

ARTÍCULO ORIGINAL/ARTIGO ORIGINAL

Infección residual del virus de la hepatitis B en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana en Venezuela

Hepatitis B occult infection in HIV-infected patients in Venezuela

Héctor Ariza Jaspe¹
Cristina Gutiérrez García²
Gladys Ameli³

¹Lic. en Bioanálisis. Caracas, Venezuela.

²PhD en Microbiología, Inmunología. Caracas, Venezuela.

³Lic. en Bioanálisis, Inmunología. Caracas, Venezuela.

Laboratorio de Programas Especiales. Sección de Biología Molecular. Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Apdo 1040 Caracas-Venezuela.

Rev Panam Infectol 2009;11(1):27-32

Conflicto de intereses: ninguno

Recibido en 21/12/2008.

Aceptado para publicación en 7/2/2009.

Resumen

La infección residual por el virus de la hepatitis B (VHB) se produce ante la ausencia del antígeno de superficie del VHB (AgsHB) y la presencia de anticuerpos dirigidos contra la cápside viral (anti-HBc), con detección de bajos niveles de replicación viral determinado por la presencia de ADN del VHB.

Objetivo: Evaluar la presencia o ausencia de infección residual del VHB en pacientes con VIH referidos al INHRR. **Métodos:** Se analizaron un total de 71 muestras a nivel serológico mediante la determinación de AgeHB, anticuerpos anti-HBe y anti-HBs, y a nivel molecular a través de la presencia de ADN del VHB mediante PCR, utilizando cebadores específicos de las regiones genómicas S y C del virus. **Resultados:** Del total de las muestras evaluadas un 7% (5/71) resultaron positivas para la presencia de ADN correspondiente a la región C del VHB, no encontrándose AgeHB en estas muestras. **Conclusiones:** Se encontró una endemicidad intermedia de hepatitis residual por VHB (7%) en las muestras evaluadas proveniente de pacientes infectados por VIH. Se evidenció que estos plasmas con ADN del VHB se encontraban en una etapa tardía de la hepatitis crónica, demostrado por la ausencia de AgeHB en estas muestras. El presente estudio constituye el primer trabajo de investigación de infección oculta en pacientes con VIH en Venezuela.

Palabras clave: Hepatitis B, infección residual, coinfección, VIH.

Abstract

Hepatitis B residual infection is produced in absence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and anti-hepatitis B core antigen (anti-HBcAg) antibodies present with viral replication low levels detected by HBV DNA. The objective of this study was to evaluate presence or absence of hepatitis B residual infection in HIV infected patients. HBsAg-negative HBcAg-positive plasma samples from 71 HIV seropositive patients were tested by others hepatitis B serologic markers (HBeAg, anti-HBe and anti-HBs antibodies) and nested PCR with viral S and C genomic region specific primers. HBV DNA positivity was found in 7% (5/71) corresponding to C gene. HBeAg no

was detected in these plasma samples. In conclusion, HBV residual infection intermediate endemicity was found in plasma samples from HIV infected patients. HBV DNA positive patients were found in late phase of chronic hepatitis, evidenced by HBeAg absence in their samples. The present study is the first investigation work about HBV occult infection in HIV infected patients in Venezuela.

Key words: Hepatitis B, residual infection, coinfection, HIV.

Introducción

La infección por VHB produce una enfermedad aguda del hígado y un estado de portador hasta en 10% de los casos, siendo la causa más común de viremia crónica con un estimado de 200 a 350 millones de personas crónicamente infectadas a nivel mundial. El VHB es considerado como el segundo agente carcinogénico en humanos conocido después del tabaco, siendo la causa de aproximadamente el 80% de los casos con carcinoma hepatocelular primario. En su fase de cronicidad, la hepatitis B está asociada a cirrosis y hepatitis delta. Se estima que a nivel mundial se presentan más de 250 mil muertes anuales asociadas con VHB.⁽¹⁾

Actualmente, se ha reportado que el VHB presenta una variabilidad genética mayor que la de otros virus con genoma de ADN debido a su mecanismo de replicación que involucra la actividad de una transcriptasa reversa (TR),⁽²⁾ carente de una capacidad correctora, lo cual permite la introducción de mutaciones en el genoma viral y en consecuencia, la aparición de infecciones ocultas que cursan con patrones serológicos atípicos asociados por lo general a persistencia viral en el hospedero.^(3,4) Tal es el caso de las infecciones residuales y silentes, las cuales se caracterizan por ser crónicas y asintomáticas. Su desarrollo parece estar asociado a variantes virales del VHB, cuya presencia se ha sugerido que se relaciona con bajos niveles de replicación viral.⁽⁵⁾ La hepatitis B silente se produce en ausencia de marcadores serológicos del virus.^(6,4) En contraste, la infección residual se genera en ausencia del antígeno de superficie del VHB (AgsHB) y en presencia de anticuerpos contra la cápside viral (anti-HBc).⁽⁷⁾ La presencia de anticuerpos anti-HBc sin otros marcadores serológicos del virus ha sido reportada en diversas partes del mundo frecuentemente asociada a infección pasada por el VHB. Sin embargo, numerosos estudios han encontrado una asociación entre la presencia de viremia y la detección de anticuerpos anti-HBc como marcador exclusivo, evidenciando la existencia de una infección residual por VHB, lo cual se ha registrado inclusive en Venezuela.⁽⁸⁾

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) constituye el agente responsable de la primera pandemia ocurrida en la segunda mitad del siglo XX. Se estima que aproximadamente 52,5 millones de personas en el

mundo entero son portadoras de este virus y cerca de 22 millones de pacientes han muerto a causa del SIDA. En América Latina, se estima que aproximadamente 1,5 millones de personas (adultos y niños) se encuentran infectados por el VIH. En general, estas cifras revelan que a partir de su primera identificación, hace más de veinte años, la incidencia de VIH/SIDA se ha elevado vertiginosamente en la población mundial, excediendo las expectativas de su impacto en cuanto a números de pacientes infectados y severidad de la enfermedad.⁽⁹⁾

A menudo, las personas infectadas por el VIH sufren un problema añadido que dificulta su recuperación: se trata de la aparición de nuevas enfermedades asociadas, como las hepatitis víricas, en especial las hepatitis B y C con las que comparten mecanismos de transmisión. La mortalidad atribuible a enfermedad hepática es mayor en pacientes coinfectados por el VIH y el VHB que en mono infectados por el VHB. Por otro lado, en estudios transversales se ha demostrado un aumento de los casos de cirrosis en los pacientes coinfectados y adicionalmente se ha presentado con mucha frecuencia (en torno a un 10%) hepatotoxicidad por antirretrovirales.⁽⁹⁾

Así mismo, la emergencia creciente de infecciones atípicas por el VHB que cursan con patrones serológicos inusuales, como los casos descritos de hepatitis B residual en población general podría contribuir a disminuir la calidad de vida del paciente infectado por VIH. Se ha descrito en diversos estudios a nivel mundial una elevada incidencia en la detección de anticuerpos contra la cápside viral (anti-HBc) en ausencia de AgsHB en pacientes con VIH.⁽⁹⁾

En Venezuela, aparentemente no existen reportes sobre infección residual del VHB en pacientes positivos para el VIH. De allí, la importancia de evaluar la presencia o no de infección residual por VHB en una población de pacientes infectados por VIH, referidos al INHRR.

Materiales y método

El presente estudio fue de tipo prospectivo. Se utilizó un programa llamado EasyQuery en conexión a la base de datos del INHRR, la cual recibe el nombre de Sistema Operativo Diagnóstico del INHRR.

Población de estudio

Se evaluaron 71 plasmas sanguíneos provenientes de pacientes infectados crónicamente por VIH, referidos al INHRR durante el periodo: 2003 – 2006 para despistaje serológico de hepatitis B cuyos resultados fueron positivos para la presencia de anticuerpos anti-HBc y negativos para AgsHB. Estas muestras fueron seleccionadas aleatoriamente tomando en cuenta el volumen y la calidad de la muestra (muestras no bemozadas ni lipémicas) para su evaluación serológica y molecular.

Evaluación serológica

Las 71 muestras pertenecientes a la población

evaluada fueron nuevamente analizadas para la determinación de los marcadores serológicos específicos del VHB: AgsHB y anticuerpos anti-HBc para confirmar los resultados obtenidos previamente para estos marcadores serológicos. El despistaje serológico de AgsHB fue llevado a cabo a través de un ELISA comercial (Dade Behring, Enzygnost) de tipo directo. La determinación de anticuerpos anti-HBc se realizó mediante un sistema de ELISA comercial (Biomerieux, Hepanostika) basado en el principio de inhibición competitiva. Se determinó la presencia de AgeHB y anticuerpos anti-HBe a través de un ensayo inmunodiagnóstico comercial (Enzygnost HBe monoclonal) y de anticuerpos anti-HBs por un inmunoensayo de tipo (ETI-AB-AUK-3, Diasorin). Las muestras se mantuvieron congeladas a -20°C hasta su uso.

Extracción del ADN del VHB

Los 71 plasmas de la población en estudio, fueron sometidos a un proceso de extracción de ADN viral mediante la implementación de micro-columnas de Sílica-Gel (QIAGEN QIAmp Viral DNA Mini Kit), de acuerdo a las instrucciones del producto.

Los controles negativos utilizados fueron plasmas de individuos negativos para la presencia de los marcadores serológicos de la infección por VHB, procesados de la misma manera que las muestras. Los controles positivos fueron plasmas de individuos altamente positivos para AgsHB, AgeHB y anti-HBc, los cuales habían presentado ADN del VHB por PCR en ensayos anteriores.

Los plasmas que resultaron positivos para la presencia de ADN del VHB por PCR fueron repetidamente reevaluados a través de esta técnica.

Ensayos de amplificación por PCR

Para evitar la contaminación, las diferentes etapas del ensayo: la extracción del ADN, la preparación de la mezcla de reacción del PCR, la amplificación del ADN y la electroforesis en geles de los productos del PCR fueron realizados por separado en 4 ambientes

distintos. En cada serie de experimentos, se analizaron por PCR 6-12 de las muestras en estudio.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron introducidos en el programa de Excel 2003. La incidencia de coinfección hepatitis B oculta/VIH se expresó en términos de porcentaje, así como la frecuencia de marcadores serológicos específicos del VHB: AgHBe, anticuerpos anti-HBe y anticuerpos anti-HBs. La correlación entre los marcadores serológicos y la viremia del VHB en la población evaluada, se realizó a través de la prueba de Fisher.

El presente estudio fue aprobado para su ejecución por la Comisión Científica y Ética del INHRR, no existiendo conflicto de intereses.

Resultados

Se confirmó la ausencia del AgsHB y presencia de anticuerpos anti-HBc en un 100% de los plasmas sanguíneos previamente seleccionados.

Los 71 plasmas de la población estudiada fueron evaluados para la presencia de otros marcadores serológicos específicos del VHB, detectándose AgeHB en un 2,8% (2/71) y anticuerpos anti-HBe en un 50,7% (36/71). En cuanto a los anticuerpos anti-HBs solo fueron evaluados 47 y se detectó un 61,7% (29/47), estas fueron cuantificadas y se obtuvo (fig. 1) que un 38% (11/29) presentaron concentraciones de anticuerpos anti-HBs en un rango comprendido 100- 500 UI/L, un 34% presentaron concentraciones menores a 99 UI/L, un 14% entre 500 y 1000 UI/L y un 14% mayor a 1000 UI/L.

Se evaluó el ADN del VHB en las 71 muestras de la población evaluada mediante PCR, usando cebadores conservados de las regiones C y S virales. El 7% (5/71) de las muestras analizadas resultaron positivas para la presencia de ADN del VHB, utilizando cebadores conservados de la región C viral (tabla 2). Los productos de

Tabla 1. Secuencias oligonucleotídicas de los iniciadores específicos para la determinación del ADN del VHB usados en este estudio

Región Genómica	Secuencias nucleotídicas de los cebadores utilizados	Posición	Polaridad	Especificaciones de la PCR
Región S	S1 ACATCAGGATTCCTAGGACCCCT S2N CATAGCAGCAGGATGAAGAGGAA	167-445	Sentido Antisentido	Desnaturalización: 96°C por 1 min Alineamiento: 58°C por 1 min 94°C por 1 min Extensión: 72°C por 1 min 72°C por 10 min No Ciclos Ronda: 35
Región C	HBV F1 TTCAAGCCTCCAAGCTGTGCCTTGG HBV F2 TCTGCGACGCGGCGATTGAGA	1735-1759 2274-2294	Sentido Antisentido	1ª ronda Desnaturalización: 95°C por 5 min 95°C por 1 min Alineamiento: 55°C por 1 min Extensión: 72°C por 2'30 seg 72°C por 7 min
	HBV F3 CCTTGGTGGCTTTGGGGCA HBV F4 AGGATAGGGGCATTTGGTGGTCTATA	1884-1904 2274-2295	Sentido Antisentido	2ª ronda Especificaciones idénticas a las seguidas en la 1ª ronda

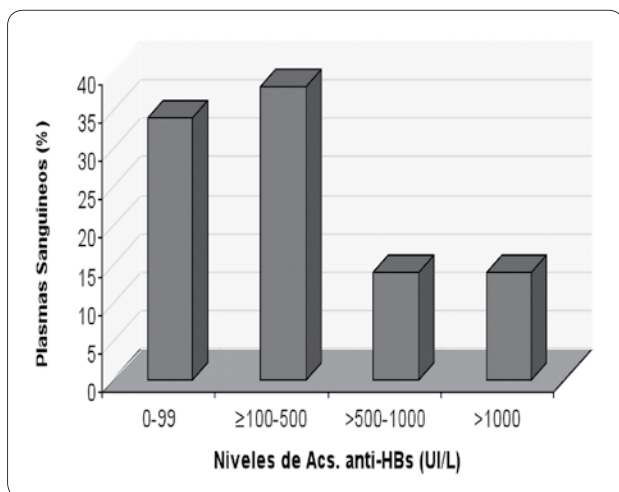


Figura 1. Determinación cuantitativa de anticuerpos anti-HBs en plasmas sanguíneos de pacientes infectados por VIH referidos al INHRR.

amplificación obtenidos fueron de 411 pb, los cuales se evidenciaron a través de la presencia de bandas en geles de agarosa al 2%, visualizadas por tinción con bromuro de etidio bajo luz U.V (fig. 2). Los 5 plasmas con ADN del VHB fueron repetidamente positivos para la presencia del ADN genómico en ensayos de PCR sucesivos. Se demostró la ausencia del ADN del VHB en las 71 muestras evaluadas, utilizando cebadores conservados de la región S viral (fig. 3).

Se correlacionaron los niveles de anticuerpos anti-HBs y ADN del VHB y se encontró que el 12,5% (1/8 plasmas) de las muestras con niveles de anticuerpos anti-HBs ≤ 30 UI/L, resultaron positivas para la presencia de ADN del VHB, no observándose diferencia estadísticamente significativa ($P=0,15$) con aquellas muestras que resultaron positivas para la presencia de ADN del VHB con niveles de anticuerpos anti-HBs > 30 (19%), utilizando la correlación de Fisher.

Discusión

El curso clínico de la infección luego de la exposición del organismo del individuo al VHB determina la aparición de marcadores serológicos definidos en casos de hepatitis aguda, fulminante o crónica. Sin embargo, se ha descrito la aparición de infección oculta por el VHB, tal es el caso de infección residual la cual cursan con patrones serológicos atípicos asociados por lo general a bajos niveles de ADN genómico.⁽¹⁰⁾ Este tipo de infección es generalmente crónica, asintomática y esta asociada a fenómenos de persistencia viral.⁽¹⁰⁾ En este tipo de hepatitis B atípica, se observa la presencia de anticuerpos anti-HBc en ausencia de AgsHB.

En el presente estudio se confirmó la ausencia del AgsHB en todas las muestras sanguíneas positivas para

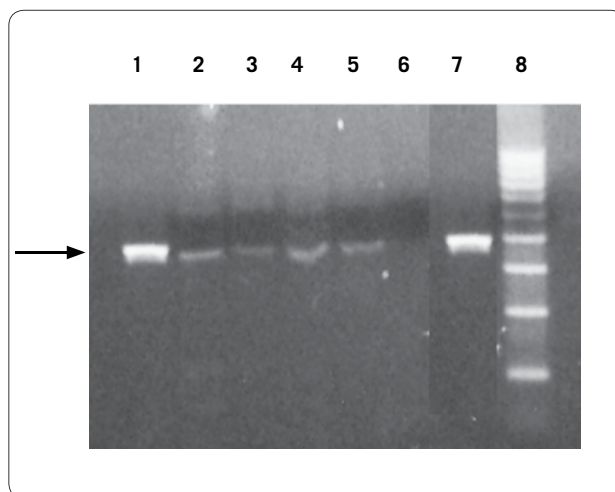


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio de plasmas de humanos evaluados mediante la técnica de PCR para la determinación de ADN del VHB correspondiente a la región C del virus.

Los carriles corresponden como sigue: 1), 2), 3), 4), 5) plasmas humanos positivos para la presencia de ADN del VHB. Se señala el producto de 411pb; 6) Control negativo, consistente en una muestra negativa para marcadores del VHB; 7) Control positivo para la presencia del ADN del VHB y 8) Marcador de peso molecular de ADN (DNA M.W marker, 100 pb).

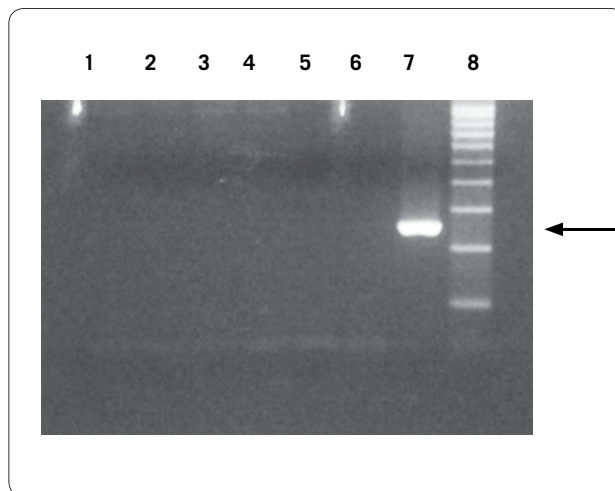


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio de plasmas humanos evaluados mediante la técnica de PCR para la determinación de ADN del VHB correspondiente a la región S del virus.

Los carriles corresponden como sigue: 1), 2),3),4),5) plasmas humanos negativos para la presencia del ADN del VHB; 6) Plasma negativo para marcadores serológico del VHB, utilizado como control negativo; 7) Plasma positivo para marcadores serológicos del VHB y la presencia de ADN del VHB, utilizado como control positivo. Se señala producto de 250pb correspondiente al ADN genómico viral; 8) Marcador de peso molecular de ADN (DNA M.W Marker, 100 pb).

anticuerpos anti-HBc. Se ha reportado que portadores del VHB, en el momento de la seroconversión de AgsHB a anticuerpos anti-HBs, pueden disminuir el AgsHB a niveles muy bajos para ser detectados, de manera tal que las muestras de estos pacientes siguen siendo infecciosas (bajos niveles de portador).⁽¹¹⁾ Por otro lado, los individuos con hepatitis B aguda pasan por un período cuando el AgsHB no es detectado, antes del desarrollo de anticuerpos anti-HBs en la circulación (período de “ventana”).⁽¹²⁾ Dado que los anticuerpos anti-HBc son inducidos tempranamente en la etapa aguda de la infección y persisten en los portadores del VHB,⁽¹²⁾ la presencia de este marcador serológico en ausencia del AgsHB pueden estar asociados con: 1) un estado de portador crónico, en el cual el AgsHB no es detectable; 2) una infección remota con pérdida de anticuerpos anti-HBs; 3) transferencia pasiva de anticuerpos anti-HBc o 4) reacción cruzada inespecífica de anticuerpos, dando origen a resultados falsos positivos de anticuerpos anti-HBc.⁽¹³⁾ Numerosas investigaciones han reportado receptores de unidades de sangre positivas sólo para anticuerpos anti-HBc, quienes se han infectado con VHB.⁽¹⁴⁾ Igualmente, se ha demostrado que donantes de hígado, positivos para anticuerpos anti-HBc solamente, tienen un riesgo potencial de transmitir la infección por VHB.⁽¹⁵⁾

En el presente estudio se detectó la presencia de ADN del VHB en un 7% de la población evaluada, es decir, 5 de 71 plasmas estudiados lo cual evidencia actividad de replicación del VHB. La presencia de ADN del VHB detectado en la población evaluada no se correlacionó con bajos o elevados niveles de anticuerpos anti-HBs. Algunos estudios que han evaluado la inmunización inducida por vacunas contra el VHB han demostrado que niveles de anticuerpos anti-HBs de 10 UI/L inducidos por estas vacunas en humanos pueden ser capaces de conferir protección contra la infección. Por otra parte, niveles por debajo de 10 UI/L son insuficientes para prevenir la misma.⁽¹⁶⁾ Los resultados del presente trabajo respecto a la cuantificación de anticuerpos anti-HBs fueron comparados con aquellos obtenidos en un estudio anterior.⁽¹⁷⁾ En el mencionado trabajo se observó que 43% de los 258 plasmas evaluados provenientes de donantes de sangre presentaron niveles >100 UI/L de manera similar a los resultados obtenidos en el presente estudio donde 38% (11/29) presentaron niveles de anticuerpos anti-HBs >100 UI/L. Sin embargo, 4% de la población evaluada en el estudio referido presentó ADN del VHB, no observándose correlación alguna entre la presencia de ADN genómico y elevados o bajos niveles de anticuerpos anti-HBs, lo cual coincide igualmente con un estudio anterior y con el presente trabajo, sugiriendo que niveles mayores de 30 UI/L no protegen contra hepatitis B oculta.⁽¹⁸⁾ Estos resultados indican que elevados títulos de anticuerpos anti-HBc parecen estar asociados a la presencia del ADN del VHB.⁽¹⁹⁾ Por otra parte, en otras investigaciones hechas en poblaciones de donantes con baja prevalencia,

Tabla 2. Evaluación serológica de pacientes VIH positivos referidos al INHRR con infección residual del VHB y su relación con la presencia de ADN del VHB por PCR

N Ficha	Evaluación Serológica				PCR		
	anti-HBc	AgsHB	Anti-HBs (UI/L)	AgeHB	Anti-HBe	Region S	Region C
193840	+	-	100	-	-	-	+
190834	+	-	86	-	-	-	+
196572	+	-	0	-	-	-	+
197979	+	-	210	-	+	-	+
207657	+	-	75	-	+	-	+

no se ha detectado ADN del VHB en individuos positivos para anticuerpos anti-HBc y negativos para AghBs.⁽²⁰⁾

En adición, los resultados del presente trabajo coinciden con otros estudios realizados donde se determinó la frecuencia de hepatitis B oculta en pacientes con VIH, en el Centro de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Cincinnati, Ohio (EE UU). Se encontró que de 909 pacientes sin antecedentes de infección por VHB ó enfermedad hepática no viral, 4,7% (43/909) tenían ADN del VHB, 12 de ellos (1,3% del total de pacientes) tenían hepatitis B oculta sin AgsHB detectable. En este grupo, 4 pacientes resultaron positivos tanto para anticuerpos anti-HBs y ADN del VHB, 3 presentaron anticuerpos anti-HBc detectables, pero no anticuerpos anti-HBs y 5 resultaron negativos para todos los marcadores sanguíneos del VHB. Se empleó para dicho estudio un ensayo de PCR en tiempo real para amplificar la detección del ADN del VHB.⁽²¹⁾ En otro trabajo, se analizaron 179 pacientes con VIH y AgsHB indetectable, pero anticuerpos anti-HBc detectables, elegidos al azar de 699 participantes en el hospital de la Universidad de Pensilvania (EE UU). En este grupo, el 10% (17/179) de los pacientes tuvieron niveles detectables de ADN del VHB, empleando un ensayo altamente sensible de PCR, señalando una hepatitis B oculta. Los anticuerpos anti-HBs estuvieron presentes en proporciones similares en pacientes con y sin infección oculta por VHB (41% vs. 58%, respectivamente).⁽²²⁾ En otra investigación de tipo prospectiva de 115 pacientes infectados por el VIH con AgsHB negativo, sin tratamiento previo al inicio de su seguimiento, se procedió a monitorear las modificaciones en la replicación del VHB y el desarrollo de citólisis hepática. De la población evaluada, 86 pacientes completaron un período mínimo de 6 meses, de los cuales 31 presentaron anticuerpos anti-HBc como marcador exclusivo evidenciándose presencia de ADN del VHB en un 35,5% y 28 casos de citólisis hepática en pacientes con infección oculta por VHB.⁽²³⁾

La determinación de AgeHB ha sido utilizada a nivel diagnóstico como un marcador de infectividad y replicación viral activa en portadores de AgsHB. Así mismo, la seroconversión de AgeHB a anticuerpos anti-HBe ha sido considerado como un marcador pronóstico favorable ó como un indicador de efectividad en la terapia antiviral en hepatitis

B crónica.⁽²⁴⁾ Se evidenció que los plasmas con ADN del VHB pertenecientes a los pacientes VIH positivos se encontraban en una etapa tardía de la hepatitis crónica, demostrado por la ausencia de AgeHB en estas muestras. La presencia de anticuerpos anti-HBe en casi la mitad (40%) de los plasmas con infección residual en ausencia del AgeHB coinciden con un estudio anterior, en el cual 11 plasmas con ADN del VHB resultaron negativos para la presencia de AgeHB, mientras que 63,6% de estas muestras (7/11 plasmas) fueron positivas para la presencia de anticuerpos anti-HBe.⁽¹⁷⁾

El estado de replicación del VHB en la hepatitis crónica y en las infecciones atípicas asociadas a persistencia viral es un importante parámetro en el estudio de la progresión de la enfermedad, en la evaluación del tratamiento y elección de la terapia antiviral.

En conclusión, se encontró una endemicidad intermedia de hepatitis residual por VHB (7%) en las muestras evaluadas proveniente de pacientes infectados por VIH. Se evidenció que estos plasmas con ADN del VHB se encontraban en una etapa tardía de la hepatitis crónica, demostrado por la ausencia de AgeHB en estas muestras. Se demostró una vez más que niveles de anticuerpos anti-HBs > 30 UI/L no protegen contra la infección residual por VHB al no observarse diferencia estadísticamente significativa entre la presencia de ADN del VHB y bajos o elevados niveles de anticuerpos anti-HBs. Este hallazgo sugiere la aplicación de esquemas de vacunación contra el VHB en pacientes infectados por VIH. En general, los resultados obtenidos en el presente estudio constituyen el primer reporte sobre análisis molecular de la infección oculta del VHB en pacientes infectados por VIH en Venezuela.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo económico del BID-FONACIT (Proyecto de Grupo G-2005000394 realizado conjuntamente con el Dr. Héctor Rangel y la Dra. Flor H. Pujol del IVIC).

Referencias

- Barragán V. Hepatitis viral tipo B. Dirección de desarrollo humano. Centro Nacional para la Salud de la Infancia y la Adolescencia. SSABoletín. 2001.sem 24.EDIT24.
- Devesa M, Loureiro C. Variabilidad genética del virus de la hepatitis B y sus implicaciones. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas 2000;6:13-28.
- Decker RH. Diagnosis of acute and chronic hepatitis B viral infections. En: AJ Zuckerman y HC Thomas, eds. Viral hepatitis. 2nd ed. Nueva York: Churchill-Livingstone 1998:201-217.
- Gutiérrez C. Infección oculta por el virus de la hepatitis B (VHB). Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas 2000;6:29-38.
- Bock C-T, Malek NP, Tillmann HL, Manns MP, Trautwein C. The enhancer I core region contributes to the replication level of hepatitis B virus in vivo and in vitro. Virol 2000;74:2193-2202.
- Günther S. Naturally occurring variants of hepatitis B virus. Adv Virus Res 1999;25:25-137.
- Gandhi MJ, Yang GG, McMahon BJ, Vyas GN. Hepatitis B virions isolated with antibodies to the pre-S1 domain reveal occult viremia in surface antigen-negative/antibody-positive Alaska native carriers by polymerase chain reaction. Transfusion 2000;40:2193-2202.
- Gutiérrez. C Analisis Serológico y Molecular de la Infección Oculta por el Virus de la Hepatitis B (VHB). Manual de trabajo de grado en Microbiología. Caracas, Septiembre, 2002. I.V.I.C.
- Geli M. Consejera de salud. Documento de Consenso sobre la Coinfección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana y los Virus de las Hepatitis en Cataluña 2005 Edita dirección general de salud pública Producción editorial: Prous Science, S.A.
- Milich DR, Schödel F, Hughes JL, Jones JE y Peterson, DL The Hepatitis B Virus Core and e Antigens elicit different Th cell subsets: Antigen Structure Can affect Th cell phenotype. J of Virol. 1997;71(3):2192-2201.
- Summers J y Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. Cell. 1982;29:403-415.
- Bock C-T, Malek NP, Tillmann Manns MP y Trautwein C. The enhancer I core region contributes to the replication level of hepatitis B virus in vivo and in vitro. J of Virol. 2000;Mar. 2193-2202.
- Schifman RB, Rivers SL, Sampliner RE y Krammes JE. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors. Arch Intern Med 1993;153:2261-2266.
- Saraswat S, Banerjee K, Chaudhury N, Mahant T, Khandekar P, Kumar R et al. Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood. J of Hepatol. 1996;25:639-643.
- Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, Bretan PN, Emond J, Lake JR et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAb (+), HBIGM(-) organ donors. Transplantation, 1995;59:230-234.
- Davis HL, Mancini M, Michel M-L y Whalen RG. DNA-mediated immunization to hepatitis B surface antigen: longevity of primary response and effect of boost. Vaccine, 1996;14(9):910-915.
- Gutiérrez C. Analisis serológico y molecular de la infección oculta por el virus de la hepatitis B (VHB). Manual de trabajo de grado en Microbiología. Caracas, Septiembre, 2002. I.V.I.C.
- Wang J-T, Wang T-H, Sheu L-N, Lin J-T y Chen D-S. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. The J of Inf Dis. 1991;163:397-399.
- Gutiérrez C, Leon G, Loureiro CL, Uzcategui N, Liprandi F, Pujol FH. Hepatitis B virus DNA in blood samples positive for antibodies to core antigen and negative for surface antigen. Clin Diagn Lab Immunol, 1999;Sep.6(5):768-770.
- Douglas DD, Taswell HF, Rakela J y Rabe D. Absence of hepatitis B virus DNA detected by polymerase chain reaction in blood donors who are hepatitis B surface antigen negative and antibody to hepatitis B core antigen positive from a United States population with a low prevalence of hepatitis B serologic markers. Transfusion, 1992;33:212-216.
- Shire NJ, Rouster SD, Stanford SD, et al. The prevalence and significance of occult hepatitis B virus in a prospective cohort of HIV-infected patients. J Acquir Immune Defic Syndr 2007;44:309-314.
- Re VL, Frank I, Gross R, et al. Prevalence, risk factors, and outcomes for occult hepatitis B virus infection among HIV-infected patients. J Acquir Immune Defic Syndr 2007;44:315-320.
- Filippini P, Coppola N, Pisapia R et al. Impact of occult hepatitis B virus infection in HIV patients naive for antiretroviral therapy. AIDS 2006;20:1253-1260. Publicado por la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. Depósito Legal: SE-99-2000. ISSN: 1576-3129.
- Chun YK, Kim JY, Woo HJ, Oh SM, Kang I, Ha J et al. No significant correlation exists between core promoter mutations, viral replication, and liver damage in chronic hepatitis B infection. Hepatology 2000;32(5):1154-1162.

Correspondência:

Héctor Ariza

Charallave, Res. Charallave, Calle Lourdes Edo.

Miranda, Caracas - Venezuela.

e-mail: ariza_233@hotmail.com