

Infección oculta del virus de Hepatitis B: Un enemigo silencioso

Occult Hepatitis B Virus Infection: A Silent Enemy

Monserrat Macías Carballo*

Rebeca García Román**

.....»

Resumen

El Virus de la Hepatitis B (VHB) es el principal factor de riesgo para el desarrollo del carcinoma hepatocelular (CHC). Existen más de dos billones de personas en el mundo con marcadores serológicos del VHB. La infección oculta del VHB es descrita como la presencia del ADN viral del VHB en el hígado de individuos negativos para el antígeno de superficie del virus (HBsAg), comprobados mediante ensayos séricos actualmente disponibles.

Esta infección pasa desapercibida porque posee la característica de tener un bajo número de copias del material genético del virus. Al igual que una infección abierta por VHB, la infección oculta genera las mismas consecuencias patológicas en los portadores crónicos del virus y llega a causar CHC. Sin embargo, muchos de los problemas ocasionados por este tipo de infección son subestimados y no se tiene un panorama general de su dimensión.

Ejemplo claro son las transfusiones sanguíneas de portadores de infección oculta del VHB a pacientes sanos, en ciertas ocasiones inmunocomprometidos que no combaten dicha infección. La sangre contaminada de los donantes no es analizada con la metodología biomédica adecuada que identifiquen su riesgo potencial. Por ello se deben instrumentar normas que regulen la utilización de estas técnicas para el fortalecimiento de los sistemas de vigilancia epidemiológica en Veracruz.

El objetivo de esta revisión es dar un panorama general de la infección oculta por el VHB y las implicaciones a la salud que conlleva su omisión por el diagnóstico no adecuado.

Abstract

The Hepatitis B Virus (HBV) is the major risk factor for development of hepatocellular carcinoma (HCC). There are over two billion people worldwide with HBV serological markers. Occult HBV infection (OBI) is described as the presence of HBV viral DNA in the liver of negative individuals for the virus surface antigen (HBsAg), confirmed by testing serum currently available.

This infection goes unnoticed because it is characterized by having a low number of copies of the genetic material of the virus. As an overt infection, HBV occult infection generates the same pathological consequences in chronic carriers of the virus and can lead to HCC. However, many of the problems caused by this infection are underestimated and there is no an overview of its size.

A clear example of this, is blood transfusion carriers of HBV occult infection in healthy patients, in immunocompromised patients sometimes do not fight the infection. Contaminated blood from donors is not analyzed with the appropriate biomedical methodology to identify their potential risk. Thus, rules governing the use of these techniques to strengthen epidemiological surveillance systems in Veracruz should be implemented.

The aim of this review is to provide an overview of the occult HBV infection and the health implications associated with their omission on inappropriate diagnosis.

Palabras clave: Carcinoma hepatocelular, infección oculta del VHB, cirrosis.

Key words: Hepatocellular carcinoma, Occult HBV infection, cirrhosis.

.....

* Alumna de la Maestría en Salud Pública. Instituto de Salud Pública. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. maciascarballo@gmail.com

** Autora de Correspondencia. Investigadora de Tiempo Completo. Instituto de Salud Pública. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. rebgarcia@uv.mx

Introducción

Uno de los virus mejor caracterizados como factor de riesgo para el cáncer de hígado es el Virus de la Hepatitis B (VHB).¹ La incidencia del cáncer de hígado está directamente relacionada con la prevalencia de infecciones crónicas causadas por VHB.² El tipo de cáncer de hígado más frecuente es el carcinoma hepatocelular (CHC). En el mundo, el principal factor de riesgo para el desarrollo del CHC es la infección causada por los virus de la hepatitis B/C, que poseen dos billones de personas con marcadores serológicos para el VHB, de los cuales más de 360 millones sufren de infección crónica.³ Aproximadamente la tercera parte de la población mundial ha sido expuesta al VHB⁴ y 45% vive en zonas de alta prevalencia. El VHB es uno de los primeros virus ligados a tumores en humanos siendo, junto con el tabaco, los carcinogénicos establecidos y reconocidos por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC, siglas en inglés).

La infección adquirida a edad temprana o neonatal que llega a ser crónica, está implicada en el desarrollo de la inmensa mayoría de los CHC.⁵ Esto explica la alta incidencia de CHC en zonas endémicas del VHB, como Asia oriental y África subsahariana.⁶ Latinoamérica es considerada una zona de riesgo moderado a alto para contraer infección por VHB, con baja prevalencia de infección (< 2.5%).⁷ Sin embargo, la perspectiva real de la prevalencia del VHB está subestimada por los mecanismos no sistematizados establecidos para la vigilancia epidemiológica en países latinoamericanos como México.

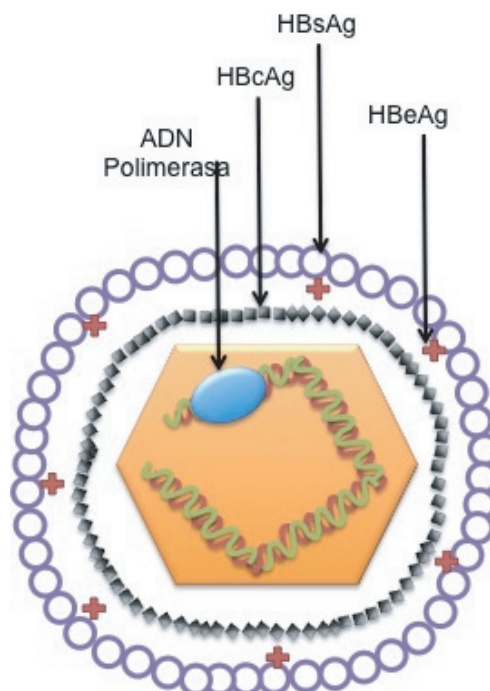
En la actualidad, el CHC es una de las 20 principales causas de mortalidad general en México. Según datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), la tasa de mortalidad por carcinoma de células hepáticas en la República Mexicana en 2009 fue de 1.25 por cada 100 mil habitantes. Por entidad federativa, Veracruz ocupa el primer lugar con una tasa de 2.76 por cada 100 mil habitantes. Aunque en México la Asociación Mexicana de Hepatología determinó, mediante un estudio multicéntrico que el consumo de alcohol y el VHC son los principales agentes etiológicos de la cirrosis hepática, destacando el papel de la infección crónica por VHC en la salud de la población mexicana,⁸ Veracruz no es el estado con la tasa más alta de infección por este virus,^{9,10} tampoco registra las

tasas más altas de prevalencia de abuso de alcohol por entidad federativa (según la Encuesta Nacional de Adicciones, ENA 2008). Estos indicadores evidencian que existirían factores etiológicos no establecidos que favorezcan la aparición del CHC aquí.

Otros factores de riesgo relacionados con la enfermedad varían de acuerdo con la región con impacto directo sobre las características de los pacientes e influencia en el curso de la enfermedad. Algunos de éstos son la hemocromatosis hereditaria, la obesidad, la diabetes mellitus, la cirrosis hepática autoinmune, y las aflatoxinas. Muchos de ellos convergen en el daño crónico al hígado que genera cirrosis hepática de multi-origen y que puede culminar en CHC.

El VHB es un virus altamente infeccioso que pertenece a la familia Hepadnaviridae (Figura 1). Representa al prototipo del género Orthohepadnavirus (*Hepa*: del griego *hepar*, hígado; DNA: siglas en inglés del ácido desoxirribonucleico; Ortho: del griego ortos, recto)¹¹. El virión es esférico, de 40-45 nm de diámetro, en ocasiones pleomórfico. Posee dos zonas, una interna de 27 nm denominada núcleo o core¹² que forma el antígeno del core del virus (HBcAg).¹³

Figura 1. Virus de la Hepatitis B. Componentes principales del virus. Antígeno de superficie del VHB (HBsAg). Antígeno core del VHB (HBcAg). Antígeno e del VHB (HBeAg)



La cápside contiene 240 subunidades proteicas y encierra el genoma del virus y una más externa de composición lipoproteica de 7 nm de anchura, formada por constituyentes de la membrana del retículo endoplásmico (RE) o del aparato de Golgi del hepatocito infectado y por tres glicoproteínas (gp) del propio virus que se anclan en la membrana y se proyectan hacia el exterior de la partícula.¹⁴

El genoma del VHB tiene la cadena de sentido negativo completa y la de sentido positivo incompleta. Se divide en cuatro regiones principales que son fragmentos de lectura abierta (ORF, Open Reading Frame, siglas en inglés) que contiene cuatro genes, C/PreC, S/PreS, X y Pol, que se solapan total o parcialmente entre sí y están controlados por cuatro promotores.

El gen C/PreC codifica para el antígeno core (HBcAg), que forma la cápside del virus, y para el antígeno e (HBeAg) que se secreta y se utiliza como marcador de replicación viral.¹⁵ El gen S/preS codifica para las tres isoformas (grande, mediana y pequeña), del antígeno de superficie (HBsAg) que son generadas a partir de tres codones de iniciación distintos (preS1, preS2 y S). Las regiones preS1 y preS2 representan dos de las regiones más inmunogénicas y variables del HBsAg. Este último es el componente mundialmente utilizado como centinela de infección por VHB. La región S también es altamente inmunogénica, lo que explica que la vacuna contra el VHB esté basada en el desarrollo de la inmunidad celular y humoral contra la proteína HBsAg recombinante.¹⁵

Infección oculta del VHB

La infección del VHB es categorizada en cinco formas clínicas: aguda, crónica, fulminante, asintomática y culta (o también conocida como OBI-Oculta Hepatitis B Virus Infection, según sus siglas en inglés).¹⁶ La OBI se definió en un taller internacional en el año 2008¹⁷ como la *presencia del ADN viral del VHB en el hígado de individuos HBsAg-negativos comprobados mediante ensayos séricos actualmente disponibles*. Donde también se introdujo un valor de corte para el ADN del VHB en suero (< 200 IU/mL).

La prevalencia de OBI varía de acuerdo con la región geográfica, aunque también depende del ensayo

empleado en pruebas de rutina serológica o en ensayos de ácidos nucleicos (NAT, por sus siglas en inglés). La OBI ha sido reportada desde 0.1-2.4 % en donadores sanguíneos de países del este como Estados Unidos (EU), donde solamente 5% de la población ha tenido exposición al VHB.¹⁸ En la población asiática con niveles normales de Alanino Amino Transferasas (ALT), la prevalencia de OBI abarca desde 7.5 hasta 16%.¹⁹ En ciertos grupos de personas, la prevalencia de OBI sería aun mayor si las pruebas fueran realizadas en muestras hepáticas. Incluso la presencia de OBI se ha reportado en 45-50% de usuarios de drogas intravenosas o en pacientes con hemofilia; hasta en 36% en pacientes con hemodialisis,²⁰ 8-51% en pacientes con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)²¹ y aproximadamente de 30-95% en pacientes con hepatitis C crónica negativos para HBsAg.²²

Existen varias explicaciones propuestas para la persistencia del ADN-VHB en individuos HBsAg-seronegativos que incluyen integración del genoma viral en cromosomas del hospedero; mutaciones en región de hélice del gen S (que causarían fallas en el diagnóstico); periodo de ventana siguiente a la infección aguda; coinfección con VHC que compite con VHB; inmunosupresión del hospedero; capacidad pobre de detección de HBsAg en laboratorios; así como kits de pruebas serológicas con baja especificidad y sensibilidad para HBsAg, entre otros.²³

En estudio previo se analizaron muestras hepáticas de personas sin ninguna enfermedad del hígado, mostrando prevalencia de OBI de 17%.²⁴ Esto indica una respuesta inmune del hospedero que mantiene la infección viral bajo control sin manifestaciones clínicas aparentes. Lo anterior se demostró en un estudio que caracterizó la respuesta de los linfocitos T específicos para VHB en pacientes con OBI, encontrándose que pacientes HBsAg-seronegativos pero HBcAg-positivos mostraban una respuesta típica de memoria de los linfocitos T.²⁵

Otras explicaciones que se postulan para el origen del OBI son mutaciones en las regiones de control de la transcripción del dominio de la polimerasa que conduce a decremento en la replicación viral y a baja o nula expresión del HBsAg.²⁶ Se han reportado también en pacientes con OBI, co-infecciones con el VHC o con el Virus de Hepatitis Delta (VHD) que promueven la baja

replicación del VHB reduciendo la síntesis del HBsAg a niveles indetectables en suero.²⁷

Aspectos moleculares asociados con OBI

Las bases moleculares de la presencia de OBI están relacionadas con la persistencia del ADNccc (ADN covalente circular cerrado) durante periodos prolongados en el núcleo de los hepatocitos.²⁸ Se estima una media de copias del material genético por cada hepatocito en aproximadamente 1.5, pero oscila desde <0.01 hasta >50 copias/célula.²⁹ El ciclo de vida del virus es un paso fundamental para el establecimiento del OBI. El ADNccc, una forma replicativa intermedia, persiste en el núcleo de la célula como un episoma cromatinizado muy estable y sirve como templado para la transcripción genética.³⁰

Tanto la estabilidad y persistencia del ADNccc como la vida media larga del hepatocito implican que la infección con VHB posiblemente continúe de por vida en el hospedero.³¹ Sin embargo, la OBI parece estar más ligada a fuerte supresión de la replicación viral, a la expresión genética y a la secreción del virus; en lugar de alta capacidad de integración de su genoma.³²

Los niveles bajos de la actividad replicativa serían el resultado de la presencia de partículas defectuosas, mutaciones en las regiones del control de la transcripción o en dominios de la polimerasa que conducen a ineficiente replicación en conjunto con liberación discordante del HBsAg por los hepatocitos.²⁷ Muchos reportes han encontrado rearrreglos en los genes pre-S1 y S, asociados con expresión reducida de HBsAg; cambios en el gen X que afectan la replicación viral; mutaciones en la región de solapamiento de la región del promotor del gen core que influyen el bajo potencial replicativo y variantes en las secuencias Pre-Core/Core que reducen la eficiencia de la replicación a través de la estructura funcional de la señal epsilon, esencial para la encapsidación pregenómica y el comienzo de la síntesis del ADN del VHB.³³

Las mutaciones en la región del epítipo "a" del gen S se encuentran frecuentemente en muestras de pacientes con OBI y con diferentes enfermedades hepáticas. Se han encontrado sustituciones en la región mayor hidrofóbica (MHR, siglas en inglés) del gen S, las cuales cambian la antigenicidad del HBsAg y/o la infectividad

del virus.³⁴ La participación del gen S ha sido relevante para la infectividad viral del VHB, pues se conoce que los altos niveles del gen S promueven el ensamblaje y la secreción de cantidades excesivas de partículas HBsAg no infecciosas desde la célula independientemente de la liberación del virión.²⁷

En estudio reciente se exploró la metilación del ADN del VHB como un mecanismo celular de defensa para silenciar genomas virales. En relación con esto se encontró que el genoma del VHB de 3.2 kb circular de doble cadena contenía tres regiones CpG-ricos que abarcaban el sitio ATG para el gen del antígeno de superficie, promotor del gene de la proteína X y el sitio ATG de la polimerasa. Incluso se encontraron secuencias metiladas del VHB integrados en el genoma del huésped en muestras de pacientes con CHC asociadas con OBI.^{35,36}

Sin embargo, permanece sin esclarecer si la maquinaria celular utiliza la metilación del ADN para silenciar al genoma del VHB como autodefensa o si el genoma del VHB toma ventaja de la metilación celular para encubrirse de la detección del sistema inmunológico del huésped.³⁷

Adicionalmente se reportó un nuevo evento de splicing alternativo del RNA (deleción de los nucleótidos 2986-202) que suprime la expresión del gen de la proteína de superficie sin afectar a la polimerasa, y a las funciones relacionadas con la proteína core o X. Este splicing genera partículas virales intracelulares sin la proteína de superficie, las cuales subsecuentemente acumulan mutaciones debido a la relajación de restricciones en la codificación. Dichos virus son deficientes en la propagación autónoma y no dejan la célula huésped hasta que ésta es lisada.³⁸

Aunque las bases moleculares para la persistencia del ADN del VHB en ausencia de niveles detectables de HBsAg permanecen sin definir completamente, tampoco se descarta el papel que juega la respuesta inmunológica en la contención de la infección. Se presume que la presión inmunológica humoral y celular sobre las proteínas de recubrimiento del VHB son los principales mecanismos que generan OBI.³⁹

También se ha observado que los pacientes anti HB-c positivos muestran una respuesta típica de los linfocitos T de memoria de protección, sugiriendo que esta

condición representa una infección resuelta con control viral mediada por el sistema inmune. En contraste, no se observó una respuesta VHB-específica de los linfocitos T en pacientes HB-c negativos, sugiriendo la posibilidad de que una infección viral de bajo nivel sería insuficiente para permitir la maduración de la memoria inmunológica de protección.²⁷ También se observó la represión de la transcripción viral por citocinas durante el aclaramiento del VHB que suprime la replicación resultando en la negatividad del HBsAg y en niveles séricos bajos o indetectables del ADN del VHB en presencia de ADN-VHB intrahepático.²⁷

En un estudio en México, por primera vez se analizaron los perfiles de expresión de diferentes citocinas pro y antiinflamatorias en pacientes indígenas con OBI infectados con el genotipo H. Éste reportó un incremento elevado en los niveles séricos de TGF-beta (factor de crecimiento transformante-beta) y una sobreexpresión de IL-2 (inter-leucina-2) encontrada exclusivamente en pacientes con OBI.⁴⁰

La coinfección con el VHC y con el VHD es otro factor viral asociado al mecanismo generador de OBI. Se ha demostrado que la tasa de aclaramiento del HBsAg es 2.5 veces mayor en casos positivos para VHC/HBsAg que en aquellos con sólo infección con VHC, sugiriendo que el VHC es el virus hepatotrópico más importante que potencia el aclaramiento del HBsAg en la hepatitis B crónica.⁴¹ Incluso existe una correlación inversa entre la concentración del RNA del VHC y el ADN del VHB. En personas que han recibido transfusiones sanguíneas infectadas con VHC y VHB, la aparición inicial del HBsAg es a menudo retrasada y posteriormente seguida de un intervalo de detección del HBsAg, y una reducción en los niveles pico del ADN del VHB.⁴²

El CHC y su relación con OBI

Se ha postulado que la OBI es un factor de riesgo importante para el desarrollo del CHC⁴³ debido a que mantiene las propiedades típicas pro-oncogénicas de una infección abierta de VHB.²¹ Bajo todos los contextos de OBI, se alude hacia la persistente infección del VHB durante periodos prolongados en el hígado, provocando una leve pero continua necroinflamación que contribuye con el tiempo a la progresión de cirrosis y de posterior CHC.⁴⁴

El genoma del VHB ha sido detectado en tejido tumoral de pacientes HBsAg negativos con CHC en una prevalencia que va desde 30 a 80%.⁴⁵ También se ha reportado que existe una fuerte asociación entre la presencia de OBI en pacientes con hepatitis crónica infectados con VHC y el desarrollo del CHC, cuando se comparó con pacientes infectados únicamente con el VHC.⁴⁶

En un estudio realizado en Japón se confirmó la existencia sérica del ADN del VHB en pacientes con OBI, como predictor de una tasa alta de carcinogénesis hepatocelular en una cohorte de pacientes con cirrosis no relacionada con el VHB ni el VHC. Ochenta y dos pacientes con cirrosis, quienes mostraban niveles del HBsAg negativos y VHC negativo, se observaron durante una media de 5.8 años. La tasa de carcinogénesis en los pacientes con ADN-VHB positivos fue de 27% y de pacientes ADN negativos fue de 11.8% al final del quinto año, así como de 100% y 17% al décimo año, respectivamente.⁴⁴

También se sabe que la OBI disminuye la respuesta a la terapia con interferón cuando se emplea en pacientes con hepatitis C crónica y acelera la progresión de cirrosis, descompensación hepática y CHC.⁴⁷ Otro estudio en Japón puntualizó a la OBI como factor de riesgo para el desarrollo del CHC en pacientes no cirróticos seguida a la erradicación del VHC con interferón.⁴⁸ Sin embargo no es primordialmente necesaria la presencia del VHC para favorecer el desarrollo del CHC.

En otro estudio realizado en China se detectó HBsAg negativo en 70% de pacientes con CHC en ausencia de infección crónica por VHC.¹⁹ A pesar de todos estos estudios aún permanece en controversia si las pequeñas cantidades de ADN del VHB encontradas en personas con OBI mantienen su potencial oncogénico en ausencia del VHC.²⁷

Las mutaciones en el genoma del VHB también han sido relacionadas con el desarrollo del CHC. En un estudio llevado a cabo en Taiwán, variantes genéticas en los dominios de Pre-S2 (M11 y Q2K) y el potenciador II (G1721A) en el genoma viral se han encontrado en personas con CHC portadoras de OBI comparadas con personas con CHC sin infección por VHB. Este patrón de mutaciones se propuso como marcador viral para CHC en personas con OBI que auxiliarían en la identificación de casos HBsAg negativos con hepatitis crónica progresiva y un alto riesgo de desarrollo de CHC.⁴⁹

Un estudio realizado en seis países con diferente nivel de endemicidad para el VHB, sugirieron que el genotipo C del VHB jugaría un papel importante en la hepatocarcinogénesis en diferentes regiones geográficas y que la detección del genoma sería un asunto importante para esclarecer los agentes etiológicos desconocidos relacionados con el CHC.⁵⁰

Diagnóstico adecuada de OBI

Para el diagnóstico certero de OBI es necesario emplear las técnicas adecuadas que aseguren la presencia del ADN del VHB en el hospedero. Muchas personas han sido diagnosticadas con enfermedades erróneas o incluso no diagnosticadas cuando en realidad un ensayo más sensible para buscar el VHB revelaría otra condición.

Los ensayos de NAT más sensibles detectan OBI en tasas más elevadas que las pruebas utilizadas en generaciones anteriores. En muchos países los ensayos NAT son utilizados de manera rutinaria en el manejo de infecciones por VHB, particularmente para guiar el monitoreo de la respuesta a una terapia antiviral en pacientes infectados crónicamente.⁵¹

La prueba estándar de oro para el diagnóstico de OBI es el ADN del VHB en muestras de tejido hepático colectadas en fresco bajo condiciones apropiadas para procedimientos de amplificación genética.^{17,39} De hecho, el tiempo entre la colecta de la biopsia y el congelamiento del tejido es un factor crítico en la preservación y detección de ácidos nucleicos específicos del virus y éste debería ser menor a los tres minutos.⁵²

Para los ensayos NAT se deben cumplir con condiciones adecuadas desde el aislamiento del genoma viral. La característica del OBI es manifestar niveles muy bajos del genoma viral. El rango de detección de OBI por ensayos NAT se encuentra en una media de 32-62 copias/mL o 5-10 IU/mL. La mayoría de las pruebas de laboratorio comercialmente disponibles (Cobas Taqman 48 HBV, Cobas Amplicor HBV monitor, NGI HBV Superquant, etc.) sólo detectan rangos superiores a 10^3 copias/mL²⁷ y por ello no se diagnostican la mayoría de los casos de OBI.

El límite preferido más bajo de detección (LLOD, siglas en inglés) estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el ADN del VHB es ≤ 5 IU/mL o

~ 30 copias/mL.⁵³ Por tanto, es fundamental utilizar los procedimientos de extracción de material genético viral más eficientes para asegurar la calidad del ensayo. Es obligatorio incluir en estas pruebas controles apropiados de especificidad y sensibilidad en cada corrida. E incluso se recomienda el posterior análisis de secuencia de los amplicones como medida de reforzamiento.

Todos los ensayos dirigidos hacia el diagnóstico de OBI debieran emplear primers que contengan al menos tres regiones genómicas del VHB ampliamente conservadas como el gen S, X y core.⁵⁴ A pesar de dichos estándares internacionales de calidad para la detección del genoma del VHB sigue existiendo una amplia variabilidad en la cuantificación por diferentes ensayos que ocurren aleatoriamente.

Implicaciones en la omisión de OBI

En México no existen datos sobre la tasa de prevalencia del OBI en pacientes diagnosticados con CHC que coadyuven en el esclarecimiento del CHC de etiología desconocida. Se han realizado estudios en poblaciones indígenas⁵⁵ y en donadores de sangre^{56,57} que surgen como punta de lanza en la investigación sobre OBI en México y que dilucidan la existencia de infecciones por VHB no reportadas.

Múltiples resultados de investigaciones clínicas sugieren que los portadores de OBI adquieren y transmiten el VHB mediante dos rutas principales de transmisión: la transfusión sanguínea y el trasplante ortopédico. No obstante, la transmisión del VHB sigue siendo la infección viral más frecuente transmitida por transfusión sanguínea;⁵⁸ incluso el riesgo residual estimado es significativamente más alto que el de la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV-1).⁵⁹

Por ello, es prioritario que las autoridades de salud instrumenten estrategias eficaces que promuevan la detección del ADN-VHB como prueba de tamizaje sustentada por la investigación médica basada en evidencias. Cabe recalcar que en México la actual Norma Mexicana vigente para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos (NOM-003-SSA-1193) en su apartado No. 7.1.4 establece el análisis serológico del HBsAg a través de *cualquiera* de tres diferentes pruebas (ensayo inmunoenzimático, aglutinación pasiva y otras con especificidad y sensibilidad igual o mayor).

Aunque existe un proyecto de Norma no vigente pero muy acertado que sustituye a la anterior (PROY-NOM-253-SSA1-2009), la cual incluye la prueba de amplificación de ADN para la detección del VHB, ésta no sustituye a la prueba de tamizado por ensayos inmunoenzimáticos que incluso aún no siguen considerando al HBcAg como marcador de infección. Actualmente se desarrolló un nuevo inmunoensayo que detecta simultáneamente antígenos PreS1 y/o correlacionados, el cual detecta incluso variantes de HBsAg.⁶⁰

No obstante, la prueba de oro para la detección del VHB y de OBI es sin lugar a dudas la amplificación del ADN del VHB. Con el objeto de estandarizar los ensayos basados en amplificación del ADN del VHB, la OMS diseñó un código estándar (código 97/750) con una potencia de 10⁶ IU (500 000 IU/vial).⁵³ Esto remarca y enfatiza el sentido de la puesta en marcha adecuada de ensayos moleculares para la detección del VHB, pues la OBI se caracteriza por una carga viral muy baja en el plasma sanguíneo (< 200 IU/mL).³⁹

Las repercusiones en la instrumentación de técnicas inadecuadas para el diagnóstico del VHB en los servicios de salud equivalen a una estimación aproximada de la tasa de portadores del virus que distaría mucho de la realidad que se plantea y afectaría seriamente los sistemas de alerta para la vigilancia epidemiológica. Los sistemas de salud nacionales deben estar en constante actualización en el desarrollo e instrumentación de técnicas metodológicas de vanguardia en el mundo que describan una perspectiva real de la situación de salud relacionada con enfermedades de tipo infeccioso.

En resumen, estudios que indaguen la tasa de prevalencia de OBI en pacientes con CHC, permitirán sustentar y dirigir políticas públicas para el fortalecimiento de los sistemas integrales de salud.

Referencias bibliográficas

1. Tan YJ. Hepatitis B virus infection and the risk of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*: WJG. 2011;17:4853-7.
2. Alves RC, Alves D, Guz B et al. Advanced hepatocellular carcinoma. *Rev of Targeted Molecular Drugs*. *Ann Hepatol*. 2011;10:21-7.
3. Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clinical Microbiology Rev*. 2007;20:426-39.
4. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*. 2004;11:97-107.
5. Torre A. Hepatopatía crónica y hepatocarcinoma. *Rev Gastroenterol*. México. 2008;73:58-66.
6. Aguirre I, Fernández J, Fustea L, Torrasb R. Estado actual del hepatocarcinoma y perspectivas futuras; 2010.
7. Valerio J, Vásquez F, Pérez J et al. Prevalence of VHB and VHC serological markers among blood donors in the capital state of Veracruz, Mexico. *Gac Med Mex*. 2009;145:183-7.
8. Méndez N, Aguilar JR, Reyes A et al. Etiology of liver cirrhosis in Mexico. *Ann Hepatol*. 2004;3:30-3.
9. Méndez N, García E, Merino B et al. Liver diseases in Mexico and their associated mortality trends from 2000 to 2007: A retrospective study of the nation and the federal states. *Ann Hepatol*. 2010;9:428-38.
10. Torres K, Burguete A, Madrid V. Liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in Mexico: Impact of chronic infection by hepatitis viruses B and C. *Ann Hepatol*. 2011;10:556-8.
11. Patient R, Hourieux C, Roingear P. Morphogenesis of hepatitis B virus and its subviral envelope particles. *Cell Microbiol*. 2009;11:1561-70.
12. Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced oncogenesis. *World J Gastroenterol*. 2007;13:74-81.
13. Cordeiro N TR, Chiparelli H. Virus de las hepatitis. *Bacteriología y Virología Médica*: 477-513.
14. Liu CJ, Kao JH. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiology and pathogenic role of viral factors. *J Chin Med Assoc*. 2007;70:141-5.
15. Lara E, Moreno R, López M. Role of the hepatitis B virus X protein (HBx) in immune response and tumoral progression. *Gastroenterol Hepatol*. 2003;26:552-61.
16. Song le H, Xuan NT, Toan NL et al. Association of two variants of the interferon-alpha receptor-1 gene with the presentation of hepatitis B virus infection. *European Cytokine Network*. 2008;19:204-10.
17. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008; 49:652-7.

18. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: Science and the occult. *Transfusion*. 2008;48:1001-26.
19. Fang Y, Shang QL, Liu JY et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection among hepatopathy patients and healthy people in China. *J Infection*. 2009; 58:383-8.
20. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40:1072-7.
21. Raimondo G, Pollicino T, Romano L, Zanetti AR. A 2010 update on occult hepatitis B infection. *Pathology*. 2010; 58:254-7.
22. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *The New England J Med*. 1999; 341:22-6.
23. Akarsu M, Kantar FU, Sayiner AA. Occult hepatitis B: Evolving challenges and new perspectives. *Hepatitis Monthly*. 2011;11:475-6.
24. Raimondo G, Navarra G, Mondello S et al. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J Hepatology*. 2008;48:743-6.
25. Zerbini A, Pilli M, Boni C et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 2008;134:1470-81.
26. Fang Y, Teng X, Xu WZ et al. Molecular characterization and functional analysis of occult hepatitis B virus infection in Chinese patients infected with genotype C. *J Med Virology*. 2009; 81:826-35.
27. Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J of Viral Hepatitis*. 2010;17:1-15.
28. Mason AL, Xu L, Guo L, Kuhns M, Perrillo RP. Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. *Hepatology*. 1998;27:1736-42.
29. Laras A, Koskinas J, Dimou E, Kostamena A, Hadziyannis SJ. Intrahepatic levels and replicative activity of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronically infected patients. *Hepatology*. 2006; 44:694-702.
30. Bock CT, Schwinn S, Locarnini S et al. Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *J Mol Biol*. 2001; 307:183-96.
31. Zoulim F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. *J Hepatology*. 2005;42:302-8.
32. De la Fuente RA, Gutiérrez ML, García Samaniego J, Fernández Rodríguez C, Lledo JL, Castellano G. Pathogenesis of occult chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterology: WJG* 2011;17:1543-8.
33. Muroyama R, Kato N, Yoshida H et al. Nucleotide change of codon 38 in the X gene of hepatitis B virus genotype C is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatology*. 2006;45:805-12.
34. Yuan Q, Ou SH, Chen CR et al. Molecular characteristics of occult hepatitis B virus from blood donors in southeast China. *J Clin Microbiology*. 2010; 48:357-62.
35. Vivekanandan P, Thomas D, Torbenson M. Methylation regulates hepatitis B viral protein expression. *J Infectious Diseases*. 2009;199:1286-91.
36. Vivekanandan P, Thomas D, Torbenson M. Hepatitis B viral DNA is methylated in liver tissues. *J Viral Hepatitis*. 2008;15:103-7.
37. Kaur P, Paliwal A, Durantel D et al. DNA methylation of hepatitis B virus (HBV) genome associated with the development of hepatocellular carcinoma and occult HBV infection. *J Infectious Diseases*. 2010; 202:700-4.
38. Van Hemert FJ, Zaaijer HL, Berkhout B, Lukashov VV. Occult hepatitis B infection: an evolutionary scenario. *Virology*. 2008;5:146.
39. Said ZN. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterology: WJG* 2011;17:1927-38.
40. Fierro NA, Román S, Realpe M, Hernández Nazara Z, Zepeda Carrillo EA, Panduro A. Multiple cytokine expression profiles reveal immune-based differences in occult hepatitis B genotype H-infected Mexican Nahua patients. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2011;106:1007-13.
41. Sheen IS, Liaw YF, Lin DY, Chu CM. Role of hepatitis C and delta viruses in the termination of chronic hepatitis B surface antigen carrier state: a multivariate analysis in a longitudinal follow-up study. *J Infectious Diseases*. 1994;170:358-61.
42. Mimms LT, Mosley JW, Hollinger FB et al. Effect of concurrent acute infection with hepatitis C virus on acute hepatitis B virus infection. *BMJ*. 1993;307:1095-7.

43. Shi Y, Wu YH, Wu W, Zhang WJ, Yang J, Chen Z. Association between occult hepatitis B infection and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Liver international. Official J International Association for the Study of the Liver.* 2012;32:231-40.
44. Ikeda K, Kobayashi M, Someya T et al. Occult hepatitis B virus infection increases hepatocellular carcinogenesis by eight times in patients with non-B, non-C liver cirrhosis: a cohort study. *J Viral Hepatitis.* 2009;16:437-43.
45. Paterlini P, Driss F, Nalpas B et al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology.* 1993;17:20-9.
46. Matsuoka S, Nirei K, Tamura A et al. Influence of occult hepatitis B virus coinfection on the incidence of fibrosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Intervirology.* 2008;51:352-61.
47. Chu CJ, Lee SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment. *J Gastroenterol and Hepatology.* 2008;23:512-20.
48. Stroffolini T, Almasio PL, Persico M et al. Lack of correlation between serum anti-HBcore detectability and hepatocellular carcinoma in patients with HCV-related cirrhosis. *American J Gastroenterol* 2008;103:1966-72.
49. Chen CH, Changchien CS, Lee CM et al. A study on sequence variations in pre-S/surface, X and enhancer II/core promoter/precore regions of occult hepatitis B virus in non-B, non-C hepatocellular carcinoma patients in Taiwan. *International J Cancer Journal international du cancer* 2009;125:621-9.
50. Ding X, Park YN, Taltavull TC et al. Geographic characterization of hepatitis virus infections, genotyping of hepatitis B virus, and p53 mutation in hepatocellular carcinoma analyzed by in situ detection of viral genomes from carcinoma tissues: comparison among six different countries. *Japanese J Infectious Diseases.* 2003;56:12-8.
51. Sorrell MF, Belongia EA, Costa J et al. National Institutes of Health consensus development conference statement: management of hepatitis B. *Hepatology.* 2009;49:S4-S12.
52. Madejon A, Manzano ML, Arocena C, Castillo I, Carreno V. Effects of delayed freezing of liver biopsies on the detection of hepatitis C virus RNA strands. *J Hepatology.* 2000;32:1019-25.
53. Baylis SA, Heath AB, Chudy M et al. An international collaborative study to establish the 2nd World Health Organization International Standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification technology-based assays. *Vox Sanguinis.* 2008;94:358-62.
54. Raimondo G, Pollicino T, Levrero M, Craxi A. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2011;54:373-4.
55. Román S, Tanaka Y, Khan A et al. Occult hepatitis B in the genotype H-infected Nahuas and Huichol native Mexican population. *J Med Virol.* 2010;82:1527-36.
56. García BM, Farfán JA, Acosta KY, Puerto FI. Hepatitis B virus DNA in blood donors with anti-HBc as a possible indicator of active hepatitis B virus infection in Yucatan, Mexico. *Transfus Med.* 2005;15:371-8.
57. García Montalvo BM, Ventura-Zapata LP. Molecular and serological characterization of occult hepatitis B infection in blood donors from Mexico. *Annals Hepatology. Official J Mexican Association of Hepatology* 2011;10:133-41.
58. Niederhauser C, Mansouri Taleghani B, Graziani M, Stolz M, Tinguely C, Schneider P. Blood donor screening: how to decrease the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus? *Swiss Med Weekly.* 2008;138:134-41.
59. Candotti D, Allain JP. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatology.* 2009;51:798-809.
60. Yuan Q, Ge S, Xiong J et al. A novel immunoassay for PreS1 and/or core-related antigens for detection of HBsAg variants. *J Virol Methods* 2010;168:108-13.