

CUANTIFICACIÓN DE VIRUS B

¿CUÁL ES EL MEJOR MÉTODO?

Dra. Elena Pestano
Gastroenterólogo Pediatra

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) puede ocasionar formas agudas y crónicas de hepatitis, con frecuencia principalmente en niños, la infección cursa de forma asintomática o con síntomas leves e inespecíficos. En otras ocasiones, las personas infectadas desarrollan síntomas de hepatitis aguda que casi siempre se resuelve de forma espontánea después de unos meses, sin dejar secuelas, aunque a veces, el cuadro clínico puede ser grave o incluso, en algunas ocasiones, cursar de forma fulminante o subfulminante con una alta mortalidad.

La infección puede hacerse crónica en el 10 % de los casos, aproximadamente. La persistencia de la infección depende de la edad de adquisición de la infección, ocurriendo en el 90 % de los niños que se infectan al nacer, en el 30 % de los niños menores de 5 años y en el 5 % de los adultos. La evolución de la infección crónica por VHB es muy heterogénea. Frecuentemente, no se observan lesiones histológicas en el hígado de los portadores crónicos del virus, o éstas son poco importantes. Sin embargo, en otras ocasiones el proceso puede evolucionar generando formas más graves de enfermedad hepática como hepatitis crónica, cirrosis hepática o cáncer de hígado.

Los diversos componentes del virus y los anticuerpos generados durante la infección, denominados marcadores de la hepatitis B, aparecen y desaparecen en etapas concretas de la infección y evolucionan en estrecha relación con el curso de la enfermedad.

El análisis de estos marcadores de la infección por VHB mediante pruebas inmunológicas y moleculares es muy útil no sólo para el diagnóstico, sino también para evaluar la situación actual de la enfermedad y valorar la evolución de la misma. Además el análisis de estos marcadores nos permite precisar que pacientes deben ser tratados y cuales no, qué medicamento elegir y establecer la pauta terapéutica más adecuada.

Para el diagnóstico y clasificación de la infección crónica por el virus B se han utilizado una gran variedad de pruebas bioquímicas, serológicas y virales además de las características histológicas.

La determinación de los antígenos de superficie y antígeno e como los anticuerpos contra antígeno de superficie, antígeno e, core total e IgM ha sido ampliamente estandarizado, no así las pruebas de cuantificación del ADN VHB, las cuales tienen diferentes rangos de sensibilidad.

El ADN del virus de la hepatitis B (ADN-VHB) es uno de los llamados marcadores moleculares para determinar infección crónica por VHB.

Es el primer marcador de infección por VHB que se detecta, apareciendo en el período de incubación, entre 2 y 4 semanas antes que el HBsAg. Es el mejor indicador de la replicación vírica ya que se correlaciona estrechamente con la concentración de virus en la sangre y en el hígado. La determinación de la viremia es imprescindible para clasificar de manera adecuada a los pacientes crónicos, siendo muy útil para efectuar el pronóstico de la evolución de la enfermedad y llevar a cabo una correcta selección de los pacientes que pueden beneficiarse de tratamiento antiviral y comprobar la eficacia terapéutica.

Actualmente existen diversos métodos moleculares para detectar y cuantificar el DNA-VHB en el suero o en el plasma. Desafortunadamente el uso de estos métodos tiene limitaciones debidas a las grandes diferencias en relación con su sensibilidad y su intervalo de linealidad, y a la falta de estandarización de las unidades de DNA-VHB usadas. Los métodos menos sensibles son los basados en la hibridación molecular, mientras que los basados en técnicas de amplificación genética tienen mayor sensibilidad. Recientemente se han desarrollado métodos de PCR en tiempo real, muy rápidos y sensibles, con intervalos de linealidad muy amplios que pueden sustituir a los procedimientos anteriores. Aunque no hay un consenso claro en cuanto al significado clínico de los diferentes niveles de DNA-VHB, en general se

acepta, que valores inferiores a 2000-20000 UI/ml se asocian a formas inactivas de infección.

Se han encontrado que individuos con antígeno de superficie positiva para VHB que se habían considerado portadores inactivos, no eran tales, al utilizar técnicas más sensibles basadas en la reacción de cadena polimerasa. La reacción en cadena de la polimerasa amplifica cantidades extremadamente pequeñas de DNA presentes en una muestra, y hace posible su identificación con una sonda.

La infección crónica por virus B es sumamente compleja debido a los diferentes estadios de la enfermedad que se describen, de allí la importancia de disponer de pruebas moleculares con una alta sensibilidad para determinar la presencia del virus B.

El diagnóstico de la infección crónica por VHB viene dado por la presencia del Ags VHB y el ADN VHB en suero, lo que nos va a permitir clasificar si estamos en presencia de un paciente con enfermedad activa o inactiva aunque en ocasiones altas cargas virales de ADN VHB no están relacionadas con enfermedad activa como ocurre en los pacientes inmunotolerantes.

Disponer de pruebas altamente sensibles para la determinación de ADN VHB es sumamente importante para identificar la infección oculta por VHB que se caracteriza por tener Ags VHB indetectables en suero pero ADN VHB positivo en suero o hígado.

Otra situación donde es de gran utilidad la utilización de técnicas altamente sensibles para determinar ADN VHB es en el seguimiento de los pacientes que reciben tratamiento bien sea con análogos de nucleósidos o interferón, ya que en conjunto con los marcadores serológicos nos va a permitir evaluar la respuesta a los mismos.

Aunque los marcadores serológicos han demostrado ser sensibles y convenientes en la detección de infecciones por HBV, no siempre son buenos indicadores de actividad viral. Una de las razones es la relativa alta cantidad de proteínas marcadoras (antígenos y/o anticuerpos) que se necesitan para ser detectados en el laboratorio por los procedimientos actuales.

Este umbral mínimo de proteína necesaria para su detección puede no llegar a presentarse en casos de inmunodepresión, tales como el SIDA, o tratamientos inmunosupresores, y en los períodos de incubación del virus, donde a menudo no hay detección de anticuerpos y/o antígenos.

Estas limitaciones se pueden evitar mediante la detección del ADN viral, que sí está presente en todos estos casos, usando técnicas de biología molecular. Las hibridaciones directas por "dot-blot" o "slot-blot", dan evidencia de presencia viral, pero tienen una limitación de sensibilidad de 30.000 copias de genoma viral.

Recientemente, se ha demostrado que la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real es capaz de detectar, entre una y tres copias de genoma viral, lo que constituye una herramienta útil y sin duda una de las pruebas de uso obligatorio en pacientes con infección crónica por VHB.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Pawlotsky JM. Molecular Diagnosis of Viral Hepatitis. *Gastroenterology* 2002;122:1554-68.
- 2) EASL International Consensus Conference on hepatitis B. 2002. *J Hepatol* 2003;38:533-40.
- 3) Lok ASF, McMahon BJ. Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Chronic hepatitis B: update of recommendations. *Hepatology* 2004;39:857-861.
- 4) Thibault V, Pichoud C, Mullen C, Rhoads J, Smith JB, Bitbol A, Thamm S, Zoulim F. Characterisation of a new sensitive PCR assay for the quantification of viral DNA isolated from patients with hepatitis B infections. *J Clin Microbiol*. 2007 Oct 17.
- 5) Abe A, Inoue K, Tanaka T, Kato J, Kajiyama N, Kawaguchi R, Tanaka S, Yoshida M, Kohara M. Quantitation of hepatitis B virus genomic DNA by real-time detection PCR. *J Clin Microbiol*. 1999 Sep;37(9):2899-903.