackwell Scientific Publications.
- 44.- Chadwick R.G. et al (1979). Chronic persistent hepatitis: hepatitis B virus markers and histological follow-up. *Gut* - 20 ; 372-377.
- 45.- Chiaramonte M., Heathcote J., Crees M. and Sherlock S. (1977) Detection by three techniques of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and determination of HBsAg and anti-HBs titres in patients with chronic liver disease. *Gut*. 18 ; 1-6.
- 46.- Nielsen J.O. et al. (1974). Incidence and meaning of the "e" determinant among hepatitis-B-antigen positive patients -- with acute and chronic liver diseases. *Lancet*, *ii*, Report - (7886), 913-915.
- 47.- Sherlock S. (1975). Incidence and clinical significance of "e" antigen and antibody in acute and chronic liver disease. *Lancet*, *ii*, 1171-1173.

- 48.- Redeker A.G. (1978). Advances in clinical aspects of acute - and chronic liver disease of viral origins. In Viral Hepatitis (Ed.) Vyas. G.N. and other pp. 425-429. Philadelphia: - Franklin Institute Press.
- 49.- Grady G.F. et al (1977). Antibody to hepatitis B core antigen in chronic hepatitis and primary biliary cirrhosis: evaluation by a new autologous solid phase radioimmunoassay. - Gastroenterology, 72 ; 590-593.
- 50.- Bories P. et al (1978). Antibody to hepatitis B core antigen in chronic active hepatitis. British Medical Journal. i, - 396-397.
- 51.- Goudeau A., Maupas P., Dubuis F., Coursaget P. y P. Bougnoux (1981). Hepatitis B Infection in Alcoholic Liver Disease and Primary Hepatocellular Carcinoma in France. Prog. med. Virol. 27 ; 26-34 .
- 52.- Sherlock S. (1948). Post hepatitis cirrhosis. Lancet, i , - 817-822.
- 53.- De Groote J. et al (1968). A classification of chronic hepatitis. Lancet, ii, 626-628.
- 54.- Dudley F.F., Schener P.J. and Sherlock S. (1972). Natural - history of hepatitis-associated antigen positive chronic li ver disease. Lancet, ii, 1388-1393.

- 55.- Nielsen J.O. et al. (1974). Incidence and meaning of the "e" determinant among Australia antigen-positive patients with acute and chronic liver disease. *Digestion*, 10 ; 304.
- 56.- Szmuness W. (1978). Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: evidence for a causal association. *Progress in Medical Virology*, 24 ; 40-69.
- 57.- Beasley R.P., Hwang L.Y., Lin Ch.Ch. y Chien Ch. S. (1981). Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. *Lancet* Nov. 21, 1129-1133.
- 58.- Shafnitz D.A., Showval D., Sherman H.I., Hadziyannis J. y Kew M.C. *New England J. Med.* 305 . 1067-1073. "Integration of Hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and Hepatocellular Carcinoma!"
- 59.- Galbraith R.M., Dienstag J.L., Purcell R.H., Gower P.H., Zuckerman A.J. y Williams R. (1979). Non A-non B Hepatitis associated with chronic liver disease in a hemodialysis unit. *Lancet* May 5 , 951-953.
- 60.- Barcena R., Suarez E., Ruiz del Arbol L., Moreira V., Domínguez A., Gil Frande L., García Hoz F., Fernández Muñoz, R. y Zamora C. "A prospective study of Non A- NonB post-transfusion hepatitis. Comunicación al 16th Meeting of the European Association for the study of the liver. Lisboa. Septiembre 1.981.

- 61.- Okuda H., Obata H., Motoiko Y, Hisamitsu T., Fujino N., Takeda K., Hashimoto , Kobayashi S. "Hepatocellular Carcinoma (HCC) presumably associated with Non B Hepatitis Virus infection. Clinical and pathological observation . Communication of Asian Pacific Association for the study of the liver. - Hong Kong. Febrero 1.982.
- 62.- Ayoola E.A., Odeola H.A., Johnson A. OK. "Primary liver cancer (PLC) after NonA-NonB hepatitis. Communication of International Association for the study of the liver. Hong Kong. - Febrero 1.982.
- 63.- Zanetti A.R., Beradira G., Ferroni P., D'Agostino F. y V. - Bianchi (1980). Status and significance of testing for hepatitis B surface Antigen and surface antibody . J. Virol. Methods 2 , 71-83.
- 64.- Papaevangelou G, Karaboyiu-Karafyllidu P. y Kyriakidou A. - (1977). Prevalence and epidemiological significance of antibody to Hepatitis B core antigen in Greece. Am.J. Epid 106,502-506.
- 65.- London W.T., Drew J.S., Lutsbader E.D., Werner B.G. y Blumberg B.S. (1977). Host responses to Hepatitis B infection in patients in a chronic hemodialysis unit. Kidney Internat. 12. 51.
- 66.- Trepo G., Vitvitski L., Hantz O., Blanchy B., Chevalier P., Spetjian M. HBeAg and anti-HBe system. In L. Bianchi, W. Gork, K. Sickinger and G.A. Stalder (ed.). Virus and liver. MTP Press Ltd., Lancaster, 1980.

- 67.- Chen D.S., Sung J.L. y Lay M.Y. (1982). HBeAg y anti-HBe as chronological indication of chronic Hepatitis B infection. - Abstracts of the International Association for the study of the liver. Hong Kong (Chine). Febrero 1.982.
- 68.- R. Bueno Vallejos, V. Moreira, R. Fernández Muñoz (1981). Implicación del virus de Hepatitis B en hepatopatías crónicas. VIII Congreso Nacional de Microbiología. Madrid.
- 69.- Vargas V., Pedreira J.D., Viláseca J., Ruiz J., Esteban R., Hernández J.M., Guardia J. y Bacardí R. (1979). Hepatocarcinoma and Hepatitis virus markers in Europa. Lancet 1 721-722.
- 70.- Enat R. y E. Ben Porath (1981). The role of Hepatitis virus in the ethiology of postnecrotic cirrhosis in Israles. Abstracts of the American Association for the study of liver - diseases. 32nd Annual Meeting. Noviembre 1981. Chigado (USA).
- 71.- Brechot C., Hadchonel M., Scotto J., Fonck M., Potel F., - Vyas G.N. y P. Tiollais (1.981). State of hetpatitis B virus DNA in hepatocytes of patients with hepatitis B surface antigen positive and negative liver disease. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78 , 3906-3910.

