

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



CESAR VALDEMAR RACANCOJ LOPEZ

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, agosto de 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Detección del HBeAg en donadores positivos para anti-HBc total del
Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente
“San Juan de Dios”, Quetzaltenango**

Informe de Tesis

Presentado por

César Valdemar Racancoj López

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, agosto de 2007

ÍNDICE

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Historia	5
B. Virus de la hepatitis B	6
1. Definición	6
2. Formas de transmisión	7
3. Periodo de incubación	8
4. Genética molecular	8
5. Replicación viral	10
C. Formas de la enfermedad	11
1. Hepatitis B aguda	11
2. Hepatitis B crónica	13
D. Respuesta inmunológica	13
1. Marcadores serológicos del VHB	14
2. Técnicas de laboratorio para determinar marcadores serológicos	18
E. Epidemiología	18
1. Visión general	18
2. Hepatitis B en Guatemala	19
F. Normas de Banco de Sangre respecto a pruebas contra el VHB	21
1. Organización Mundial de la Salud (OMS) y Organización Panamericana de la Salud (OPS)	21
2. Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB)	22
3. Normas de Banco de Sangre de Guatemala	23
G. Red Nacional de Bancos de Sangre	24
H. Transmisión del VHB por transfusiones	26
1. Situación mundial	26
2. Guatemala	26

IV.	JUSTIFICACIÓN	28
V.	OBJETIVOS	29
	1. General	
	2. Específicos	
VI.	HIPÓTESIS	30
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
VIII.	RESULTADOS	39
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
X.	CONCLUSIONES	48
XI.	RECOMENDACIONES	49
XII.	REFERENCIAS	50
XIII.	ANEXOS	58

César Valdemar Racancoj López
Autor



Licda. Gloria Violeta Hidalgo Rivas MSc.
Asesora

Licda. Rosario Hernández
Revisora

Licda. Isabel Gaitán
Revisora

MSc Vivian Matta Ríos de García
Directora

Ph.D. Oscar Cobar Pinto
Decano

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez

Vocal III

Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela

Vocal IV

Br. Ángel Jacobo Conde Pereira

Vocal V

ACTO QUE DEDICO

- | | |
|---|---|
| A Dios y A la Virgen Santísima: | Por darme inteligencia, sabiduría y voluntad para alcanzar este triunfo en mi vida. |
| A mi padre Aparicio Racancoj: | Por su amor, apoyo y esfuerzo. |
| A mi madre Angelina López de Racancoj: | Por su amor infinito, dedicación y apoyo. |
| A mis hermanos Denys Fabricio y Carlos Eduardo: | Por su amor y que este esfuerzo sea un ejemplo de lucha con optimismo y constancia nada es imposible. |
| A mi novia Aura González: | Por su amor y comprensión. |
| A mis abuelos Guadalupe López Mejía y Berta Oroxom de López: | Por sus sabios consejos. |
| A mi abuelo Florentin Racancoj Leiva Q.E.P.D. | Por su cariño. |
| A mis Tíos, Tías y Primos: | Por sus consejos y sugerencias oportunas. |

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la valiosa colaboración prestada en el desarrollo de esta investigación, a las siguientes instituciones y personas:

A la Universidad de San Carlos de Guatemala en especial a mi querida Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por su formación científica para que sea un digno profesional en este campo.

A la Licenciada Gloria V. Hidalgo Rivas, Jefe del Banco de Sangre del Hospital Privado La Democracia Quetzaltenango, por su valiosa asesoría, colaboración y paciencia en la realización del presente estudio.

A las Licenciadas Rosario Hernández, Maria Paula de León, Isabel Gaitán, por su ayuda en la revisión del presente estudio.

Al Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, especialmente al Licenciado Jorge Mario Aguilar por haber permitido realizar este estudio en los pacientes de dicha institución.

A la empresa ROCHE Diagnostic, por la donación de un Kit para la detección de HBeAg por ECLIA y al Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular en Costa Rica (CIBCM) por realizar pruebas de detección del ADN del VHB por PCR.

I. RESUMEN

En Guatemala el reglamento de Medicina Transfusional y Banco de Sangre establece para el tamizaje del virus de la hepatitis B (VHB), únicamente la determinación de antígeno de superficie (HBsAg) en donadores. Sin embargo en algunos bancos de sangre nacionales se realiza opcionalmente la prueba de anticuerpos totales contra el antígeno core (anti-HBc total). La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la salud (OPS) recomiendan que para el tamizaje de donadores se realicen las pruebas de HBsAg y anti-HBc total para reducir el riesgo de infección por VHB.

Para demostrar la importancia de realizar anti-HBc total, se determinó el porcentaje de donadores infecciosos positivos a antígeno “e” (HBeAg), marcador de cronicidad y de replicación viral, en 71 donadores con serología negativa para HBsAg y positiva para anti-HBc total de VHB, del Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango, cuyos sueros fueron recolectados de abril a diciembre de 2004 y las muestras procesadas de enero a octubre de 2005.

Para la determinación de HBeAg se utilizaron tres técnicas diferentes: a) Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA), b) Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y c) Electroquimioluminiscencia (ECLIA). Los resultados de todas las muestras fueron negativas por el método de ELISA. Quince muestras elegidas al azar se enviaron al Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular en Costa Rica (CIBCM), en ninguna de estas muestras se detectó presencia de Acido Desoxirribonucléico (ADN) viral a través de PCR. La empresa ROCHE Diagnostic apoyó la investigación donando un Kit para la detección de HBeAg por ECLIA. Se encontró un donador seropositivo. Este resultado demostró que donadores HBsAg negativos y anti-HBc total positivos pueden ser infecciosos al tener HBeAg positivo, marcador de replicación viral. Estos resultados sugieren una mayor sensibilidad de ECLIA sobre ELISA en el tamizaje de donadores.

En los donadores la principal conducta de riesgo para hepatitis B fue la ocupación, así como otros factores como intervención quirúrgica y un caso que refería ictericia. La principal recomendación de este estudio es que se debe realizar la prueba de anti-HBc total para el tamizaje del VHB en unidades sanguíneas para no transmitir el virus por hemoterapia.

II. INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis B (VHB), pertenece a la familia de los *Hepadnaviridae*, la que incluye virus de ADN encapsulados. El VHB es esférico, mide 42 nm de diámetro y posee varios antígenos de importancia para el diagnóstico y la patogenia. Existen tres principales determinantes antigénicos, el de envoltura que se conoce como Antígeno de Superficie (HBsAg), y dos del núcleo, el Antígeno Core (HBcAg) y el Antígeno “e” (HBeAg) (1).

El VHB tiene un largo período de incubación (45 a 120 días), infecta solamente a humanos provocando trastornos en la función hepática que ocasionan enfermedad aguda o crónica, pudiendo causar carcinoma hepatocelular (2). El virus se transmite por dos rutas diferentes: 1) horizontal: infección transmitida de un individuo a otro parenteralmente, la más común es por contacto sexual y transfusión de sangre; 2) vertical: infección transmitida de madre-hijo durante la gestación, en el momento del parto o a través de la lactancia materna (3-7).

Antes de que se iniciara el control de rutina de este virus en el banco de sangre, era la causa más frecuente de hepatitis asociada a transfusiones (8).

La Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) establece la determinación de HBsAg, anti-HBc, HBeAg y ADN viral para el tamizaje de VHB en donadores de sangre (43,44). El anti-HBc es de mucho valor porque es un marcador serológico que está presente en la mayoría de los casos, además de que muchas cepas de VHB presentan mutaciones y no expresan el HBsAg y HBeAg. Esta prueba no es obligatoria en Guatemala (45).

Debido a la importancia del tamizaje de VHB se han realizado estudios de tesis en el Hospital Roosevelt de Guatemala y en el Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango, para determinar el porcentaje de seropositividad a anti-HBc total en donadores de sangre, estableciendo un ocho por ciento (46,47).

El presente estudio se realizó en donadores del Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango, con el propósito de determinar la importancia de establecer como obligatoria la prueba de anti-HBc total en donadores de sangre. Para ello, se estudió el suero de 71 donadores HBsAg negativo y anti-HBc total positivo para determinar la presencia de antígeno “e” como marcador de infección crónica activa. Para ello, se emplearon las técnicas de ELISA, PCR y ECLIA.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

La naturaleza infecciosa de la hepatitis no fue reconocida durante mucho tiempo, debido a que la enfermedad muestra una tendencia a aparecer esporádicamente y porque la ictericia, un signo clínico importante, presenta una etiología múltiple. Los primeros datos que se tienen, sobre el conocimiento de la hepatitis, se remontan a 1821 donde Virchow la definió como “el resultado de la obstrucción del colédoco por un tapón de moco” y se conocía por “Ictericia Catarral Aguda”. En 1833, Larman describe la “hepatitis sérica”, la cual se transmitió sub-cutáneamente a trabajadores de un astillero en Bremen Alemania, al recibir una vacuna de la viruela que contenía suero humano (1,2).

En 1908 McDonald, postuló que la infección icterica era causada por un virus. En 1942, Voeght transmitió por primera vez la hepatitis, administrando el contenido duodenal de un enfermo a voluntarios. Aproximadamente a mediados del siglo XX fueron descritos nuevos casos de “hepatitis sérica”, relacionados con el uso de agujas y jeringas contaminadas en pacientes diabéticos, clínicas de infecciones de transmisión sexual y después de la administración de vacunas que contenían suero humano. En estudios efectuados entre 1938 y 1944 se encuentran descritas las primeras referencias de la transmisión de la “hepatitis sérica”, por la administración de plasma para inmunoprofilaxis a pacientes con sarampión y paperas y por transfusiones de sangre. Fue así que en 1947 MacCallum clasificó la hepatitis viral en dos tipos: hepatitis viral A (hepatitis infecciosa) y hepatitis viral B (hepatitis sérica) (1,2).

Uno de los descubrimientos más importantes que le dio un rápido avance al conocimiento de la etiología viral de la hepatitis B y a las características propias de la enfermedad, ocurrió fortuitamente con el Dr. Baruch Blumberg y colaboradores en 1965, al descubrir un antígeno en un suero humano, mientras investigaban el polimorfismo de una proteína. El antígeno fue primero aislado en el suero de un aborigen australiano, por lo que fue inicialmente denominado “antígeno australiano”; estudios posteriores llevaron a asociar

a este antígeno con la hepatitis aguda y se le denominó antígeno asociado a la hepatitis (AAH), para finalmente recibir el nombre de antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). En 1970, Dane descubre el virión de la hepatitis y se le denomina “partícula Dane” al mismo tiempo describe el antígeno central o Core. En 1972, Magnius descubre el antígeno “e” y los anticuerpos contra este antígeno. En 1973, se describe la presencia en el Core del virus, del ácido desoxirribonucleico (ADN) por Kaplan y dos años más tarde, en 1975, Summer descubre que el ADN del VHB es bicatenario. En 1976, Alter describe la relación específica del HBeAg con la replicación viral activa del VHB y su alta infectividad. En 1982, Robinson clasifica al VHB dentro de un grupo de virus definido como *Hepadnaviridae*; en ese mismo año Shafritz describe la presencia de ADN del VHB incorporado al ADN del huésped (1-3).

De 1980 a la fecha, el conocimiento científico sobre la infección causada por el virus de la hepatitis B se ha incrementado debido al desarrollo de técnicas de inmunoanálisis aplicadas a la detección de antígenos y anticuerpos relacionados al VHB, tales como el radioinmunoanálisis (RIA), enzimoimmunoanálisis (EIA), y el desarrollo de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es utilizada para la detección y caracterización de ADN viral (3).

B. Virus de la Hepatitis B

1. Definición

El VHB, es el miembro más importante de la familia de los *Hepadnaviridae*, una pequeña familia de virus ADN encapsulados que mide 42 nm de diámetro. Estos virus tienen un tropismo muy limitado en cuanto a tejidos y al hospedero, infectando específicamente el hígado de humanos y chimpancés (*Pan troglodytes*) (4,5).

El VHB provoca un trastorno inflamatorio del hígado caracterizado por ictericia, hepatomegalia, anorexia, molestias gástricas, abdominales, trastornos de la función hepática, producción de heces de color claro y orina oscura (5).

La evolución clínica de la hepatitis B es variable; puede presentarse como una infección asintomática, anictérica (que ocurre en la mayoría de los casos), como una enfermedad aguda, que en ocasiones se complica evolucionando hacia la cronicidad con el consecuente desarrollo de cirrosis hepática o carcinoma hepático, lo que ocurre en el 10 a 20 por ciento de los casos (5,6).

2. Formas de transmisión

La transmisión del VHB se clasifica en dos vías:

1) Horizontal: son las infecciones adquiridas de un individuo a otro parenteralmente, de manera que las más comunes son contacto sexual, transfusión de sangre o componentes infectados, exposición a sangre contaminada a través de heridas con agujas, instrumentos punzocortantes contaminados, tatuajes, perforación del lóbulo auricular, acupuntura o escarificación ritual (7).

2) Vertical: es la infección que es transmitida de madre-hijo, los neonatos pueden infectarse durante la gestación por transmisión placentaria, en el momento del parto o a través de la lactancia materna por pequeñas lesiones en la mucosa oral (7).

En Medicina Transfusional el tamizaje de los donadores es muy importante ya que al no seleccionarlos a través de una entrevista adecuada y no utilizar pruebas de inmunoanálisis para la detección de los marcadores serológicos del VHB, existe el riesgo de transmitir el virus al administrar componentes sanguíneos (células empacadas, sangre completa, plasma simple, plasma fresco congelado, plaquetas y crioprecipitados) contaminados (7,8).

Se ha observado un riesgo elevado de contraer VHB en pacientes politransfundidos, pacientes sometidos a diálisis renal, en unidades de oncología y en instituciones para comunidades sometidas a encierro donde prevalece el hacinamiento (hospitales de salud mental y cárceles) (7).

La capacidad de infección del VHB es directamente proporcional a la carga viral que está presente en la sangre y sus componentes, por esa razón las politransfusiones aumentan el riesgo de infección. Además deben considerarse potencialmente infecciosas todas las muestras y cultivos que lleguen al laboratorio como líquido pleural, amniótico, pericárdico, peritoneal, sinovial, cefalorraquídeo, secreciones vaginales, semen y saliva, ya que se ha determinado que la estabilidad del virus en sangre seca (con carga viral de 10 billones por mililitro) y en superficies contaminadas es de siete días a temperatura ambiente; es por ello que el personal de salud y las personas que están en contacto con fluidos y secreciones de pacientes infectados, son considerados grupo a riesgo de contraer la infección por el VHB (7,8).

3. Período de incubación

En general, el periodo de incubación es de 45 a 190 días, lapso durante el cual no se manifiestan síntomas, pero podrían detectarse virus en el torrente sanguíneo. La fase aguda podría manifestarse con fiebre, erupciones e ictericia, la gravedad y duración de la infección, puede verse afectada por la carga viral con la cual se obtuvo la infección y por la respuesta inmune del huésped (8).

4. Genética molecular

El VHB es un virus ADN encapsulado cuyo genoma contiene ADN circular, parcialmente bicatenario, codifica una transcriptasa inversa y se replica a través del ácido ribonucleico intermediario (ARN); su longitud es de 3,200 nucleótidos y un segmento de cadena única incompleta de 600 a 2,100 nucleótidos (9,10).

El virus de la hepatitis B es el agente etiológico más estudiado y complejo; la partícula infecciosa de Dane tiene un diámetro aproximado de 42 nm y está compuesta por una cubierta y una nucleocápside (9).

La superficie o cubierta del virus mide 8 nm, está formada por proteínas, polisacáridos y lípidos celulares; en ella se encuentra el marcador antigénico conocido como HBsAg (10).

La nucleocápside del virus tiene un diámetro de 28 nm y contiene una nucleoproteína, una molécula de ADN circular de doble cadena (ADN viral), la ADN polimerasa específica de la hepatitis B y una proteína quinasa. En el núcleo del virus hay dos marcadores antigénicos importantes: HBcAg y el HBeAg (9-11).

El genoma del virus está formado por los genes C, P, S y X. El gen C consta de las regiones C y pre-C; la región C codifica al antígeno HBcAg, que es un marcador de replicación viral activa en el núcleo del hepatocito y por esta razón no es detectable en suero. La región pre-C codifica al antígeno HBeAg, que es una subunidad proteica soluble del núcleo y es el segundo marcador serológico en aparecer en la enfermedad. Existe relación entre la mutación en la región pre-C y la expresión del HBeAg. En estudios recientes realizados en Escocia en donadores de sangre, se observó que de los cuatro genotipos de la hepatitis B (A, B, C, D) predominantes en esa región, el genotipo B presenta el mayor porcentaje de mutación en la región pre-C y no se expresa el HBeAg (2,10). En un estudio realizado en Centro América, se determinó que 11 de 17 cepas del genotipo F, tenían mutación en la región pre-C (12).

El gen P codifica la ADN polimerasa específica de la hepatitis B que se encuentra en el núcleo del virus (2,11).

El gen S codifica al HBsAg y presenta las regiones pre-S₁, pre-S₂ y S; este antígeno es producido durante la fase de incubación, fase aguda y en estadio crónico de la enfermedad, siendo el primer marcador serológico en aparecer (2,11).

Recientes estudios con cepas de hepatitis B de Centro América realizando secuenciaciones en el gen S, han establecido que el genotipo F está en el 79 por ciento de las cepas de la región, los genotipos A, D y C están determinados en un 14, 6 y 1 por ciento respectivamente. Un nuevo genotipo designado H, fue establecido en estos estudios; dicho genotipo se conoce en México y California y es muy similar al F; se considera que ambos provienen de un antecesor común del nuevo mundo (13).

El gen X codifica un factor de transactivación que activa la replicación viral y está relacionado con el desarrollo de oncogenicidad (2,11).

5. Replicación viral

El VHB, interactúa con receptores de membrana únicos que se hallan en el hígado. La proteína de enlace del virus es parte del complejo de HBsAg. El HBsAg se une a la albúmina sérica de los humanos y a través de receptores de polialbúmina (pAR) el virus se dirige al hígado (14).

Cuando el virus penetra la célula, la nucleocápside y el genoma se trasladan al núcleo; una vez allí el ADN viral se libera, la cadena parcial del genoma se completa para formar un círculo completo de ADN bicatenario, transcribiendo varios ARNm específicos a través de ARN polimerasa dependientes de ADN del huésped. Se sintetiza un ARNm de transcripción completa, como plantilla para la replicación del genoma viral. La plantilla de ARN y la polimerasa se encapsulan dentro de la nucleocápside, sintetizando una cadena negativa de ADN; el ARN se degrada a medida que se sintetiza el ADN. Posteriormente se sintetiza la cadena positiva de ADN a partir de la plantilla negativa, siempre que se disponga de los nucleótidos celulares. La degradación del resto de ARN continúa en el virión, produciendo un genoma parcialmente bicatenario de ADN. Finalmente el virión es exocitado del hepatocito (14,15).

Además de replicarse, el genoma viral completo puede integrarse al genoma del huésped. Aunque la asociación de la infección del VHB con el carcinoma hepatocelular (HCC) es muy fuerte, no se ha identificado cual es el mecanismo por el cual se produce HCC. El HCC en los individuos infectados con VHB contienen a menudo ADN viral integrado, pero estas integraciones virales se encuentran en diferentes sitios del ADN celular de cada tumor, por esto estas formas virales integradas no se consideran la causa de oncogénesis. La hepatitis B crónica y otros factores de riesgo para HCC, comparten el rasgo común de causar enfermedad hepática necroinflamatoria crónica (provoca necrosis de las células hepáticas, inflamación, regeneración que a veces lleva a cirrosis), y cuando este

proceso patológico continúa durante muchos años, puede llevar a carcinogénesis. Así el papel del VHB en HCC, puede no tener un mecanismo viral oncogénico específico, pero sí como un agente que causa enfermedad hepática necroinflamatoria (14,15).

C. Formas de la enfermedad

El VHB es un virus ADN, pequeño, hepatotrópico, que naturalmente infecta únicamente humanos; este virus y otros que pertenecen a la familia *Hepadnaviridae* tienen una ultraestructura molecular única antigénica y hallazgos biológicos que los distinguen de los virus de otras familias (2,16).

Las infecciones primarias por hepatitis B pueden limitarse por sí mismas y resolverse, ser persistentes durante muchos años, incluso el tiempo de vida del individuo infectado. Las infecciones agudas y crónicas en la mayoría de casos, son acompañadas de antígeno viral detectable y con frecuencia el virus permanece en la sangre. Las infecciones por virus de la hepatitis B son con frecuencia asintomáticas, pero algunos cuadros de hepatitis aguda son sintomáticos con manifestaciones clínicas leves y en algunos casos severas. La infección persistente no activa puede no ser acompañada de enfermedad hepática y en algunos casos presenta manifestaciones leves, pero en la hepatitis crónica activa la enfermedad hepática es común (2,17).

Las expectativas de vida disminuyen en los pacientes con hepatitis crónica por el riesgo significativo del desarrollo de cirrosis y en algunos casos carcinoma hepatocelular. Si bien el VHB no parece infectar otros órganos diferentes al hígado, pueden manifestarse enfermedades extra hepáticas, mediadas por complejos inmunes como la enfermedad del suero, glomérulonefritis y poliarteritis (2,17).

1. Hepatitis B aguda

La infección con el virus de la hepatitis B, en un 25 por ciento de los casos resulta ser una hepatitis viral aguda típica que comienza con anorexia, malestar general, náuseas, vómitos y fiebre; alrededor del 15 por ciento de los casos presenta erupciones cutáneas,

urticarias y artralgias. La ictericia alcanza su punto máximo en una a dos semanas, disminuyendo en forma progresiva en las siguientes dos a cuatro semanas. Un 75 por ciento de casos se produce como infección subclínica, otro 50 por ciento se presenta como una infección asintomática y de 1-2 por ciento se desarrolla como hepatitis fulminante, conduciendo a la muerte. Alrededor de un 90 a 95 por ciento de los adultos infectados con el VHB se recupera sin secuelas posteriores, mientras que entre 5-10 por ciento desarrolla enfermedad crónica (17,18).

El HBsAg es el primer marcador que aparece en la hepatitis B aguda, se identifica durante el período de incubación y alcanza su punto máximo a los tres meses del inicio de la infección; no es detectable aproximadamente a los 6 meses del inicio de la enfermedad clínica (Anexo 1). En un 80 a 90 por ciento de los casos la persistencia del este antígeno por más de seis meses implica la progresión del paciente a un estado de portador crónico (Anexo 1) (19,20).

El HBeAg es un marcador que se detecta tempranamente en las infecciones por el VHB, se identifica poco tiempo después de la aparición del HBsAg, en casi todas las infecciones agudas, la curva de elevación y declinación antigénica, se comporta de forma similar a la del HBsAg (Anexo 1). El HBeAg representa la replicación viral activa y generalmente coincide con niveles elevados de ADN-polimerasa y el ADN viral. Este antígeno es indetectable a los tres meses de iniciar la enfermedad clínica, seguido por la aparición del anti-HBe que puede persistir por meses y hasta varios años (Anexo 1). La persistencia del HBeAg seis meses después del inicio de la infección, es un posible marcador de cronicidad (Anexo 2) (17,18,20).

Antes de que se manifiesten los síntomas clínicos, se produce la primera respuesta inmune del huésped, a través de anti-HBc de tipo IgM, que persisten de ocho a nueve meses después de iniciar la enfermedad clínica (Anexo 1). La detección de este anticuerpo es un marcador serológico importante; que evidencia infección aguda, cuando desaparece el HBsAg y aún no es detectable el anti-HBs (Anexo 1) (18,20).

2. Hepatitis B crónica

La infección por el virus de la hepatitis B puede variar dramáticamente de un individuo a otro. Algunos desarrollan la condición llamada “estado de portador crónico”, siendo infecciosos debido a que no muestran síntomas y anormalidades en los exámenes de laboratorio como transaminasas y tiempos de coagulación; sin embargo poseen marcadores serológicos contra el virus y muestran evidencia de hepatitis en biopsia hepática (17,21).

Algunos pacientes con hepatitis B crónica muestran daños clínicos mínimos o insignificantes en el hígado y nunca desarrollan complicaciones; otros pueden evolucionar a la forma clínica de cirrosis, lo que incrementa el riesgo de desarrollar carcinoma hepático (21,22).

La infección crónica con VHB puede ser “activa” o “inactiva”. En la enfermedad “activa”, existe una replicación viral alta en el hepatocito y en la enfermedad “inactiva” la replicación viral es baja; pero en ambos casos el ADN-VHB es detectable en suero (21).

En la hepatitis crónica activa se identifica en suero el HBeAg y el ADN-HBV, hay una tasa alta de replicación viral; dando como resultado la producción de viriones infecciosos completos. La detección de marcadores serológicos como HBsAg, HBeAg, anti-HBc total y marcadores moleculares como ADN viral por más de seis meses de haber dado inicio la enfermedad clínica, es indicativo de la evolución de una hepatitis aguda a crónica (Anexo 2) (17,21,22).

D. Respuesta Inmunológica

Estudios de infecciones naturales y experimentales por VHB han demostrado varios patrones de infección por este virus: 1) infecciones primarias en adultos que se autolimitan y resuelven completamente en seis meses, 2) infecciones que no presentan manifestaciones clínicas y son detectadas sólo por exámenes serológicos u otros métodos diagnósticos, y 3) infecciones que no se resuelven, se hacen persistentes, permaneciendo por años (16,23).

Una característica común de las infecciones activas por VHB, es la presencia de replicación viral en los pacientes. La respuesta inmune a los diferentes antígenos virales (marcadores de la infección) proporciona valiosa información del estado clínico e inmunológico del paciente (16,23).

1. Marcadores serológicos del VHB

a. HBsAg

El HBsAg es un antígeno complejo de proteínas grandes, medianas y pequeñas que son componentes principales de la envoltura viral. Las proteínas del HBsAg no son sólo componentes de la envoltura del virión si no también son liberadas de las células infectadas como componentes de partículas esféricas pequeñas con diámetro 15-25 nm, y otras en forma de partículas filamentosas de aproximadamente 22 de ancho y 200 nm de largo. Ambos tipos de partículas presentan HBsAg, glicoproteínas, lípidos celulares. Estas formas comparten determinantes antigénicos con la superficie de los viriones y no ha sido establecido en ellas ácido nucléico, por lo que son consideradas partículas virales incompletas (2,16,17,24).

El HBsAg es un antígeno complejo, existen cinco determinantes antigénicos codificados en la secuencia del gen S, siendo éstos: “a”, “k”, “q”, “x” y “g”. El determinante de grupo denominado “a”, presenta dos subtipos que son “d y” y “w r”; los determinantes de cada par son alelos excluyentes. Los cuatro subtipos más frecuentes del HBsAg de acuerdo al determinante “a” son “adw”, “ayw”, “adr” y “ayr”. Adicionalmente “w” presenta heterogeneidad antigénica, algunos serotipos incluyen “ayw₁”, “ayw₂”, “ayw₃”, “ayw₄” y se han identificado en el suero de diferentes pacientes. La determinación de subtipos ha sido utilizada como marcador viral de la propagación del virus entre individuos y poblaciones (2,16,17,24).

Debido a que la célula hepática fabrica un exceso de la estructura del HBsAg, una parte es liberada a la sangre, lográndose detectar por enzimoimmunoanálisis (EIA); los niveles más altos de HBsAg se alcanzan a los tres meses del inicio de la infección. Una evolución favorable consiste en la desaparición del antígeno a los seis meses del inicio de la enfermedad clínica (Anexo 1). Por el contrario, títulos elevados del antígeno más allá de seis a ocho meses, son indicativos de cronicidad (Anexo 2) (17,24,25).

b. Anti-HBs

En una hepatitis B aguda, el HBsAg desaparece a los seis meses del inicio de la enfermedad clínica y el anti-HBs se detecta entre los siete y ocho meses de iniciada la enfermedad clínica (Anexo 1). En pacientes con respuesta de anti-HBs los títulos de anticuerpos se elevan lentamente durante la recuperación y pueden permanecer elevados de seis a doce meses después de la desaparición del HBsAg. Este anticuerpo puede permanecer por años después de la infección del VHB y esta asociado a protección contra reinfección. En aproximadamente el 10 por ciento de los pacientes con antigenemia transitoria el anti-HBs nunca aparece aún cuando se utilicen pruebas de laboratorio altamente sensibles para su detección. De 10 a 20 por ciento de los pacientes presentan el anti-HBs durante la antigenemia, antes de la aparición clínica de la hepatitis. Estos pacientes desarrollan artritis y salpullido por la formación de complejos inmunes (17,26).

c. HBcAg

El HBcAg es detectado solamente en el hepatocito por lo que no es utilizado como marcador serológico. Durante el período de incubación tardío de la infección y durante la enfermedad aguda temprana, la mayoría de hepatocitos son positivos para el HBcAg utilizando biopsia hepática y método de inmunofluorescencia directa. Esto sugiere que en los hepatocitos los viriones se están replicando en la infección aguda temprana (2,27).

d. Anti-HBc

Otro marcador de infección que aparece en todos los pacientes antes de que haya daño hepático es el anti-HBc, anticuerpo dirigido contra el antígeno interno de los viriones. El anti-HBc usualmente se detecta de tres a cinco semanas después que se detecta el HBsAg en el suero y al inicio de la enfermedad clínica (Anexo 1) (2,25-27).

En la hepatitis B aguda resuelta se presentan los anticuerpos de tipo IgM, alcanzando su pico máximo a los dos meses de manifestarse la enfermedad clínica y se hacen indetectables a los ocho meses del inicio de la enfermedad clínica (Anexo 1). El anti-HBc total en su mayoría es de tipo IgG y en una infección aguda resuelta, los títulos descienden de tres a cuatro veces en el primer año de la infección. Utilizando técnicas como la inmunoosmoelectroforesis pueden ser detectados estos anticuerpos de cinco a seis años después de la infección aguda en la mayoría de los pacientes (26,27).

Cuando la hepatitis B evoluciona a crónica ya sea activa ó inactiva, los títulos de anti-HBc total se mantienen más altos que en las infecciones autolimitadas. Si bien la mayoría de anti-HBc en las infecciones persistentes son IgG, los anticuerpos IgM continúan produciéndose en caso de hepatitis B crónica con replicación viral y lesión hepática. Ambos tipos de anticuerpos son detectables como anti-HBc total indefinidamente (Anexo 2) (27).

Algunos portadores del VHB no producen anticuerpos anti-HBc, lo que se considera como un defecto selectivo de la respuesta inmune (28).

Existen estudios que demuestran la importancia de la detección de los anticuerpos anti-HBc, pues se han documentado pacientes con HBsAg negativo y anti-HBc total positivo, quienes podrían transmitir la infección (27,28).

e. HBeAg

El HBeAg es un péptido soluble derivado del “core” viral. En las infecciones agudas resueltas se ha demostrado que este marcador es detectable simultáneamente a pocos días después de la aparición del HBsAg; su curva de elevación y descenso es parecida a la del HBsAg (Anexo 1). El HBeAg declina aproximadamente a las 10 semanas de inicio de la enfermedad clínica (Anexo 1). Usualmente desaparece antes de que desaparezca el HBsAg en infecciones agudas resueltas (Anexo 1). Los pacientes que permanecen positivos para el HBeAg por 10 o más semanas después del inicio de la enfermedad clínica (Anexo 2), se consideran con una infección persistente (2,29-31).

Las infecciones crónicas con presencia de HBeAg son activas, por lo tanto este antígeno es considerado como marcador de replicación viral y cronicidad. Estudios recientes han demostrado que mutaciones en la región Pre-C y promotores del core viral de los diversos genotipos del virus provocan que el HBeAg no se exprese y no se pueda detectar por técnicas de EIA o RIA; el genotipo B es el que presenta mayor porcentaje de mutaciones (88 por ciento) (2,29-31).

f. Anti-HBe

La aparición de anticuerpos anti-HBe en el curso de una infección aguda indica generalmente buena evolución y una baja infectividad del paciente. En la mayoría de los casos es detectable poco antes de que desaparezca HBsAg, pudiendo ser positivo durante varios años después de la infección. El anti-HBe en la hepatitis B aguda resuelta, aparece en la mayoría de los pacientes, cuando el HBeAg se vuelve indetectable o bien, un tiempo breve después de esto. El anti-HBe persiste durante uno a dos años después de la resolución de la infección del VHB (2,31).

En las infecciones crónicas no activas, cerca del 75 por ciento de pacientes presenta anticuerpos anti-HBe y HBeAg negativo (Anexo 2 seroconversión) (31).

2. Técnicas de laboratorio para determinación de marcadores serológicos

En la actualidad, el radioinmunoanálisis (RIA) es la técnica más sensible para la detección de marcadores serológicos de hepatitis B, pero tiene el inconveniente de necesitar un laboratorio para el manejo de radioisótopos. Por ello en nuestro medio se utiliza la técnica de enzimoimmunoanálisis (EIA) para el tamizaje de donadores de sangre, ya que es una técnica que cuenta con una sensibilidad y especificidad satisfactorias para el propósito (16,19,32).

Todos los inmunoanálisis para los antígenos y anticuerpos relacionados con el VHB están basados en diseños en fase sólida: análisis directo del antígeno, análisis directo del anticuerpo o análisis competitivo para el anticuerpo. Todas utilizan anticuerpos monoclonales y antígenos recombinantes. La peroxidasa de rábano picante, con orto-fenilendiamina (OPD) y Tetrametilbenzidina (TMB) como sustrato, es el sistema de EIA más utilizado en los ensayos para determinar la reactividad de marcadores para VHB (19,32).

El ADN-VHB es el marcador más específico para la hepatitis B, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha aplicado en los últimos años como técnica confirmatoria en pacientes con patrones atípicos de los marcadores serológicos y para seguimiento de los pacientes en tratamiento; sin embargo el costo es elevado para nuestro medio (32).

E. Epidemiología

1. Visión general

Alrededor del mundo se estima que más de 300 millones de personas son portadores del VHB; en ciudades desarrolladas del Norte de Europa, Italia y Australia, la infección por el VHB tiene una prevalencia media de 0.5 por ciento y está confinada a grupos con conductas de alto riesgo. El 15 por ciento de los estadounidenses tiene anti-HBs, aunque en la mayoría no hay antecedentes de hepatitis viral (33).

La prevalencia del anti-HBs se incrementa con la edad, como lo demuestra un estudio realizado en residentes del área de Washington D.C.; dicho trabajo demostró que niños lactantes menores de un año de edad no poseían anti-HBs, los niños comprendidos entre 5 a 9 años presentaron un tres por ciento, niños de 10 a 14 años un siete por ciento, adultos de 20 a 29 años un 24 por ciento y en personas mayores de 50 años presentaban un 32 por ciento de seroprevalencia (33,34).

En otras partes del mundo, especialmente países en desarrollo, la hepatitis B es endémica, así, en el oeste de África, en el este de Asia, es común que el 70 por ciento de los niños menores de 15 años tengan evidencia serológica de la infección, con alta predisposición a sufrir las consecuencias a largo plazo (hepatitis crónica, cirrosis o cáncer del hígado). En dichas ciudades el porcentaje de portadores del virus oscila entre 10 y 20 por ciento (33-35).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial para la Salud (OMS), en América Latina la tasa de portadores de HBsAg positivo es alrededor del uno a dos por ciento, en el Caribe existe una prevalencia del cuatro por ciento y del ocho por ciento en el Amazonas. En otros núcleos urbanos de América Latina la prevalencia tiene una media de 11 por ciento (36,37).

2. Hepatitis B en Guatemala

En Guatemala, la información actualizada sobre VHB se obtienen en la primera reunión de consenso de hepatitis viral, llevada a cabo en 1996 en Panamá, donde el Dr. Carlos Mejía (Infectólogo, Jefe de la Unidad de Epidemiología del Hospital Roosevelt, Guatemala), refirió que en un estudio realizado en donadores de sangre de ese hospital entre los años 1989 a 1993, se encontró una seroprevalencia para hepatitis B del 0.4%. Las cifras para 1994, 1995 y los primeros cinco meses de 1996 fueron de 0.5, 0.6 y 0.7 por ciento respectivamente (38,39).

El Dr. Mejía señaló que el porcentaje de portadores del VHB se incrementa por la práctica de conductas de riesgo, la prevalencia obtenidas en 1990 para reclutas del ejército es 2 por ciento, 5.5 por ciento en pacientes que asisten a clínicas de enfermedades de transmisión sexual, 4 por ciento en pacientes politransfundidos y 2 por ciento en un grupo de policías (38,39).

En otro estudio realizado por el Dr. Mejía en 1990, se relacionó el tiempo de práctica hospitalaria con la detección de anti-HBc. Los estudiantes de medicina al ingresar a la facultad presentaron cero por ciento, los residentes e internos presentaron un 3.7 por ciento y médicos con más de 10 años de práctica presentaron un 10.2 por ciento. Además se hizo una separación entre los profesionales con especialidades no quirúrgicas y quirúrgicas, encontrando que el primer grupo presentó un 4.6 por ciento de positividad para anti-HBc y el segundo grupo un 15.4 por ciento (39).

Se evaluaron los factores de riesgo de contagio en los pacientes con Hepatitis B atendidos en el Hospital Roosevelt entre 1994 a 1995 y se determinó que 40 por ciento era por promiscuidad sexual, 33 por ciento se debía a recepción de componentes sanguíneos contaminados, tres por ciento por uso de drogas intravenosas, dos por ciento vía vertical, dos por ciento por accidentes en personal paramédico y 20 por ciento de casos que no se pudo definir el tipo de contagio (38-41).

En 1998, otro estudio realizado en pacientes hemato-oncológicos del Hospital Roosevelt, relacionó el riesgo de adquirir el VHB a través de terapia transfusional; de este modo se reportó el primer caso de infección de hepatitis B adquirido en la unidad de Oncología (40,41).

Los patrones de infección por el VHB son muy variables, pero las formas de transmisión más comunes en el medio guatemalteco son: contacto sexual y recepción de componentes sanguíneos contaminados. El riesgo de adquirir hepatitis es mayor en pacientes politransfundidos, ya que en un estudio realizado en el Hospital Roosevelt en pacientes que

recibieron una a cuatro transfusiones el riesgo es de uno por ciento, mientras que con cuatro o más transfusiones el riesgo es del 30 por ciento (39-41).

La población de Guatemala en general, presenta un 3 por ciento de seropositividad para el HBsAg y un 21 por ciento presenta evidencias de infección en algún momento de su vida (41).

F. Normas de banco de sangre respecto a pruebas contra el VHB

1. OMS y OPS

La OMS y OPS en su Manual para Bancos de Sangre, en el Capítulo 9 relativo al control de Procesos, en el numeral 9.6 de pruebas a la sangre del donante y sub-numeral 9.6.2 que corresponde a las pruebas para prevenir la Transmisión de Enfermedades, establecen (42):

“Los servicios de Banco de Sangre examinarán como mínimo cada donación para:

- a) Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida tipo 1 (anti VIH 1)
- b) Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida tipo 2 (anti VIH 2)
- c) Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg)
- d) Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (anti-HC)
- e) Anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas)
- f) Anticuerpos contra sífilis

Los servicios de Banco de Sangre establecerán y documentarán procedimientos para determinar las pruebas adicionales que se aplicarán a cada unidad de sangre donada, para evitar la transmisión de infecciones a través de las transfusiones de sangre y componentes sanguíneos. Para ello, se tomará en cuenta la situación epidemiológica de la región geográfica, la sensibilidad y especificidad de las metodologías de laboratorio, características de los futuros receptores de componentes sanguíneos. El Banco de Sangre

analizará estos factores en forma permanente y anualmente emitirá un dictamen indicando las modificaciones y los motivos. En caso que no se aplique una modificación a las pruebas, el dictamen deberá indicarlo claramente. Las pruebas que se recomiendan en este enfoque incluyen:

- Anticuerpos contra “Core” de hepatitis B (anti-HBcore)
- Anticuerpos contra malaria
- Anticuerpos contra el virus linfotrópico humano tipo 1 (anti-HTLV 1)
- Anticuerpos contra el virus linfotrópico humano tipo 2 (anti-HTLV 2) (42).

No se transfundirá sangre completa o componentes sanguíneos si uno o más de los resultados de las pruebas de tamizaje es positivo. La aplicación de pruebas confirmatorias se hará con fines de diagnóstico, vigilancia epidemiológica y de investigación. Las muestras de los donantes deberán almacenarse en condiciones apropiadas de acuerdo a regulaciones locales” (42).

2. Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB)

En el Manual Técnico y Estándares, 12 Edición, en la Sección 8 relativa a las pruebas para donadores de sangre, establece (43):

“Exámenes requeridos:

- a) Cada donación de uso alogénico debe ser examinada para el Sistema ABO y Sistema Rh
- b) Si los donadores tienen una historia previa de embarazo o transfusión los sueros deben ser examinados para el rastreo de anticuerpos irregulares
- c) Antígeno de VIH (p24)
- d) Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida tipo 1 (anti VIH 1)
- e) Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida tipo 2 (anti VIH 2)

- f) Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C
- g) Anticuerpos contra el virus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV 1)
- h) Anticuerpos contra el virus linfotrópico humano tipo 2 (HTLV 2)
- i) Anticuerpos contra la sífilis
- j) Antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)
- k) Anticuerpos contra “Core” de la hepatitis B (anti-HBc)
- l) Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para la detección de ADN de VHB
- m) Antígeno “e” de la hepatitis B (HBeAg) para determinar replicación viral activa” (43,44).

3. Normas de Banco de Sangre de Guatemala

El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, en el Reglamento de la Ley de Servicios de Medicina Transfusional y Banco de Sangre, emitido por Acuerdo Gubernativo No. 75-2003, en el Capítulo III relativo al procesamiento de la sangre y sus componentes de la conservación, respecto a pruebas serológicas, establece (45):

“Artículo 13. Pruebas. Toda unidad de sangre sin excepción alguna incluyendo casos de suma urgencia para uso en humanos o en investigación, deberá ser sometida a análisis mínimos, cuyo resultado en la prueba debe ser “no reactiva”, para certificar que no tiene evidencia serológica de enfermedades transmisibles por transfusión sanguínea y serán obligatorias las siguientes (45):

- a) Anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2
- b) Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
- c) Anticuerpos contra el virus de la hepatitis C
- d) Anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas)
- e) Anticuerpos para *Treponema pallidum* (sífilis)
- f) Grupo Sanguíneo y Rh. En casos de Rh negativo deberá ser confirmado.

- g) Cuando los derivados de componentes sanguíneos sea para el uso en pacientes inmunosuprimidos o para exanguíneo transfusión en recién nacidos, deberá investigarse anticuerpos para citomegalovirus.
- h) De acuerdo a los avances en el conocimiento de enfermedades transmisibles por transfusión sanguínea, se agregarán en forma obligatoria todas aquellas pruebas que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, con la Asesoría de la Comisión Nacional de Banco de Sangre, considere necesarias” (45).

La ley de Servicios de Medicina Transfusional y Banco de Sangre de Guatemala no obliga a realizar la prueba de anticuerpos contra “Core” de hepatitis B, como prueba de tamizaje para componentes sanguíneos que son administrados a pacientes que asisten a la Red de Hospitales Nacionales (45).

G. Red Nacional de Bancos de Sangre

Los Hospitales Nacionales que prestan el Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre esta distribuidos en las siguientes regiones (46):

- 1) Región Metropolitana:
 - Hospital General “San Juan de Dios”, Guatemala
 - Hospital Roosevelt, Guatemala

- 2) Región Sur-occidente:
 - Hospital Nacional de San Marcos “Dr. Moisés Villagrán”
 - Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango
 - Hospital Nacional de Totonicapán “Dr. José Felipe Flores”
 - Hospital de Huehuetenango
 - Hospital Nacional de Sololá “Dr. Juan de Dios Rodas”

3) Región Central:

- Hospital Nacional de Chimaltenango
- Hospital Nacional “Pedro de Betancourt”, San Felipe de Jesús, Antigua Guatemala

4) Región de Oriente:

- Hospital Nacional de Guastatoya, El Progreso
- Hospital de la “Amistad Japón-Guatemala”, Izabal
- Hospital Nacional de Jutiapa “Ernestina García Vda. de Recinos” (46)

De la anterior red de hospitales solamente en la región metropolitana y en el Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, realizan la prueba de anti-HBc total en componentes sanguíneos transfundidos (46,47).

En estudios de tesis realizados en el Hospital Roosevelt y en el Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, se determinó que en ambos hospitales hay un ocho por ciento de seropositividad al anti-HBc total (46,47).

El estudio realizado en el Hospital Roosevelt de Guatemala buscaba evidencia serológica de la infección por virus de la hepatitis B en el suero de 1012 donadores (en el periodo comprendido del 20 de enero al 17 de febrero de 2001), a través de los siguientes marcadores serológicos: HBsAg, anti-HBs IgG, anti-HBc IgM, anti-HBc total, HBeAg y anti-HBe. Los resultados fueron los siguientes: 80 muestras positivas para anti-HBc total (8 por ciento), 2 muestras positivas para HBsAg (0.2 por ciento) y 1 muestra positiva para HBeAg (0.1 por ciento), concluyendo que existe un incremento de la captación de unidades sanguíneas positivas a anti-HBc total (46).

En el Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, se estudió la importancia de la detección de Anticuerpos anti-Core del VHB en el suero de 117 donadores negativos a HBsAg (en el periodo comprendido del mes de mayo a agosto de

2003); obteniendo como resultado 14 muestras positivas para anti-HBc total (8 por ciento) donde el 50 por ciento de estos casos positivos pertenece al departamento de Quetzaltenango y el otro 50 por ciento pertenece al área del sur-occidente (47).

H. Transmisión de VHB por transfusiones

1. Situación mundial

En la actualidad la transmisión del virus de la hepatitis B por transfusión de componentes sanguíneos es rara, debido a que la mayoría de los países a nivel mundial ha establecido pruebas de tamizaje (HBsAg y anti-HBc) para los donadores, lo que permite detectar la infección por VHB (48).

La AABB en 1972, estableció como norma obligatoria determinar el HBsAg y entre 1986 y 1987 el anti-HBc, ya que en algunos portadores de VHB es el único marcador serológico detectable. Las técnicas de EIA y RIA permitieron la detección de HBeAg, y posteriormente la técnica de PCR permitió la detección de partículas virales en individuos en período de ventana y estado de cronicidad. Utilizando estos dos marcadores la AABB en 1996, estimó en 1 por ciento la presencia de VHB en 66,000 unidades de sangre tamizadas, mientras que en 1998 el New York Blood Center estimó la presencia del VHB menor al 1 por ciento en 200,000 unidades de sangre. Se estima que un porcentaje reducido de donadores es portador de VHB con niveles indetectables de HBsAg, lo que predispone a un número de receptores a adquirir y desarrollar la infección (48-50).

2. Guatemala

Según las estadísticas de la Comisión Nacional de Bancos de Sangre, la prevalencia de HBsAg en donadotes a nivel nacional se estima entre 0.2 a 1.0 por ciento y para anti-HBc es de 4 a 11 por ciento (51).

La estadística del Banco de Sangre del Hospital Roosevelt realizada de 1990 a 1998, reporta que se atendió 51,858 donadores. Con la implementación de la entrevista y de un examen físico además de las pruebas de tamizaje, se demostró en el año de 1996 que disminuyó la obtención de unidades de sangre positivas a VIH en 0.6 por ciento, para el VHC en 0.8 por ciento y para HBsAg en 0.5 por ciento. Con la introducción de la prueba de tamizaje anti-HBc total en el año de 1995, se observó un incremento en la captación de donadores con antecedentes de infección por VHB, alcanzando en el año de 1999 un 9.43 por ciento de positividad para el anti-HBc total. La población de donadores de sangre por ser una población seleccionada y tamizada no aporta datos reales de la prevalencia del VHB en la población en general de Guatemala (46).

La utilización de anti-HBc en el tamizaje de componentes sanguíneos tiene el propósito de reducir el riesgo de adquirir la infección del virus de la hepatitis B a través de transfusiones sanguíneas; sin embargo las autoridades que administran los diferentes hospitales que prestan el servicio de banco de sangre en su gran mayoría no realizan esta prueba de tamizaje ya que representa un costo económico adicional (46,52).

El único estudio sobre la evidencia serológica de infección por el VHB en donadores de sangre de la región sur-occidental de Guatemala, se realizó en el año 2003 en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, al detectar el marcador serológico anti-HBc total (47). Obtuvieron un ocho por ciento de seropositividad para este marcador serológico; otro aporte significativo del estudio fue establecer la entrevista a donadores y la implementación de la prueba anti-HBc total como rutina en dicho banco de sangre (47).

Las recomendaciones de este estudio fueron realizar PCR y HBeAg al suero de donadores positivos a anti-HBc total, para demostrar que son muestras infecciosas y que existe el riesgo de transmitir hepatitis B a receptores de componentes sanguíneos (47).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los estudios de tesis realizados en el Hospital Roosevelt de Guatemala y Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, indican un ocho por ciento de seropositividad de donadores a la prueba de anti-HBc total; sin embargo, en el reglamento de Medicina Transfusional y Banco de Sangre de Guatemala la prueba no es obligatoria.

El estudio del HBeAg busca darle la importancia al anti-HBc total como prueba de tamizaje para reducir el riesgo de infección por VHB en Medicina Transfusional y Banco de Sangre. El único estudio sobre HBeAg se realizó en el Banco de Sangre del Hospital Roosevelt en el año 2001, con 1012 donadores de los cuales 80 eran positivos a anti-HBc total y 2 positivos a HBsAg y de éstos uno era positivo para HBeAg (0.1 por ciento) (46).

Basándose en la información anterior, este estudio pretende determinar en donadores anti-HBc total positivo y HBsAg negativo, replicación viral activa a través de la detección del HBeAg. La presencia de este antígeno indica el riesgo de contraer VHB a través de la recepción de sangre o sus componentes. Además, muchos receptores son inmunosuprimidos, en quienes la Hepatitis B puede ser una infección letal (46,47).

V. OBJETIVOS

- **General**

Determinar el porcentaje de donadores positivo para anti-HBc total, que presentan HBeAg.

- **Específicos**

1. Detectar el HBeAg en donadores previamente tamizados como HBsAg negativo y anti-HBc total positivo.
2. Establecer en donadores de sangre HBsAg negativos y anti-HBc total positivo, el estado de portador activo a través de la detección de HBeAg.
3. Determinar el porcentaje de donadores positivos a HBeAg, para confirmar la importancia de la prueba de tamizaje anti-HBc total.
4. Establecer conductas de riesgo entre los donadores anti-HBc total positivos y HBeAg positivos, a través de la entrevista que se utiliza en la selección de donadores.

VI. HIPÓTESIS

En los donadores que asisten al Banco de Sangre del HRO, que presentan serología negativa para HBsAg y positiva para anti-HBc total, un porcentaje mayor de 0.1 por ciento es HBeAg positivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Donadores que asistieron al Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios” Quetzaltenango, durante el periodo de abril a diciembre de 2004.

B. Muestra

En el periodo de abril a diciembre de 2004 se aceptaron 1417 donadores, a los cuales se les realizó pruebas de tamizaje de HBsAg y anti-HBc total. De este tamizaje se obtuvo 71 muestras de donadores negativos a HBsAg y positivos a anti-HBc total. Las 71 muestras se congelaron a -30°C en un banco de sueros para la posterior detección de HBeAg.

C. Recursos humanos e institucionales

1. Recursos humanos

- Asesor: Licda. Gloria Hidalgo Rivas Q.B. MSc. Jefe de Banco de Sangre del Hospital Privado la Democracia S.A. Quetzaltenango.
- Tesista: Br. César Valdemar Racancoj López.

2. Recursos institucionales

- Banco de Sangre Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango: Aporta la autorización para trabajar con la población de donadores del mes de abril a diciembre de 2004.
- Banco de Sangre del Hospital Privado la Democracia S.A.: Lugar donde se desarrolló la investigación.
- Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular en Costa Rica (CIBCM): Lugar donde se evaluó presencia de ADN del VHB en 15 muestras tomadas al azar.
- ROCHE Diagnostic: Apoyo la investigación donando un Kit para la detección de HBeAg.

D. Materiales

1. Equipo

- a. congelador para sueros a -30°C marca HAT
- b. refrigeradora para reactivos a 5°C marca Mabe
- c. lector de ELISA marca Strip-Reader
- d. incubadora marca Lab-Line

2. Reactivos

- a. Kit ELISA *ImmunoLISA ORGENICS*, inmunoensayo enzimático de tercera generación (ELISA) para la detección de antígeno “e” del virus de la hepatitis B. Código: 40264000, Versión 264/E2 y Formato 1X96 tests, con fecha de vencimiento 05/2006.

3. Cristalería

- a. 100 viales de plástico con capacidad de 1.5 mL
- b. micropipeta automática de 40 a 200 μL
- c. micropipeta automática de 200 a 1000 μL
- d. pipetas volumétricas de 10 mL
- e. probetas de 500 mL
- f. 1 bolsa de puntas nuevas

4. Materiales

- a. caja de guantes descartables
- b. lentes de seguridad
- c. marcadores permanentes

- d. 1 rollo de masking-tape
- e. 1 rollo de papel para impresión de resultados del lector de ELISA

E. Métodos

1. Entrevista

Esta se realizó a todos los candidatos a donadores que fueron aceptaron según las normas vigentes de selección del Banco de Sangre. La entrevista es la que se utiliza de rutina para la selección de donadores en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente; evalúa el estado físico determinando peso, presión arterial, pulso, temperatura; datos generales de pruebas de laboratorio como hematocrito, grupo sanguíneo y Rh y antecedentes de conductas de riesgo para VIH 1 y 2, VHB, VHC, Chagas y Sífilis (Anexo 3).

2. Toma de muestra

Se realizó de acuerdo al procedimiento establecido por el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente:

- 1) Se obtuvo 10 cc³ de sangre para el tubo piloto (con agilizador del coágulo), y se determinó el hematocrito, grupo sanguíneo, Rh y pruebas serológicas de HIV 1+2, HBsAg, anti-HBc total, VHC, Chagas y Sífilis.
- 2) Se recolectaron y almacenaron las unidades sanguíneas a 5⁰C.
- 3) Los sueros de donadores negativos a HBsAg y positivos a anti-HBc total se almacenaron a -30⁰C para la detección posterior del HBeAg.

3. Detección de Antígeno “e” del virus de la hepatitis B

3.1 Método ELISA

Se detectó el antígeno “e”, utilizando la técnica de ELISA de captura ^❶, la cual se realizó de la siguiente forma:

- a) Se colocó un pozo vacío para el blanco de reactivo.
- b) En cada uno de los siguientes tres pozos, se colocó 100 µL de control negativo.
- c) En el siguiente pozo se colocó 100 µL de control positivo.
- d) A partir del pozo 6, se colocó en cada pozo 100 µL de cada muestra, utilizar tantos pozos como muestras a correr.
- e) Se incubó la placa por 60 minutos a 37 °C.
- f) Se lavó la placa en forma manual, colocando aproximadamente 300 µL de la solución de lavado, 5 veces por 30 segundos.
- g) Se agregó 100 µL de conjugado diluido, excepto en el pozo para blanco.
- h) Se incubó la placa por 60 minutos a 37 °C.
- i) Se lavó la placa 3 veces, como en el lavado indicado en el inciso f).
- j) Se agregó 100 µL de TMB / H₂O₂ en cada pozo de la placa, incluyendo el pozo para blanco.
- k) Se incubó la placa por 20 minutos a temperatura ambiente y en obscuridad.
- l) Se agregó 100 µL de solución de parada en cada pozo de la placa para detener la reacción.
- m) Se leyó la absorbancia de la placa en un lector de ELISA con filtro dual de 450 nm y 630 nm.
- n) Se interpretó los resultados en base a los valores establecidos como punto de corte a partir del cut-off.

^❶ **Kit ImmunoLISA HBeAg ORGENICS**, Código: 40264000, Versión: 264/E2 y Formato 1 X 96 tests y con fecha de vencimiento 05/2005.

3.2 Detección del ADN VHB por PCR[®]

Se detectó el ADN viral a través de la amplificación de la región “s” del virus de la hepatitis B. Para ello se realizaron las siguientes fases:

a) Extracción del ADN viral del suero de 15 donadores tomados al azar: La extracción del ADN viral se realizó utilizando proteinasa K, solución de lisis y etanol al 95%.

b) Amplificación de la región “s” del virus de la hepatitis B: Se utilizó el ADN extraído de cada muestra de los donadores y se realizó diluciones 1:10 y 1:100 con agua ultra pura con el objeto de detectar el número de copias virales por mililitro.

Se utilizó un control positivo (ADN clonado correspondiente a la región “s” del VHB) y un control negativo (ADN humano) para cada una de las 15 muestras.

Para la amplificación del ADN viral se agregó solución amplificadora que contenía un cebador anterógrado (5'), un cebador inverso (3') del gen “S” (el nombre referido por el CIBCM fue sistema AMSO1Q, la secuencia de nucleótidos para ambos cebadores no fue reportada), dinucleótidos trifosfato (dNTPs), buffer Tris-HCl, cloruro de potasio (KCl), cloruro de magnesio (MgCl₂), Triton X-100, Azida de sodio 0.05% y Taq polimerasa.

Se utilizó un ciclador térmico (Techne FTGO2TD) y un protocolo que constaba de un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 3 minutos y 35 ciclos de amplificación cada uno constando de una fase de desnaturalización a 95 °C por 35 segundos, unión de los cebadores a 58 °C por 30 segundos y síntesis de ADN a 72 °C por 40 segundos. El producto amplificado era de 452 pares de bases (pb).

c) Revelado de los productos amplificados: A cada muestra amplificada de los sueros como de control positivo y negativo se agregó solución de marcaje y se le corrió una electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio. Además se corrió un marcador de peso molecular. La electroforesis se llevó a cabo en una cámara de electroforesis (SEA 2000) y una fuente poder (Bio Rad Modelo Power Pack 300) por 2 horas a 120 voltios. Se colocaron los geles en el trans-iluminador y se les tomó fotos.

d) Interpretación: La validación de la prueba para el análisis del ADN VHB por PCR en el suero de 15 donadores, fue confirmada al observar que el control positivo presentaba una banda que correspondía a 452 pb en el marcador de peso molecular (Anexo 5). El control negativo no presentaba ninguna banda lo que excluía cualquier posibilidad de contaminación o falsos positivos.

Los sueros amplificados de los donadores si solamente mostraban una banda de 452 pb en la muestra no diluida, tenían una concentración viral de $3-5 \times 10^2$ copias/ml. Si la banda aparecía en la muestra no diluida y en la dilución 1:10 la concentración viral era de $3-5 \times 10^6$ copias/ml y si la banda aparecía en la muestra no diluida, en la dilución 1:10 y también en la dilución 1:100 la concentración viral era de $3-5 \times 10^9$ copias/ml.

❷ *Información proporcionada por CIBCM de Costa Rica.*

3.3 Detección de HBeAg a través de ECLIA[®]

El método de ECLIA se realizó en una forma totalmente automatizada en un equipo Roche Elecsys 2010.

- a) Se llevó a temperatura ambiente los reactivos refrigerados. El analizador realizó automáticamente los procesos de atemperar, abrir y tapar los frascos.
- b) Se colocaron los calibradores Cal 1 (calibrador negativo suero humano) Cal 2 (calibrador positivo HBeAg recombinante), un control positivo, un control negativo y las 71 muestras del estudio.
- c) La duración del procedimiento en el aparato fue de 18 minutos, llevándose a cabo los siguientes pasos:
 - **Primera incubación:** Fueron tomados en forma automatizada 35 μ l de calibradores, controles y muestras. El test Elecsys HBeAg emplea anticuerpos monoclonales

anti-HBe marcados con biotina, que se unen al HBeAg y luego utiliza un segundo anticuerpo monoclonal marcado con rutenio, para formar un complejo sándwich.

- **Segunda incubación:** Después se incorporó micropartículas recubiertas de estreptavidina, fijándose el complejo a la fase sólida por la interacción entre biotina y estreptavidina. La mezcla de reacción fue trasladada a la célula de lectura, donde por magnetismo, las micropartículas se fijaron temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminaron posteriormente con el buffer Pro Cell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produjo una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se midió directamente con un fotomultiplicador.
- **Interpretación de resultados:** El software Elecys proporcionó automáticamente los resultados efectuando la comparación de la señal de electroquimioluminiscencia con el valor límite discriminatorio basándose en la medición de Cal 1 y Cal 2. Los resultados se indicaron como reactivos y no reactivos y también a través de un valor de índice discriminatorio. Muestras con un índice discriminatorio < 1.0 fueron no reactivos y con un índice ≥ 1.0 fueron reactivas.

Ⓢ **Kit ROCHE, método ECLIA para determinación de HBeAg.** Catálogo 11820583 con fecha de vencimiento 10/2005.

4. Diseño de la investigación

El estudio fue de tipo descriptivo transversal, en el cual se analizaron muestras obtenidas a partir de donadores que asistieron al Banco de Sangre del Hospital Regional, durante los meses de abril a diciembre de 2004.

4.1 Muestra y diseño de muestreo

El promedio anual de donadores que asiste al Banco de Sangre del HRO es de 2000. Basándose en este dato y utilizando el programa Epi Info versión 6.0, se estableció que el número mínimo de muestra (n) necesario para que el estudio fuera representativo de la

población estudiada era de 46 ($n = 46$); esto permitió establecer los valores estadísticos que respalden la representatividad del estudio, con un nivel de confianza de 95 por ciento, un límite de error de 0.001 (1%) y una frecuencia esperada de 0.1 por ciento.

En el periodo de abril a diciembre de 2004 se aceptaron 1417 donadores, a los cuales se les tamizó para HBsAg y anti-HBc total, donde se obtuvo 71 muestras negativas a HBsAg y positivas a anti-HBc total; este número de muestras cubrió la población mínima ($n = 46$), que debió estudiarse para que el estudio fuera representativo.

El diseño de muestreo, fue por cuota (todos los que llegaron), donde 71 donadores cumplieron los criterios de inclusión, recolectando la muestra en el período comprendido de abril a diciembre de 2004.

4.2 Análisis de resultados

La estimación de la frecuencia del porcentaje de positivos para HBeAg, posee un intervalo de confianza del 95 por ciento.

Se realizó prueba de hipótesis, de la proporción, de la población positiva a HBeAg, utilizando la distribución normal, con un nivel $\alpha = 0.05$. Donde:

$$H_0: p > 0.001 \text{ (Hipótesis nula)}$$

$$H_A: p < 0.001 \text{ (Hipótesis alternativa)}$$

Adicionalmente se realizó un análisis con estadística descriptiva, utilizando tablas y porcentajes.

VIII. RESULTADOS

De los 1,417 donadores entrevistados y estudiados serológicamente en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango 71 casos llenaron los requisitos de ser HBsAg negativo y anti-HBc positivo para constituir la muestra del estudio (Tabla 1).

Tabla 1

Resultados serológicos para Hepatitis B de donadores estudiados de abril a diciembre 2004, en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango (n = 1417)

HBsAg negativo /anti-HBc positivo	HBsAg positivo /anti-HBc positivo	HBsAg negativo /anti-HBc negativo
71	6	1340
5.01 %	0.42 %	94.56 %

Fuente: Informe serológico del Banco de Sangre del HRO, de unidades sanguíneas extraídas de abril a diciembre de 2004 y que fueron positivos a los marcadores del VHB.

De las 71 muestras evaluadas para la presencia de HBeAg, utilizando el método de ELISA, ninguna dió un resultado positivo (Tabla 2).

Ninguno de los 15 sueros tomados al azar y enviados a Costa Rica para detectar la presencia de ADN viral a través de la técnica de PCR fue positivo (Tabla 2).

De las 71 muestras corridas por el método de ECLIA, una (1.4 %) fue reactiva con un índice discriminatorio de 1.17 y 70 (98.6 %) fueron no reactivas con índice discriminatorio promedio de 0.088 (Tablas 2 y 3).

Tabla 2
Evaluación de HBeAg en donadores HBsAg negativo y anti-HBcore positivo (n = 71)

Metodología	Positivo	%	Negativo	%
ELISA	0	0	71	100
PCR*	0	0	15	100
ECLIA	1	1.4	70	98.60

*Se evaluaron 15 muestras al azar por esta técnica.

Fuente: Datos experimentales

Tabla 3
Interpretación de muestras reactivas y no reactivas por ECLIA para HBeAg en donadores HBsAg negativo y anti-HBcore positivo (n = 71)

Índice discriminatorio	Interpretación	Número de casos (%)
≥ 1.0	Reactivo	1 (1.40 %)
≤ 1.0	No reactivo	70 (98.60 %)

Fuente: ROCHE Diagnostic catálogo 11820583.

Los motivos de donación en 71 donadores positivos para anti-HBc total se clasificaron en donación familiar o reposición, donación remunerada o profesional y la donación voluntaria. Se obtuvo el mayor porcentaje de casos de donación familiar o reposición (Tabla 4).

Los rangos de edad, donde se realizó el mayor número de donaciones fue entre los 21 a 30 y 31 a 40 años (Tabla 4).

Dentro de los antecedentes que relacionan a los casos positivos para anti-HBc con factores de riesgo para contraer la infección, se encontró ocupaciones de riesgo alto, intervención quirúrgica y un caso que refería historia de ictericia (Tabla 4).

De acuerdo a las encuestas realizadas a los 71 donadores positivos a anti-HBc total, 33.8 % habían donado una vez o más con anterioridad. Algunos de esos casos habían donado en el mismo Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente (Tabla 4).

Tabla 4
Factores de riesgo y algunas características demográficas en donadores HBsAg negativo y anti-HBcore positivo (n = 71)

	No. De donadores	%
Edad (rango)		
18 - 20	3	4.2
21 - 30	24	33.8
31 - 40	24	33.8
41 - 50	20	28.2
51 - 55	0	0.0
Motivo de donación		
Familiar o reposición	37	52.1
Profesionales o remunerados	34	47.9
Ocupación		
Policías	4	5.6
Enfermeras	1	1.4
Ocupación de Bajo Riesgo	66	92.9
Factores de Riesgo		
Intervención quirúrgica	2	2.8
Referencia de ictericia	1	1.4
Donaciones realizadas anteriormente		
Ninguna	40	56.3
Una	24	33.8
Dos o más	7	9.9

Fuente: Información obtenida de la entrevista a donadores del Banco de Sangre del HRO “San Jun de Dios”, Quetzaltenango de abril a diciembre de 2004 (Anexo 3).

De los donadores positivos para anti-HBc se observó que la mayoría procedía de Quetzaltenango, otros procedían de otros departamentos de la región sur occidental, Cobán y de Chiapas México (Tabla 5).

Tabla 5

Algunas características demográficas en donadores HBsAg negativo y anti-HBcore positivo

Lugar de procedencia	Número de donadores	%
Quetzaltenango	41	57.7
Sur-occidente (San Marcos, Mazatenango, Retalhuleu, Sololá, Totonicapán, Huehuetenango)	27	38.0
Alta Verapaz	1	1.4
Chiapas, México	2	2.8

Fuente: Información obtenida de la entrevista a donadores del Banco de Sangre del HRO “San Jun de Dios”, Quetzaltenango de abril a diciembre de 2004 (Anexo 3).

El caso positivo para HBeAg era originario de San Juan Ostuncalco municipio de Quetzaltenango, 38 años de edad y ya había donado en una oportunidad en el mismo Banco de Sangre.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de esta investigación revelan que de 1417 donadores estudiados serológicamente para el virus de la hepatitis B, el 5.01 por ciento (71 casos) presentaron una infección crónica al ser HBsAg negativo pero anti-HBc positivo (Tabla 1). Este último marcador indica que el donador estuvo expuesto al virus en algún momento de su vida y la respuesta inmune fue la producción de anticuerpos inicialmente IgM y luego IgG contra el antígeno interno de los viriones (HBcAg). Cuando la hepatitis B evoluciona a crónica ya sea activa o no activa, los títulos de anti-HBc total se mantienen más altos que en las infecciones autolimitadas, por lo tanto estos anticuerpos son detectables indefinidamente a lo largo de meses o años (2,26,27).

La detección del antígeno “e” en los 71 donadores negativos a HBsAg y positivos a anti-HBc total por el método de ELISA, PCR y ECLIA permitiría detectar cuántos de estos donadores crónicos era de tipo activo o infeccioso (Tabla 2). Al realizar a estos sueros la técnica de ELISA no se obtuvo resultado positivo. Esto pudo deberse a factores tales como:

- a) Por falta de estandarización de la técnica previo a correr las muestras, todas las muestras fueron positivas y por tanto se realizó cambios en la técnica incrementando el tiempo de los ciclos de lavado. Al incrementar el tiempo de lavado pudo provocarse una disminución de la sensibilidad de 0.5 U IPE/ml y no detectar sueros positivos al antígeno “e”.
- b) La expresión del HBeAg se ve afectada por mutaciones en la región pre-C y C del genoma del virus, dando como resultado que los donadores con infección crónica activa presenten títulos de HBeAg por debajo de los niveles de detección.
- c) Las mutaciones en la región pre-C y C producen diferentes expresiones virales, siendo algunas no detectadas por las pruebas de ELISA. Estas mutaciones se dan principalmente en los genotipos B y F. Estudios moleculares han establecido que en

Centro América el genotipo F está presente en un 79 % de las cepas de la región (2,11,12).

Debido a que los 15 sueros enviados a Costa Rica fueron negativos para la detección de ADN viral no se pudo comprobar replicación viral (Tabla 2). Entre estos sueros no estaba el del donador que fue positivo a HBeAg por método de ECLIA. Los estudios de biología molecular no son accesibles económicamente para nuestro medio ya que el valor cotizado para una muestra tratándose de una investigación era de Q 500.00. Actualmente no existe ningún método comercial por PCR para amplificación del ADN del virus en la región pre-C y C, ya que éstos son detectables únicamente en los hepatocitos (9-12). Estos 15 sueros también fueron negativos para HBsAg por ELISA.

El detectar una muestra reactiva para HBeAg por el método de ECLIA (Tabla 2 y Tabla 3) permitió demostrar que de los 71 donadores con hepatitis crónica, uno (1.4%) era de tipo activo o infeccioso. Este resultado fue negativo en ELISA, lo cual pudo deberse a:

- a) ECLIA es un método más sensible y específico que ELISA, ya que posee una sensibilidad mayor de 0.3 U IPE/ml y una especificidad del 100%.
- b) El procedimiento de ECLIA se llevó a cabo en un equipo completamente automatizado, lo cual minimizó errores analíticos que están presentes en un ELISA realizado manualmente.

Los resultados obtenidos en el donador HBsAg negativo, anti-HBc total positivo y HBeAg positivo comprobaron la hipótesis nula formulada, en la que se planteó que “los donadores que asisten al Banco de Sangre del HRO con serología negativa para HBsAg y positiva para anti-HBc total, un porcentaje mayor de 0.1 por ciento presenta HBeAg positivo”. Esta investigación sugiere la necesidad de realizar obligatoriamente el anti-HBc total en el tamizaje serológico a donadores de sangre y que debe incluirse como prueba obligatoria en el reglamento de Bancos de Sangre de Guatemala (45).

En un estudio realizado en donadores del Banco de Sangre del Hospital Roosevelt, se encontró en 1012 donadores, un caso de HBeAg positivo pero éste también tenía el HBsAg positivo (46).

El motivo de la donación en el Banco de Sangre fue principalmente la familiar y la remunerada (Tabla 4), lo cual se explica por la política que han adoptado los Hospitales Nacionales, donde como requisito para que los pacientes sean ingresados deben llevar dos donadores; de esta forma, la familia se ve en la necesidad de buscar familiares o pagar donadores. Estos resultados también evidencian que la cultura de donar sangre de forma voluntaria no existe en la población guatemalteca debido a:

- a) El Ministerio de Salud y la Comisión de Bancos de Sangre no ha desarrollado políticas para educar a la población sobre la importancia de la donación voluntaria y no ha establecido estrategias o campañas para la promoción de esta actividad a través de medios de comunicación masivos como radio, televisión, prensa escrita.
- b) Por la falta de educación, existen mitos sobre donar sangre como el de que donar produce aumento de peso, pérdida de la potencia sexual, temor a infectarse de VIH y el miedo; esto representa un obstáculo para fomentar la donación voluntaria pero pueden ser eliminados con una adecuada información.

La donación voluntaria implica que la sociedad debe disponer de suficientes personas sanas dispuestas a donar sangre de modo altruista ya que es la única forma de solucionar satisfactoriamente las necesidades de captación de unidades sanguíneas seguras. Por ello al donador voluntario se le debe proporcionar facilidad de horario y ser atendido con la mayor amabilidad y profesionalismo. El Banco de Sangre tiene la obligación de vigilar el cumplimiento de los principios éticos, de la no comercialización de los componentes sanguíneos y la responsabilidad de incorporar los avances tecnológicos para el tamizaje de unidades sanguíneas, para proporcionar sangre y sus componentes en forma segura (53).

Los dos grupos, de acuerdo a la edad, con el porcentaje más alto de casos positivos para anti-HBc total (Tabla 4), pertenecían a la población más joven, la que tiene mayor disposición a donar pero también la más activa sexualmente, siendo este factor un riesgo para adquirir y transmitir el VHB. En uno de estos dos grupos se encontró el único caso HBeAg positivo (7,8).

Los donadores que presentaron anti-HBc positivo con antecedentes de riesgo para la infección fueron pocos (Tabla 4), pero estos no fueron diferidos o rechazados en la entrevista. Esto se debió a que la entrevista era realizada en forma rápida, para llenar un requisito no para investigar los antecedentes del donador. Y es que el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente cuenta únicamente con dos técnicos, para realizar entrevistas, examen físico y pruebas preliminares (determinación de grupo sanguíneo y hematocrito), así como flebotomía, pruebas inmunológicas, separación de componentes sanguíneos, descarte de componentes sanguíneos y realización de compatibilidades. El personal no es exclusivo del Banco de Sangre ya que éste no posee autonomía sino es otra área más del laboratorio. Esto impide que el personal reciba una adecuada capacitación.

Otro antecedente significativo obtenido en la encuesta, fue el del número de donaciones realizadas por los donadores seropositivos a anti-HBc (Tabla 4). De los 31 casos que habían donado más de una vez, 7 lo habían hecho por segunda vez en el mismo Banco de Sangre, siendo aceptados en la fase de entrevista y de donación sanguínea, pero no en la de tamizaje serológico, descartándose las unidades después de obtener estos resultados y haberlas extraído. El problema que causan estos donadores remunerados es el de gasto de recursos humano, tiempo y costo de pruebas inmunológicas; sin embargo, el principal problema está en no notificar los resultados de las pruebas a los donadores, ya que la OMS (55) establece que los servicios de Banco de Sangre establecerán un procedimiento para que los donantes sean notificados de cualquier anomalía médica significativa que sea detectada en la evaluación de pre-donación o como resultado de las pruebas serológicas. El Banco de Sangre además de notificar debe asegurarse que los donantes reciban apoyo y orientación.

El análisis de la procedencia de los 71 donadores estudiados (Tabla 5), indica la importancia del Banco de Sangre, como parte del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, el cual es considerado un centro de referencia para el departamento de Quetzaltenango, la región sur occidente y Chiapas, México cuyos pobladores les queda más accesible venir a Quetzaltenango que a otro estado mexicano. Esto obliga a toda la Red Nacional de Bancos de Sangre a brindar unidades de sangre y sus componentes bajo los estándares más altos de calidad para el beneficio de la población (54,55).

La mayoría de los donadores seropositivos a anti-HBc total, provenían de áreas de la costa del departamento de Quetzaltenango como: Colomba, El Palmar, Flores Costa Cuca, Coatepeque. Estos resultados concuerdan con los de otra tesis realizada en el año 2003, titulada “Importancia de la detección de anticuerpos anti-core del virus de la hepatitis B, en donadores del Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente” (47).

X. CONCLUSIONES

1. El método de ELISA no permitió la detección de casos HBeAg positivos, en el grupo de 71 donadores HBsAg negativo y anti-HBc total positivo.
2. El método de ECLIA permitió detectar un donador (1.4%) positivo HBeAg, en el grupo de 71 donadores HBsAg negativo y anti-HBc total positivo.
3. La detección de un caso de HBeAg positivo por el método de ECLIA se debió probablemente a la sensibilidad del método, ya que se realizó en un equipo automatizado lo que minimizó errores analíticos y de estandarización que estuvieron presentes en el método de ELISA realizado manualmente.
4. La técnica de PCR realizada a 15 sueros de donadores tomados al azar, permitió detectar que no eran infecciosos, al no detectar HBsAg y las técnicas de ELISA y ECLIA que no eran donadores crónicos activos al ser HBeAg negativos.
5. El donador positivo para HBeAg por el método ECLIA permitió confirmar la presencia de infección crónica activa en el grupo de estudio.
6. Se determinó una prevalencia de HBeAg de 1.4 % en el grupo de donadores evaluados. Este dato es ligeramente mayor al 1.25 % reportado previamente en el Hospital Roosevelt.
7. La realización de la encuesta a los donadores en una forma inapropiada, incurre en inadecuado uso del recurso humano y económico, ya que el costo de las pruebas de ELISA utilizadas en el tamizaje es alto.

XI. RECOMENDACIONES

1. Revisar el reglamento de la Ley de Medicina Transfusional y Banco de Sangre con el afán de incluir la detección de anti-HBc total como prueba obligatoria para el tamizaje del VHB en donadores de sangre.
2. Realizar estudios con una población mayor que la de este estudio, para comparar sensibilidad y especificidad entre ELISA y ECLIA.
3. Concientizar al personal técnico de la importancia de realizar adecuadamente la entrevista al donador, para aplicar correctamente los conceptos de donador rechazado, diferido y aceptado.
4. Se recomienda la notificación a donadores seropositivos, con la consejería adecuada para prevenir que estas personas infecten a otras y que no se presenten nuevamente a donar, y conduzcan a gastos de recurso humano y económico en banco de sangre.
5. Promover en la sociedad guatemalteca la donación voluntaria a través de campañas educativas que rompan los mitos de la población.
6. La Comisión Nacional de Bancos de Sangre y la Universidad de San Carlos de Guatemala, a través de sus facultades de Medicina y Farmacia podrían trabajar conjuntamente, en la organización de campañas educativas que promuevan la donación voluntaria y en actividades que apoyen la calidad y la investigación en los Bancos de Sangre; sobre todo los departamentales.
7. Separar el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente del laboratorio clínico, como una unidad totalmente diferente, para que cuente con el número adecuado de técnicos y bien capacitados.

XII. REFERENCIAS

1. Koneman E, *et al.* "Diagnostico Microbiológico". 4ta. Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana, 1999. 21+1357 p. (p.1189-1190).
2. Mandell G, Bennett's J, and Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases; Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus. 4^{ta}.ed. USA: Churchill Livingstone, 1995. 124+1600p. (p. 1406-1428).
3. Henry JB, *et al.* Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio Clínico. 9^a.ed. Fontáan FF, trad. Barcelona: Masson-Salvat, 1993. XVII+1509p. (p. 252-253, 942-946, 961, 999, 1293-1295).
4. McMahon BJ. The Natural History of Chronic Hepatitis B Virus Infection. Anchorage, Alaska, USA. Disponible en <<http://bdm9@cdc.gov>>. Fecha de consulta: 12 Sep. 2004.
5. LeBlanc ME, *et al.* Hepatitis B virus (HBV) information. Canada (CCDR). Disponible en <<http://www.cdc.gov/nip/manual/hepb/hepb.htm>>. Fecha de consulta: 20 Sep. 2004.
6. Hermann KH, Goldman U, Schwartz W. Large surface proteins of hepatitis B virus containing the pre-S sequence. Journal of Virology. 1983. 52: 396-402.
7. Robert G. The hepatitis B Virus is globally distributed among humans. Department of Epidemiology USA. May 1997. Disponible en <http://www.globalserve.net/harlequin/hep_B.htm>. Fecha de consulta: 2 Agost. 2004.

8. Hung SJ, Lin J. Hepatitis B Virus (HBV). Stanford University, Health and Safety Department Epidemiology USA. Jun 1998. Disponible en <<http://www.stanford.edu/hbv.htm>>. Fecha de consulta: 20 Agost. 2004.
9. Hanafusa T, *et al.* HBV is the only DNA virus that has hepatocyte specificity. Department of internal medicine national Okayama, Japón. 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00210.htm>. Fecha de consulta 5 Nov. 2004.
10. Uchida T. Genetic variations of the hepatitis B virus and their clinical relevance. Microbiology, Immunology USA. 1993. 37(6): 425-439.
11. Jongerius JM, *et al.* New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several hepatitis B surface antigen screening ass. Red Cross Blood Bank Midden-Nederland. Utrecht. Jun 1998. Disponible en <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>>. Fecha de consulta: 5 Nov. 2004.
12. Arauz P, *et al.* Genotype F prevails in HBV infected patitents of hispanic origin in Central America and may carry the precore stop mutant. Centro de investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica, San Pedro Costa Rica. 2002. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=9>. Fecha de consulta 13 May 2005.
13. Arauz P. Molecular epidemiology of hepatitis A and hepatitis B virus in central America. Centro de investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica, San Pedro Costa Rica. 2002. Disponible en <<http://diss.kib.ki.se/2002/91-7349/208-6/>>. Fecha de consulta: 13 May 2005.

14. Nassal M. Hepatitis B virus replication: Novel roles for virus host interactions. Departement Epidemiology Freiburg, Alemania. 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00411.htm>. Fecha de consulta: 9 Nov. 2004.
15. Ogawa M, *et al.* Clinical features and viral sequences of various genotypes of hepatitis B virus compared among patients with acute hepatitis B. *Hepatology Researches* 2002. 23(3): 167-177.
16. Picazo JI. Serología de las hepatitis víricas. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, España. 1999. Disponible en <<http://www.seimc.org/protocolos/cap2.htm>>. Fecha de consulta 9 Nov. 2004.
17. Coleman I. Management of the HBsAg positive patient. Departamento of Infectious Diseases, Pomeranian Medica University USA. 1999. Disponible en <<http://www.inmunize.org/p2l50.htm>>. Fecha de consulta: 9 Nov. 2004.
18. Murray PR, *et al.* *Microbiología Médica*. Delgado JD, rev. Barcelona: Mosby-Doyma Libros S.A. 1992. X+725p. (p. 547-563).
19. Chien RN, Liaw YF, Atkins M. Pretherapy alanine transaminase level as a determinant for hepatitis B e antigen seroconversion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *J. Hepatology Taiwan*. 1999. Disponible en http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00253.htm>. Fecha de consulta: 12 Nov. 2004.

20. Shieh B, *et al.* HBV-DNA detected in both nucleus and cytoplasm. J. Viro Methods. USA. 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00080.htm>. Fecha de consulta: 15 Nov. 2004.
21. Reichen J. Reactivation of hepatitis B. Department of Infectious Diseases, University France. 1998. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00080.htm>. Fecha de consulta: 15 Nov. 2004.
22. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. Division of Transfusion Medicine, Department of Haematology, University Cambridge. USA. Feb. 2004. Disponible en <jpa1000@cam.ac.uk>. Fecha de consulta: 15 Nov. 2004.
23. Hoofnagle JH, *et al.* Serologic responses in hepatitis B. In: Viral Hepatitis, a contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention. Philadelphia: Franklin Institute Pres. 1978 (p. 219-242).
24. Berkow R, *et al.* El manual Merck del diagnóstico y terapéutica. 9ª ed. español. Doyma Libros S.A., trad. Barcelona: Océano Grupo Editorial S.A., 1992. XXXIII+3122p. (p. 1321, 2254-2255).
25. Boyer TD. Test for viral hepatitis. Department of Infectious Diseases USA. 1998. Disponible en <http://www.mail_lis.com/hbv_research/liv_4.htm>. Fecha de consulta 12 Ene. 2005.
26. Furosuyo N, *et al.* Hepatitis B surface antigen disappearance and hepatitis B surface antigen subtype. Tropical Mead of Memorial Hospital. Japón. 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00081.htm>. Fecha de consulta: 12 Nov.2004.

27. Boris P, *et al.* Antibody to hepatitis B core antigen in chronic active hepatitis. Department of Infectious Diseases Londres. Britain Medicine Journal. 1978. 1: (p. 396-397).
28. Herrine SK. Viral hepatitis. Jefferson Digestive Diseases Institute Thomas Jefferson University. USA. 1997. Disponible en <http://www.tju.edu/viral_~l.htm>. Fecha de consulta: 12 Nov. 2004.
29. Chu CM, *et al.* Natural history of hepatitis B e antigen to antibody seroconversion patients with normal serum aminotransferase levels. Chang Gung Memorial Hospital, Taipei, Taiwan. Jun. 2004. Disponible en <<http://www.chu0066@cgmh.org.tw>>. Fecha de consulta: 12 Nov. 2004.
30. Karpinska E, *et al.* Hepatitis B core antigen en liver tissue from HBs-positive, HBe-negative patients. Department of Infectious Diseases, Medical University. USA May 2004. Disponible en <<http://www.ewakapinska@interia.pl>>. Fecha de consulta: 2 Nov. 2004.
31. Aldershvile J, *et al.* Hepatitis B e antigen and antibody radioimmunoassay in acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis. Journal Infectious Diseases. 1980. 141: 293.
32. Nagata I, *et al.* Role of HBV-DNA quantitative PCR in monitoring response to interferon treatment in chronic hepatitis B virus infection. Department of Infectious Diseases Londres. Hepatol Journal Londres. 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00250.htm>. Fecha de consulta: 12 Nov. 2004.

33. Edmunds WJ, *et al.* Hepatitis B epidemiology and economics. Department of Haematology Memorial Hospital, Londres. J Med Londres 1997. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/hepbrev.htm>. Fecha de consulta: 15 Nov de 2004.
34. Edmund WJ. The epidemiology and control of hepatitis B virus in developing countries. Department of Haematology Memorial Hospital, Londres. J. Med Londres 1999. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/hepbrev.htm>. Fecha de consulta: 15 nov. 2004.
35. Bureau of the Census. Incidence of HBV. Department of Epidemiology USA. 1998. Disponible en <http://www.mail_list.com/hbv_research/msg00248.htm>. Fecha de consulta: 15 Nov 2004.
36. Mejía C. Hepatitis viral en Guatemala, consideraciones clínicas y epidemiológicas. Revista del Colegio de Médicos Guatemala, 1997. 6(2):4-8.
37. León P, *et al.* Prevalencia de las infecciones por virus de la hepatitis B, C, D y E en Bolivia. Revista Panamericana Salud Pública 1999; 5(5):144-150.
38. Espino H, Mejía C. La Hepatitis B y C: un problema común a Panamá y Guatemala. Revista Hepatitis Update, Schering-Plough, S.A. 1996. (p. 1-4).
39. Menéndez J, Granai F, Mejía C. Marcadores de virus de hepatitis B y C en pacientes con hepatitis crónica y cirrosis en el Hospital Roosevelt. Revista del Colegio de Médicos Guatemala, 1999. (p.3-5).
40. Vela M, Mejía C. Riesgo ocupacional de hepatitis B en personal de enfermería. Hospital Roosevelt. Guatemala Revista Colegio de Médicos 1999.

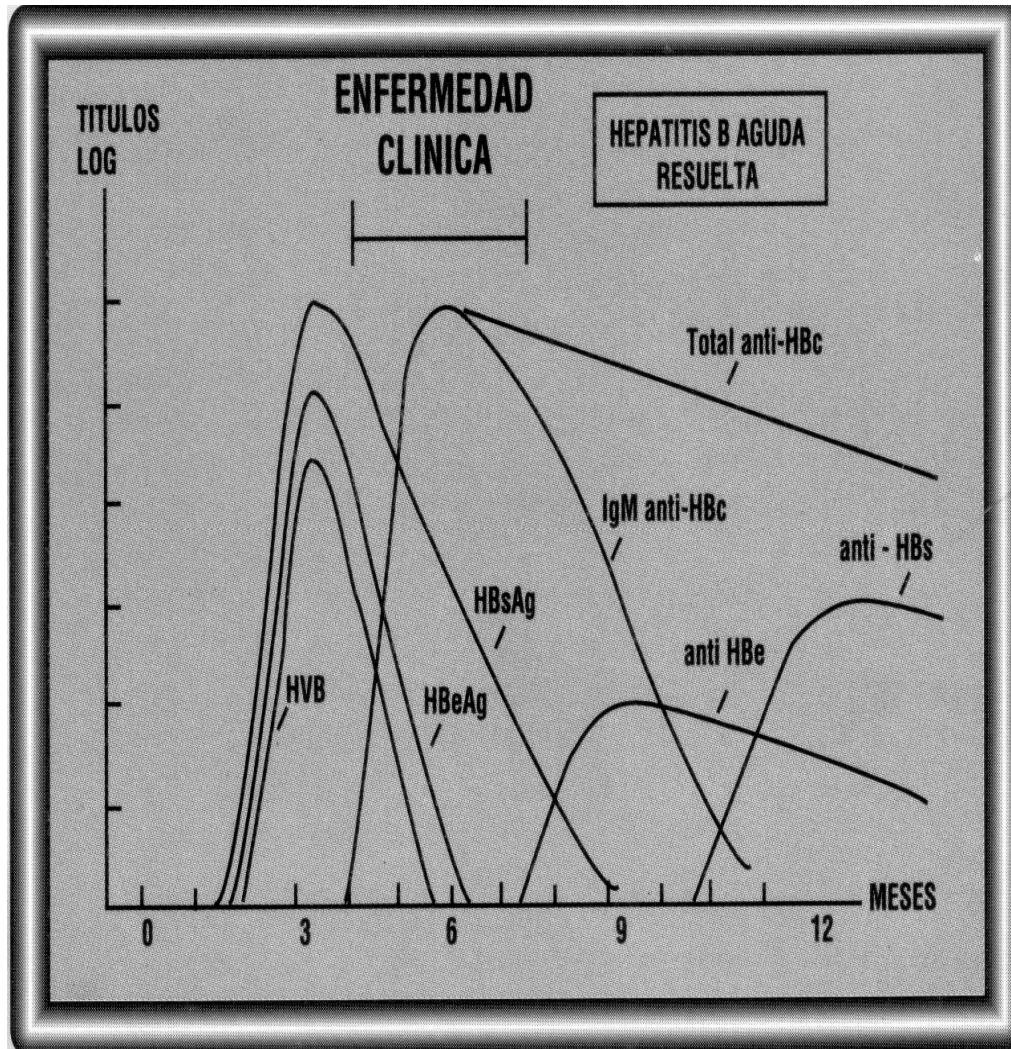
41. Mejía C, *et al.* Hepatitis B en unidad de Hemato-Oncología pediátrica: Transmisión horizontal como riesgo nosocomial. Guatemala. Revista Colegio de Médicos 1998; 8(1):18-21
42. Organización Mundial de la Salud / Organización Panamericana de la Salud. Estándares de trabajo para Banco de Sangre. Cap. 9: Control de Procesos. 1998. (p. 27 -28).
43. Brehcer ME, *et al.* Screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B an hepatitis C. American Association of Blood Banks. USA. 1999. Disponible en <<http://www.aabb.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep00051.htm>>. Fecha de consulta: 20 Nov. 2004.
44. American Association of Blood Bank. Technical Manual & Standard 12th Edition. 1999. Secc.8:677-678.
45. Diario de Centro América Número 34, de fecha 25 de marzo de 2003. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Reglamento de la ley de servicios de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre. Acuerdo Gubernativo No. 75-2003 de fecha 30 de enero de 2003. Capitulo III. Artículo 13.
46. Choc JE. Evidencia serológica de la infección por virus de la Hepatitis B (HBV), en donadores de sangre del Hospital Roosevelt. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultado de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. (p. 40-41).
47. García AR. Importancia de la detección de anticuerpos anti-core del virus de la hepatitis B, en donadores del Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. (p. 32-33).

48. Vengelen-Tyler V, *et al.* Facts about blood and blood banking. American Association of Blood Banks. USA. Disponible en <<http://www.aabb.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep00053.htm>>. Fecha de consulta: 20 Nov. 2004.
49. Schreiber G, *et al.* The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl. J Med* 1996; 334(26): 1685-90.
50. Bianco C. Table I: Relative risk of transfusion-transmitted infection. New York Blood Center. USA. 1996. Disponible en <<http://www.wadsworth.org/hepb>>. Fecha de consulta: 20 Nov. 2004.
51. Estadísticas de la Comisión Nacional de Bancos de Sangre, 1999. Guatemala: Comisión Nacional de Bancos de Sangre.
52. Estadísticas del Banco de Sangre del Hospital Roosevelt, 1990-1999. Guatemala: Hospital Roosevelt.
53. Grifols J, Como promocionar la donación de sangre. 1era. Ed. Barcelona, España: Editorial Artes Graficas Venus, S.L. 1991 (p. 3 – 16).
54. Racancoj CV. Informe Final del trabajo desarrollado en el Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala (Informe Final de Ejercicio Profesional Supervisado Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2004 (p. 2-10).
55. Organización Panamericana de la Salud. Estándares de trabajo para Banco de Sangre. 2da. Ed. Washington D.C. División de desarrollo de sistemas y servicio de salud. 1999 (p. 20-26).

XIII. ANEXOS

1. Hepatitis B aguda
2. Hepatitis B crónica
3. Entrevista de donadores
4. Mapa
5. Fotos de PCR

ANEXO 1.
Gráfica de los marcadores serológicos
en la hepatitis B aguda



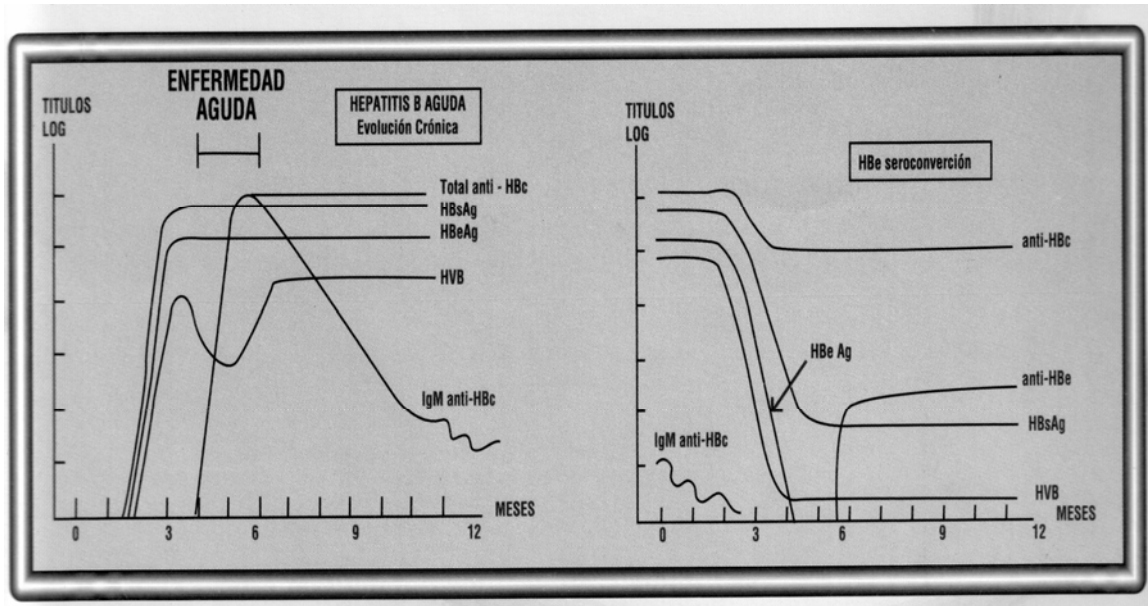
El primer marcador en aparecer es el HBsAg paralelamente aparecen el HBeAg y el ADN-VHB en la replicación viral; el sistema inmune del huésped inicia la respuesta contra estos antígenos, con la aparición del anti-HBc, posteriormente el anti-HBe y finalmente el anti-HBs en la resolución de la infección.

Tomado de: Panfleto informativo de Schering-Plough S.A.

T- INHEP-PAN-1/1996.

ANEXO 2.

Evolución de los marcadores serológicos de la hepatitis B crónica



En la hepatitis B crónica activa los marcadores serológicos permanecen elevados por más de seis meses; el anti-HBc total, HBsAg, HBeAg y ADN-VHB presentan títulos elevados por más de seis meses (gráfico de la izquierda). En la hepatitis B crónica no activa están presentes anticuerpos anti-HBe, que corresponde a un HBeAg negativo. Los títulos de anti-HBc permanecen elevados (gráfico de la derecha).

Tomado de: Panfleto informativo de Schering-Plough S.A.

T- INHEP-PAN-1/1996.

ANEXO 3.

Entrevista de donadores del
banco de sangre del HRO "San Juan de Dios" Quetzaltenango



BANCO DE SANGRE
HOSPITAL REGIONAL DE OCCIDENTE
"San Juan de Dios"

FECHA: _____

DONANTE: _____

NOMBRES _____ APELLIDOS _____
SEXO _____ EDAD _____ NACIONALIDAD _____ OCUPACIÓN _____
GRADO DE ESCOLARIDAD: NINGUNA _____ PRIMARIA _____ SECUNDARIA _____ UNIVERSITARIA _____
LUGAR Y FECHA DENACIMIENTO _____
IDENTIFICACIÓN: CEDULA: _____ PASAPORTE: _____ LICENCIA: _____
DIRECCIÓN DE RESIDENCIA _____ TELEFONO _____
DIRECCIÓN DE TRABAJO _____ TELEFONO _____
CONSENTIMIENTO: YO _____ Voluntariamente me presento

al Banco de Sangre a donar una unidad de sangre para: _____

Entiendo que previo a usar mi sangre se harán exámenes para determinar si la misma es compatible con la sangre del paciente (receptor), así como, las pruebas para detectar infección por el virus de hepatitis B, infección por el virus de hepatitis C, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (SIDA), Sífilis, enfermedad de Chagas y otras que sean necesarias en el momento de donación.

Es de mi conocimiento que existe la posibilidad, que las pruebas para detectar enfermedades transmisibles por transfusión sanguíneas, alguna sea falsamente positiva. En caso de salir alguna prueba positiva, aunque sea falsa positiva, se le notificara por medio de un ente del Hospital Regional para que acuda al mismo y se le realicen pruebas confirmatorias y/ o buscar la ayuda médica necesaria. Entiendo que por si necesidad o condición del caso, la sangre no es usada en el paciente anotado arriba, quedará a disposición del Banco de Sangre para su uso humanitario. Declaro que no he recibido ningún beneficio económico por el hecho de donar mi sangre, como lo manda la Ley

PESO _____ PA: _____ PULSO: _____ TEMPERATURA: _____ APARIENCIA GENERAL _____

PIEL: _____ CORAZON: _____ PULMONES: _____ ABDOMEN: _____ OTROS: _____

Descripción de anomalías: _____

ACEPTADO _____ DIFERIDO _____ RECHAZADO: _____

RESPONSABLE DE LA ENTREVISTA (Nombre y fecha) _____

RESULTADOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO:

Hb. _____ Ht. _____ Grupo y RH _____

HIV 1+2 _____ HBsAg _____ HCV _____ ANTI CORE _____

SIFILIS _____ CHAGAS _____ CMV _____ HTLV 1+2 _____

FECHA: _____ # DE BOLSA _____
DONANTE: _____ RECEPTOR: _____
SERVICIO: _____ GRUPO Y RH: _____

FIRMA Y SELLO DEL BANCO

INFORMACIÓN IMPORTANTE SOBRE HEPATITIS Y SIDA

Tanto el SIDA como las HEPATITIS B y C se pueden transmitir por las siguientes razones

1. USAR DORGAS INTRAVENOSAS, especialmente compartiendo jeringas con otras personas.
2. HACERSE TATUAJES, ACUPUNTURA O PERFORACIONES CORPORALES (colocación de aretes por ejemplo) sin utilizar material y/ o agujas descartables.
3. TENER RELACIONES SEXUALES CON DIFERENTES PAREJAS SIN USAR PRESERVATIVO.
4. TENER RELACIONES SEXUALES CON TRABAJADORAS O TRABAJADORES DEL SEXO.
5. TENER CONTACTO ESTRECHO O SEXUAL CON PERSONAS QUE ESTEN INFECTADAS CON: HEPATITIS B, HEPATITIS C O SIDA.

SI EN LOS ULTIMOS AÑO USTED HA ESTADO EN CUALQUIERA DE LAS CONDICIONES MENCIONADAS EN LOS PARRAFOS ANTERIORES, DEBE ABSTENERSE DE DONAR SANGRE.

1	¿Entendió los párrafos informativos sobre SIDA y HEPATITIS?	Si	No
2	¿Presenta algún factor de riesgo para HEPATITIS / SIDA como lo informado en el párrafo anterior?	Si	No
3	¿Actualmente, se siente usted bien y goza de buena salud?	Si	No
4	¿Alguna vez ha donado sangre? ¿Cuándo? ¿Dónde?	Si	No
5	¿Alguna vez ha sido rechazado como donante?	Si	No
6	¿Ha tenido alguna enfermedad infecciosa en el último mes?	Si	No
7	¿Tiene gripe, tos, dolor de garganta o dificultad para respirar el día de hoy?	Si	No
8	¿Sufre mareos, pérdida de conocimiento o ataques epilépticos?	Si	No
9	¿Tiene problemas de presión arterial?	Si	No
10	¿Ha tenido ictericia (piel amarilla), hepatitis, o análisis positivo de hepatitis?	Si	No
11	¿Estuvo tomando algunos medicamentos en las últimas 4 semanas? ¿Cuál? ¿Porqué?	Si	No
12	¿Tomó aspirina o algún medicamento que la contenga u otros calmantes en los últimos 3 días?	Si	No
13	¿Tuvo relaciones sexuales con alguien que tenía SIDA, o exámenes positivos de VIH, Hepatitis B ó C en los últimos 12 meses?	Si	No
14	¿Ha tenido relaciones sexuales con diferentes parejas sin protección en el último año?	Si	No
15	¿Ha tenido relaciones sexuales con trabajadoras (es) de sexo en el último año?	Si	No
16	¿Usó o usa drogas o tuvo relaciones sexuales con alguien que las usaba, en los últimos 12 meses?	Si	No
17	¿Tuvo o fue tratado por Sífilis, gonorrea u otras infecciones genitales en los últimos 12 meses?	Si	No
18	¿Les han hecho tatuajes, acupuntura, perforaciones de oreja o pinchaduras accidental con aguja de inyección en los últimos 12 meses?	Si	No
19	¿Fue operado de alguna afección seria en los últimos 12 meses?	Si	No
20	¿Ha recibido transfusiones de sangre, plasma o transplantes de órganos en los últimos 12 meses?	Si	No
21	¿Tuvo usted paludismo en los últimos 2 años? Recibió medicamentos antipalúdicos	Si	No
22	¿Le han realizado algún tratamiento dental en las últimas 2 semanas?	Si	No
23	¿Tuvo pérdida de peso inexplicable, manchas rosadas en la piel, fiebre por más de 10 días, sudores nocturnos, diarreas, manchas blancas en la boca o ganglios grandes?	Si	No
24	¿Ha recibido vacunas en los últimos 6 meses?	Si	No
25	¿Ha recibido tratamiento con hormona decrecimiento de origen pituitario humano	Si	No
26	Para mujeres: ¿Estuvo embarazada en las últimas 6 semanas (parto o aborto) ó lo está ahora?	Si	No
27	¿Padece de alguna enfermedad grave de riñones, corazón, pulmones, hemorragias y / o Alergias	Si	No
28	¿Tiene que realizar algún tipo de actividad que implique riesgo para usted en las siguientes 24 horas: Trabajo en las alturas, operador de maquinaria pesada u otro?	Si	No
29	¿Considera que su historial y estado de salud actual implica algún riesgo para el receptor de su sangre?	Si	No
30	Leyó y comprendió usted este cuestionario y fueron contestadas todas las dudas al respecto	Si	No

Observaciones:

FIRMA DEL DONADOR: _____

Entiendo que por si necesidad o condición del caso, la sangre no es usada en el paciente anotado arriba, quedará a disposición del Banco de Sangre para su uso humanitario. Declaro que no he recibido ningún beneficio económico por el hecho de donar mi sangre, como lo manda la Ley.

BANCO DE SANGRE
HOSPITAL REGIONAL DE OCCIDENTE
 "San Juan de Dios"

Tomada de: Registro Banco de Sangre

Hospital Regional de Occidente

"San Juan de Dios" / 2003

ANEXO 4. Antecedentes demográficos de 71 donadores HBsAg negativo y anti-HBc total positivo, del Banco de Sangre del Hospital Regional de Occidente “San Juan de Dios”, Quetzaltenango.



Lugar de Procedencia.

1. Quetzaltenango.
2. San Marcos.
3. Mazatenango.
4. Retalhuleu.
5. Sololá.
6. Totonicapán.
7. Huehuetenango.
8. Alta Verapaz.
9. Chiapas México.

ANEXO 5. Foto de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de 15 sueros de donadores tomados al azar, negativos a HBsAg y positivos a anti-HBc total para la detección de ADN viral del VHB.



1. **Marcador de peso molecular.**
2. **Control Positivo (ADN clonado) correspondiente a la región “s” del VHB amplificado. Puede observarse banda luminosa, correspondiente a 452 pb, en el marcador de peso molecular.**
3. **Control Negativo (ADN humano).**
4. **Muestra de suero sin diluir de donador HBsAg negativo.**
5. **Muestra diluida 1:10 del mismo donador HBsAg negativo.**
6. **Muestra diluida 1:100 del mismo donador HBsAg negativo.**