

# Guías del laboratorio para *screening*, diagnóstico y monitoreo de la lesión hepática\*



The National Academy  
of Clinical Biochemistry

\* Este documento ha sido traducido con permiso de la Nacional Academy of Clinical Biochemistry (NACB), Washington, DC. La NACB no se hace responsable de la exactitud de la traducción. Los puntos de vista presentados son los de los autores y no necesariamente los de la NACB.

## EDITOR

D. Robert Dufour  
Chief, Pathology and Laboratory Medicine Service, VA Medical Center, Washington, DC;  
Professor of Pathology, George Washington University School of Medicine.

## GUIDELINES COMMITTEE

John A. Lott  
Professor of Pathology, The Ohio State University College of Medicine  
Frederick S. Nolte  
Associate Professor of Pathology and Laboratory Medicine, Emory University School of Medicine  
David R. Gretch  
Associate Professor of Laboratory Medicine, University of Washington School of Medicine  
Raymond S. Koff  
Professor of Medicine, University of Massachusetts Medical Center  
Leonard B. Seeff  
Senior Scientist, Hepatitis C Programs, National Institute of Diabetes, Digestive, and Kidney Diseases, National Institutes of Health;  
Professor of Medicine, Georgetown University School of Medicine.

## Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

## Introducción

La lesión del hepatocito es un hallazgo común en la práctica médica. La incidencia de la hepatitis viral aguda ha disminuido marcadamente en la década pasada debido a la introducción de vacunas para las hepatitis A y B y al análisis de sangre de donantes para hepatitis C. Otras formas de lesión hepática aguda no han cambiado, prácticamente, en incidencia y las lesiones hepáticas crónicas han aumentado. En los Estados Unidos, se estima que un millón de individuos están infectados crónicamente con el virus de la hepatitis B y 2,1-2,8 millones lo están con el de la hepatitis C (1). La cirrosis es actualmente la 9ª causa de muerte en los Estados Unidos (2); se predice que las muertes por cirrosis aumentarán del 223% en el 2008 al 360% en el 2028 debido a casos originados en una infección crónica por hepatitis C (3). La incidencia del carcinoma hepatocelular se ha duplicado en los últimos 20 años (4) y se espera que aumente otro 68% durante la próxima década a partir de cánceres que desarrollarán en individuos infectados con el virus de la hepatitis C (3).

La enfermedad hepática es a menudo clínicamente silente hasta períodos tardíos de su curso. Por esta razón, son generalmente necesarias las pruebas de laboratorio para el reconocimiento y caracterización del tipo de lesión hepática presente. La causa más común de lesión hepática en el mundo es la infección con virus que infectan primariamente al hígado, a menudo llamados virus de la hepatitis. Se necesitan pruebas serológicas y otras basadas en ácidos nucleicos para poner de manifiesto la exposición a estos virus y su presencia, así como para controlar el tratamiento de los individuos afectados. Un cierto número de otras enfermedades pueden también causar lesión hepática, particularmente los desórdenes inmunológicos y los desórdenes congénitos y adquiridos del metabolismo. Las pruebas de laboratorio son críticas para el reconocimiento de estas otras enfermedades, particularmente en pacientes sin evidencia de infección viral. Finalmente, la exposición a etanol y otras drogas puede causar lesión hepática; la información clínica es el medio más confiable para reconocer estas causas potenciales de daño hepático.

Las recomendaciones específicas en esta monografía se basan en información relevante publicada. La solidez de los datos científicos que apoyan cada recomendación se caracteriza usando el criterio de puntaje adoptado por el Practice Guidelines Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), como se resume en la Tabla I.

Tabla I. Categorías de la ASSLD que reflejan la calidad de las evidencias en las que se basan las Recomendaciones (números romanos) y las guías de evidencias secundarias (letras).

I.	Evidencias de múltiples estudios clínicos controlados, bien diseñados y al azar, cada uno involucrando a un número suficiente de pacientes como para tener valor estadístico.
II.	Evidencia de, al menos, un gran estudio clínico bien diseñado, con o sin casos de azar, de cohorte o estudios analíticos de casos controlados, o un meta-análisis bien diseñado.
III.	Evidencia basada en experiencia clínica, estudios descriptivos o informes de comités de expertos.
IV.	No evaluado.
A.	Beneficio de supervivencia.
B.	Mejora en el diagnóstico.
C.	Mejora en la calidad de vida.
D.	Mejora en parámetros fisiopatológicos importantes.
E.	Impactos en el costo de la salud.

Para cada recomendación, los números romanos del I al IV describen la calidad de la evidencia en la que se basa cada una de ellas y las letras de la A a la E describen el significado de la recomendación. Debido a la naturaleza de estas guías sólo se usan en las recomendaciones las categorías B y E.

## Sección I

### Pautas para la realización de pruebas de laboratorio de la función y lesión hepáticas

#### **ESPECIFICACIONES PARA LAS PRUEBAS DE LABORATORIO**

Las pruebas de laboratorio son usadas por los médicos para el diagnóstico, seguimiento, y pronóstico en pacientes con enfermedad hepática. Un número de factores, primariamente preanalíticos y analíticos, afectan la certeza de los resultados de las pruebas. Las principales características de cualquier prueba son su desvío y su imprecisión. El desvío es primariamente una característica analítica, por la cual los resultados reportados difieren del valor verdadero. La imprecisión, o falta de reproducibilidad, se debe tanto a factores fisiológicos como analíticos. En el estado basal, los resultados de las pruebas fluctúan en un individuo debido al azar y a la variación predecible; esto se denomina variación intraindividual. El grado de variación puede estar incrementado bajo ciertas condiciones, tales como ingesta de comida, hora del día, ejercicio, enfermedad aguda, u otras formas de estrés. En general, para muchas pruebas, hay también diferencias significativas de una persona a otra, lo que se denomina variación interindividual. La variación in-

traindividual, interindividual, y las causas analíticas de variación deben ser consideradas en la interpretación de los resultados de las pruebas de laboratorio como indicando un cambio en el estado de salud de un individuo.

Las especificaciones para la realización de las pruebas sirven como una guía para el laboratorio del grado de variación analítica que permitirá al médico determinar con certeza el estado fisiológico de un individuo. Las especificaciones para la realización pueden ser establecidas por diferentes métodos, incluyendo (en orden decreciente de importancia) estudios médicos, datos de variación biológica, opiniones de médicos o de sociedades de profesionales, o datos de pruebas de aprovechamiento, o directivas gubernamentales (5).

Los objetivos de la realización deben especificar la imprecisión aceptable, el desvío, y el error total (desvío + 1.65 \* imprecisión). Cuando los objetivos son derivados de datos biológicos, el objetivo *target* para la imprecisión es menos de la mitad de la variación intraindividual para la prueba, mientras que el objetivo para el desvío es menor que un cuarto del promedio de la variación intraindividual ( $cv_i$ ) e interindividual ( $cv_g$ ), calculado como  $1/4 (cv_i^2 + cv_g^2)$  (6). La Tabla II resume los datos publicados sobre las especificaciones de realización y de precisión en el laboratorio para pruebas relacionadas a la función y lesión hepáticas.

#### **INTERVALOS DE REFERENCIA**

A fin de determinar la probabilidad de que una enfermedad esté presente, los resultados de una prueba son típicamente comparados con valores obtenidos a partir de individuos sanos; el rango de tales resultados es denominado intervalo de referencia, en tanto que los extremos superior e inferior del intervalo son denominados límites de referencia superior e inferior,

Tabla II. Especificaciones de realización y precisión para pruebas de hígado (porcentaje).

Origen	Tipo	ALT	AST	ALP	γGT	Albúmina	Bilirrubina
Especificaciones de realización							
CLIA	Mandato	TE 20	TE 20	TE 30		TE 10	TE 20 ó 0.4 mg/dL
Europa (7)	Variación Biológica	I 13.6	I 7.2	I 3.4	N/S	I 1.4	I 11.3
		B 13.6	B 6.2	B 6.4		B 1.1	B 9.8
		TE 36	TE 18	TE 12		TE 3.4	TE 28
Ricos (8)	Variación Biológica	I 12.2	I 6.0	I 3.2	I 6.9	I 1.6	I 12.8
		B 12.2	B 5.4	B 6.4	B 10.8	B 1.3	B 10
		TE 32	TE 15	TE 12	TE 22	TE 3.9	TE 31
Skendzel (9)	Opinión Clínica	N/S	TE 26	N/S	N/S	N/S	TE 23
Dentro de la imprecisión del laboratorio (porcentaje)							
Lott (10)	Prueba de aprovechamiento	8	9	5	6	N/S	N/S
Ross (11)	Prueba de aprovechamiento	N/S	N/S	N/S	N/S	4.4	8.9
TE – error total; I – imprecisión; B – desvío; N/S – no especificado.							

respectivamente. La mayoría de los laboratorios publica un único intervalo de referencia para casi todas las pruebas de laboratorio, definido como el intervalo central con el 95% de los resultados, obtenidos a partir de personas sanas. En muchos casos, hay factores reconocidos que pueden afectar los resultados de las pruebas sin indicar la presencia de enfermedad, particularmente cuando sólo es usado un intervalo de referencia. Para cada una de las pruebas de laboratorio listadas existen factores que afectan a los resultados y que son resumidos en tablas y figuras.

Para algunas pruebas los límites de referencia son definidos por consecuencias en la salud; como ejemplos se incluyen los límites de referencia usados corrientemente para el colesterol y la glucosa en ayunas. El uso de límites de referencias basados en consecuencias, también requiere un alto grado de estandarización de la determinación entre laboratorios para asegurar que los resultados de todos los laboratorios tengan una relación similar con el límite superior del intervalo de referencia. Mientras datos de estudios acerca de la probabilidad de transmisión de infección luego de una transfusión sugieren que una consecuencia basada en el límite superior de referencia puede ser apropiada para ALT, no hay suficiente estandarización de las determinaciones ALT entre laboratorios para permitir el uso de tal aproximación, en la actua-

lidad. No hay datos sobre límites de referencia basados en consecuencias para otras pruebas de función y lesión hepáticas.

### AMINOTRANSFERASAS

La aspartato aminotransferasa (AST, también algunas veces denominada SGOT) y la alanin aminotransferasa (ALT, también a veces denominada SGPT) se encuentran ampliamente distribuidas en las células del cuerpo. AST se encuentra primariamente en corazón, hígado, músculo esquelético y riñón, mientras que ALT se encuentra primariamente en hígado y riñón, con cantidades menores en corazón y músculo esquelético.

Las actividades de AST y ALT en hígado son aproximadamente 7.000 y 3.000 veces las actividades séricas, respectivamente (12). ALT es exclusivamente citoplasmática; tanto la forma mitocondrial como la citoplasmática de AST se encuentran en todas las células (13). La vida media de la AST total es 17±5 horas, mientras que la de ALT es 47±10 horas (14). La vida media de la AST mitocondrial promedia las 87 horas (15). En adultos, las actividades de AST y ALT son significativamente mayores en hombres que en mujeres, y los intervalos de referencia varían con la edad (Figura 1) (Figura 2).

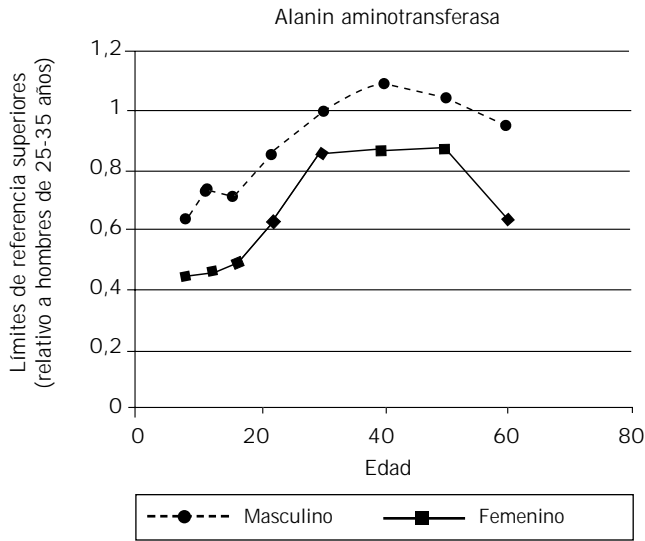


Figura 1. Efectos de la edad y el sexo sobre los límites de referencia superiores para ALT. El límite de referencia superior para hombres de 25-35 años es fijado en 1.0 unidades de valor relativo. Los límites superiores del intervalo de referencia para ALT aumentan desde la niñez hasta aproximadamente los 40 años de edad, con mayores aumentos en hombres que en mujeres; los límites superiores del intervalo de referencia son aproximadamente 10% mayores en hombres de 40 años que en los de 25 años. Luego de los 40 años, los límites superiores del intervalo de referencia de ALT nuevamente disminuyen, con una disminución más pronunciada en hombres que en mujeres. Datos tomados de la referencia 16.

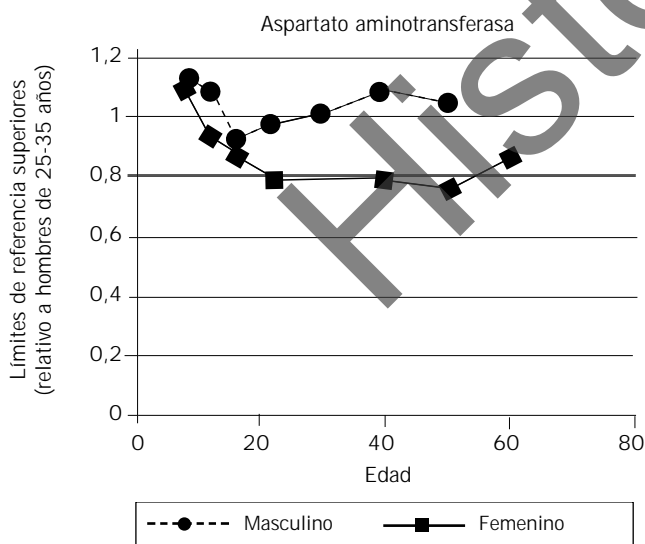


Figura 2. Efectos de la edad y el sexo sobre los límites de referencia superiores para AST. El límite de referencia superior para hombres de 25-35 años es fijado en 1.0 unidades de valor relativo. Los límites superiores del intervalo de referencia para AST aumentan desde la niñez hasta la juventud, pero cambian relativamente poco con el aumento de la edad en adultos hasta poco después de los 60 años. En todas las edades excepto en la niñez y en la vejez, los límites superiores del intervalo de referencia para AST son aproximadamente 25-30% mayores en hombres que en mujeres. Datos tomados de la referencia 16.

Hasta aproximadamente los 15 años de edad, la actividad de AST es ligeramente mayor que la de ALT, con un patrón inverso para la edad de 15 años para hombres, pero persistiendo hasta la edad de 20 años en mujeres (17). En adultos, la actividad de AST tiende a ser mas baja que la de ALT hasta alrededor de los 60 años, cuando ambas son groseramente iguales. Debido a que los límites de referencia superiores varían poco entre los 25 y 60 años no se necesita usar límites de referencia ajustados por la edad para esta población, que comprende a la mayoría de las personas con lesión hepática crónica. Límites de referencia separados se requieren para niños y ancianos; esto puede implicar esfuerzos en el orden nacional para obtener suficientes muestras de individuos sanos para determinar con certeza los límites de referencia.

La enfermedad hepática es la causa más importante de aumento de la actividad de ALT y una causa común de aumento de actividad de AST. Hay otros factores distintos de la enfermedad hepática que afectan la actividad de AST y ALT; ellos se resumen en la Tabla III.

Inesperadamente, resultados anormales aparecen como normales en pruebas repetidas. En muchos tipos de enfermedad hepática, la actividad de ALT es mayor que la de AST; una excepción se ve en la hepatitis alcohólica. Las razones para la mayor actividad de AST en la hepatitis alcohólica parecen ser múltiples. El alcohol incrementa la actividad de AST mitocondrial en plasma, mientras que otras formas de hepatitis no lo hacen (31). La mayoría de las formas de injuria hepática disminuyen la actividad en los hepatocitos de las formas citosólica y mitocondrial de AST, pero el alcohol sólo disminuye la actividad de la forma citosólica (32). La deficiencia de piridoxina, común en los alcohólicos, disminuye la actividad de ALT (33), y el alcohol induce la liberación de AST mitocondrial desde las células sin daño celular visible (34).

AST y ALT son típicamente medidas por su actividad catalítica (35); ambas requieren 5'-fosfato de piridoxal (P-5'-P) para la máxima actividad, aunque el efecto de la deficiencia de P-5'-P sobre la actividad de ALT es mayor que sobre la de AST (36). En caso de falla renal, las actividades de AST y ALT son significativamente menores que en individuos sanos, tal vez debido a los ligandos del suero para P-5'-P, dado que el P-5'-P total está elevado (37). Debido a las marcadas diferencias entre laboratorios, la estandarización de los métodos es una prioridad. En el ínterin, métodos alternativos para minimizar las diferencias entre laboratorios, tales como expresar los resultados como múltiplos del límite de referencia (38), han mostrado una disminución en la variación entre laboratorios (39).

Los valores usuales para el error total en las mediciones de ALT son de 20% (CLIA). Los datos clínicos

Tabla III. Factores que afectan la actividad de AST y ALT además de la lesión hepática.

Factor	AST	ALT	Referencia	Comentarios
Momento del día		45% de variación durante el día; mayor por la tarde, menor por la noche	18	Sin diferencias significativas entre 9 a.m y 9 p.m; similar en enfermedad hepática y en individuos sanos.
Día a día	5-10% de variación día a día	10-30% de variación día a día	19	Similar en enfermedad hepática y en individuos sanos y en ancianos y jóvenes.
Raza/sexo	15% más alto en hombres afroamericanos		21	Sin diferencias significativas entre afroamericanos.
Índice de masa corporal (IMC)	40-50% más alto con alto IMC	40-50% mayor con alto IMC	17, 22, 23	Relación directa entre peso y AST, ALT.
Comidas	Sin efecto	Sin efecto	17	
Ejercicio	Aumento de 3 veces con ejercicio extremo	20% menos en individuos que hacen ejercicios normalmente respecto de aquellos que no practican o lo hacen de manera más extenuante	24, 25	Los efectos del ejercicio se han visto predominantemente en hombres: diferencias mínimas en mujeres (< 10%); las enzimas aumentan más con el entrenamiento.
Almacenamiento de la muestra	Estable a temperatura ambiente por 3 días; en refrigerador por 3 semanas (<10% de disminución); estable por años frizados (10-15% de disminución)	Estable a temperatura ambiente por 3 días, en refrigerador por 3 semanas (10 – 15% de disminución). Disminución marcada en descongelamiento	26, 27, 28	La estabilidad se basa en separar el suero de las células; estable 24 h en sangre entera; aumento marcado luego de 24 h.
Hemólisis, anemia hemolítica	Aumento significativo	Aumento moderado		Depende del grado de hemólisis; generalmente varias veces menor que la elevación de la LDH
Lesión muscular	Aumento significativo			
Otro	Macroenzimas	Aumento moderado		Relacionado con el grado de elevación de CK.
		Macroenzimas	29, 30	Elevación estable afecta sólo TGO o TGP.

sobre los cuales se basan estos objetivos no están disponibles para la mayoría de las pruebas de laboratorio de evaluación hepática, con la excepción de ALT. Existen pocos datos sobre la variación biológica de ALT en hepatitis crónica, particularmente en Hepatitis C, aunque comúnmente se acepta que los resultados de ALT son altamente variables. En un estudio de 275 pacientes con infección por VHC confirmada, el coeficiente de variación intraindividual promedio fue 38%, aun-

que en un cuarto de los pacientes, fue menos que 23% (Dufour, observaciones no publicadas). Varios estudios han mostrado que el tratamiento de la infección crónica por VHC no se indica si ALT está dentro del rango de referencia. Así, la determinación de la certeza de ALT en el límite de referencia es crítica para el correcto tratamiento de pacientes con infecciones con VHC. El consenso de los autores y del AASLD Practice Guidelines Committee es que los criterios de *performance*

para ALT deben ser definidos en los límites superiores de referencia, y que los objetivos actuales son inadecuados para uso clínico. Los datos en pacientes con ALT estable sugieren que se requiere un error total menor de 10% en los límites superiores de referencia para una detección exacta de pacientes que pueden beneficiarse con el tratamiento para VHC. Los datos actuales sobre la precisión intralaboratorio (Tabla II) sugieren que este objetivo no puede ser logrado por métodos corrientes. Es necesario desarrollar un programa de estandarización para determinaciones de ALT, similar al usado para CK-MB. Esto puede requerir el uso de otros métodos, tales como inmunoensayo, para lograr objetivo necesario en el error total para el manejo de pacientes con hepatitis crónica.

Los objetivos de la *performance* para el error total en las medidas de actividad AST son 15-20%, ambos de acuerdo a los requerimientos CLIA y basados en la variación biológica. Esto cumple con las necesidades de los médicos para el diagnóstico y el manejo de la enfermedad hepática (9). Dichos objetivos no son tan críticos para AST como para ALT; un menor porcentaje de resultados de AST son anormales en VHC crónica comparados con ALT (66% vs. 71%). AST es anormal (6%) mientras ALT es normal, excepto en la cirrosis o en el abuso de alcohol (Dufour, observaciones no publicadas).

## Recomendaciones

Los ensayos para la actividad de ALT deben tener un error analítico total  $\leq$  del 10% en el límite de referencia superior (IIB). Los objetivos publicados para AST, con un error total de 15-20%, son adecuados para uso clínico (IIIB).

La estandarización de los valores de ALT entre métodos y entre laboratorios es una necesidad prioritaria para el cuidado de los pacientes. Hasta que esto sea logrado debe ser considerado el uso de resultados normalizados (IIIB).

Como mínimo, los laboratorios deben tener separados los límites de referencia superiores para hombres y mujeres adultas; los límites de referencia también deben ser establecidos para los niños y para los adultos con edad por encima de los 60 años a través de esfuerzos cooperativos (IIB).

Valores inesperadamente elevados de ALT y/o AST deberían ser evaluados por pruebas repetidas; en el caso de individuos sometidos a ejercicio intenso, la repetición debería ser realizada luego de un período de abstinencia de ejercicio. Se requiere investigación para determinar el intervalo de tiempo apropiado (IIB, E).

## FOSFATASA ALCALINA

La fosfatasa alcalina (ALP), involucrada en el transporte de metabolitos a través de las membranas celulares, se encuentra en orden decreciente de abundancia en placenta, mucosa ileal, riñón, hueso e hígado. Las fosfatasas alcalinas de hueso, hígado y riñón comparten una estructura proteica común, codificada por el mismo gen (40) (41); difieren en su contenido en hidratos de carbono. La vida media de la isoenzima hepática es 3 días (42). La Figura 3 ilustra cambios relacionados con la edad y el sexo en los límites de referencia superiores para fosfatasa alcalina.

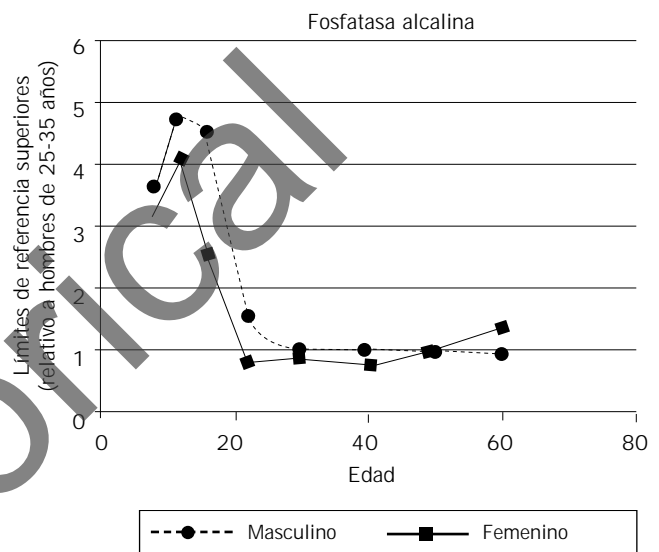


Figura 3. Efectos de la edad y el sexo sobre los límites de referencia superiores para fosfatasa alcalina. El límite de referencia superior para varones de 25 a 35 años de edad está fijado en 1.0 unidades de valor relativo. La fosfatasa alcalina es varias veces más alta en niños y adolescentes, alcanzando las actividades del adulto aproximadamente a los 25 años. Los valores son ligeramente mayores en hombres que en mujeres hasta los últimos años de vida. En los hombres adultos, los límites superiores del intervalo de referencia no cambian con la edad, mientras que en las mujeres los límites superiores del intervalo de referencia aumentan con la menopausia. Datos de la referencia 16.

La interpretación de los resultados de fosfatasa alcalina usando poblaciones de referencia adecuadas es particularmente importante en niños; los límites de referencia difieren poco en los hombres y mujeres adultos entre las edades de 25 y 60 años. Luego de los sesenta años, los límites de referencia aumentan en las mujeres, aunque los estudios no han sido consistentemente evaluados para la presencia de osteoporosis, que puede incrementar la actividad de fosfatasa alcalina en suero. Se requieren rangos de referencia separados para niños y mujeres embarazadas.

La colestasis estimula la síntesis de ALP por los hepatocitos; las sales biliares, los detergentes u otros agentes tensioactivos facilitan la liberación de ALP desde las membranas celulares (43)(44). Otros factores que afectan la fosfatasa alcalina están resumidos en la Tabla IV.

El método para ALP total de mayor uso es el método con p-nitrofenilfosfato como sustrato, método de Bowers, McComb and Kelly (50).

Agentes complejantes tales como citrato, oxalato o EDTA unen cationes tales como zinc y magnesio, que son cofactores necesarios para la actividad de ALP, causando valores falsamente disminuidos, tan bajos como 0. La transfusión de sangre (que contenga citrato) causa disminución transitoria de la ALP a través de un mecanismo similar.

La separación de las formas de ALP no específicas de tejido (hueso, hígado y riñón) es dificultosa debido a su similitud estructural; la electroforesis de alta resolución y el isoelectroenfoco son las técnicas más útiles. La ALP hueso-específica puede ser medida por

inactivación por calor (un método pobre), por métodos inmunológicos y electroforéticos. Los inmunoensayos de ALP de hueso están ahora disponibles a partir de varias fuentes (51), y pueden ser usados para monitorear los pacientes con enfermedad ósea. Debido a que hay concordancia entre aumentos de la fosfatasa alcalina de origen hepático y un incremento en la actividad de otras enzimas canaliculares tales como  $\gamma$  glutamil transferasa (GGT), sus valores elevados son una buena indicación de una fuente hepática, pero no excluye que coexista una enfermedad ósea (52).

En contraste a la mayoría de las enzimas, la variación intra individual en ALP es baja, estando ligeramente en promedio ligeramente sobre un 3% (Tabla II). El promedio corriente de la imprecisión entre laboratorios es de 5% y está próxima a las especificaciones recomendadas para la *performance*, un error total de 10-15% permitiría encontrar valores *target* del 12% basados en individuos sanos. El rango de error total especificado por CLIA del 30% parece demasiado amplio para uso clínico y debería ser más estrecho.

Tabla IV. Factores que afectan la actividad de la fosfatasa alcalina además de la lesión hepática.

Factor	Cambio	Ref.	Comentarios
Día a día	5 - 10%	19	Similar en la enfermedad hepática y en la salud, y en jóvenes y adultos
Ingestión de alimentos	Aumenta como mucho 30 U/L	45, 46	En los grupos sanguíneos B y O permanece elevada hasta 12 horas debido a la isoenzima intestinal
Raza / sexo	15% más alta en hombres afroamericanos 10% más alta en mujeres afroamericanas	21	
Índice de masa corporal (IMC)	25% más alta con IMC aumentado	46	
Ejercicio	Sin efectos significativos	25	
Almacenamiento de la muestra	Estable hasta 7 días en heladera; meses en <i>freezer</i>	27	
Hemólisis	La hemoglobina inhibe la actividad enzimática	47	
Embarazo	Aumenta hasta 2-3 veces en el tercer trimestre	48	Debido a las isoenzimas ósea y placentaria
Efecto del cigarrillo	10% superior	21, 46	
Contraconceptivos orales	20% inferior	49	
Otros	Alta en la enfermedad ósea / tumores que producen fosfatasa alcalina; baja luego de una enteritis severa (en niños) y en la hipofosfatasa	47	Puede separarse de las causas hepáticas por las isoenzimas de fosfatasa alcalina y/o una $\gamma$ GT anormal

## Recomendaciones

Las técnicas para fosfatasa alcalina deben tener un error analítico total  $\leq 10\text{-}15\%$  en el límite de referencia superior (IIB).

Se deben proveer límites de referencia separados para niños, basados en la edad y el sexo, y para mujeres embarazadas. Un rango de referencia único es adecuado para adultos mayores de 25 años (IIB).

Las muestras para determinar actividad de fosfatasa alcalina deben ser obtenidas con el paciente en ayunas; de no ser así, se pueden encontrar valores moderadamente elevados que deben ser reevaluados en estado de ayuna antes de proseguir con la evaluación (IIB, E)

Las determinaciones de las isoenzimas de fosfatasa alcalina o la medición de otras enzimas asociadas (tales como  $\gamma\text{GT}$ ) son necesarias sólo cuando la fuente de una actividad de fosfatasa alcalina elevada no es obvia a partir de datos clínicos y de laboratorio (IIB, E).

### GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA

La gamma glutamil transferasa ( $\gamma\text{GT}$ ), una enzima unida a membranas, está presente en orden decreciente de abundancia en el túbulo renal proximal, hígado, páncreas (ductos y células del acino), e intestino. La actividad de  $\gamma\text{GT}$  en suero proviene principalmente del hígado. La vida media de  $\gamma\text{GT}$  en humanos es aproximadamente de 7 a 10 días; en la injuria hepática asociada al alcohol, la vida media aumenta hasta 28 días, sugiriendo una disminución en el *clearance*. En la Figura 4 se resumen diferencias relacionadas con la edad y el sexo en  $\gamma\text{GT}$ .

En los hombres adultos es adecuado un único rango de referencia entre las edades de 25 y 80 años. Aunque los límites superiores del intervalo de referencia son aproximadamente 2 veces mayores en aquellos que tienen ascendencia africana, no se provee comúnmente a los laboratorios información sobre características raciales; sería dificultoso para los laboratorios reportar valores con el intervalo de referencia apropiado basado en la raza. En las mujeres y niños, los límites superiores de referencia para  $\gamma\text{GT}$  aumentan gradualmente con la edad, y son considerablemente más bajos que los encontrados en los hombres adultos. Se deben establecer límites de referencia separados para hombres y mujeres, y para diferentes rangos de edad en mujeres y niños. En niños esto requerirá probablemente un esfuerzo cooperativo de los laboratorios para obtener un número adecuado de muestras de niños sanos.

La  $\gamma\text{GT}$  es ligeramente más sensible que ALP en la enfermedad hepática obstructiva. La  $\gamma\text{GT}$  aumenta en promedio 12 veces el límite superior de referencia en

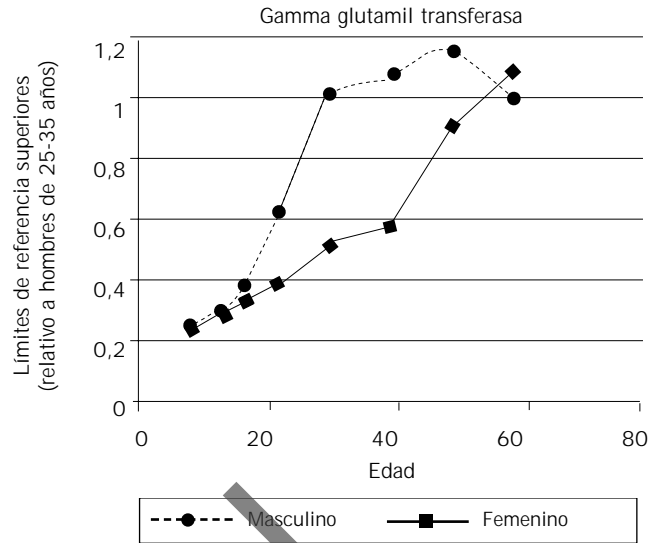


Figura 4. Efectos de la edad y el sexo sobre el límite de referencia superior para g-Glutamil Transferasa (GGT). El límite de referencia superior para hombres entre 25-35 años de edad es establecido como 1.0 unidades de valor relativo. Los límites de referencia superiores de GGT aumentan a lo largo de la vida, con el efecto más marcado en las mujeres que en los hombres. Antes de los 50 años, los límites superiores de referencia en los hombres son aproximadamente 25-40% mayores que en las mujeres, pero las diferencias disminuyen con el aumento de la edad. Datos de la referencia 16.

el 93-100% de pacientes con colestasis, mientras que ALP aumenta en promedio tres veces el límite de referencia superior en el 91% del mismo grupo (52-54). La  $\gamma\text{GT}$  parece aumentar en colestasis por los mismos mecanismos que aumenta la ALP (54) (55). La  $\gamma\text{GT}$  está aumentada en 80-95% de pacientes con alguna de las formas de hepatitis aguda (55) (56). Se resumen en la Tabla V otros factores que afectan la actividad de  $\gamma\text{GT}$ .

## Recomendaciones

Los ensayos para la actividad de gamma-glutamil transferasa deberían tener un error analítico total  $\leq 20\%$  en el límite de referencia superior (IIB).

Se recomienda el uso de muestras tomadas en ayunas por la mañana (IIB).

Mientras que un límite único de referencia superior es apropiado para hombres adultos, para niños y mujeres adultas son necesarios límites de referencia basados en la edad (IIB)

Debido a la falta de especificidad la  $\gamma\text{GT}$  debería ser reservada para indicaciones específicas tales como la determinación del origen de un aumento de fosfatasa alcalina (IIB, E).



Tabla V. Factores que afectan la  $\gamma$ GT aparte de la lesión hepática.

Factor	Cambio	Referencia	Comentarios
Día a día	10-15%	19	Similar en enfermedad hepática y en salud, y en ancianos y jóvenes.
Raza	Aproximadamente doble en afro-americanos	21	Diferencias similares en hombres, mujeres.
Índice de masa corporal (IMC)	25% mayor con leve incremento en el IMC 50% mayor con IMC > 30	22	Efecto similar en hombres, mujeres.
Ingesta de comida	Disminuye después de las comidas; aumenta a medida que pasa el tiempo luego de una ingesta de comida	57	
Ejercicio	Sin efecto significativo	57	
Almacenamiento de la muestra	Estable hasta 7 días en heladera, por meses en el freezer	47	
Embarazo	25% menor durante los primeros meses del embarazo	58, 59	
Drogas	Aumenta por carbamazepina, cimetidina, furosemida, heparina, isotretinoína, metotrexato, anticonceptivos orales, fenobarbital, fenitoína, ácido valproico.	60	Los valores aumentan comúnmente hasta dos veces los límites de referencia, pero pueden aumentar hasta 5 veces los límites de referencia especialmente con fenitoína.
Fumar	10% mayor con un paquete/día; aproximadamente el doble para los fumadores de varios atados.	57	
Consumo de alcohol	Relación directa entre la ingesta de alcohol y $\gamma$ GT	57, 61	Puede permanecer elevada por semanas luego de terminar la ingesta de alcohol crónica.

Los pacientes con diabetes, hipertiroidismo, artritis reumatoidea y enfermedad pulmonar obstructiva a menudo tienen un incremento en  $\gamma$ GT; las razones para estos hallazgos no se conocen bien. Luego del infarto agudo de miocardio,  $\gamma$ GT puede permanecer anormal por semanas (62). Estos otros factores determinan un bajo valor predictivo de  $\gamma$ GT (32%) para enfermedad hepática (63).

El método de la Federación Internacional de Química Clínica descrito por Shaw (64) es usado por la mayoría de los laboratorios. La precisión para actividades menores que la mitad del límite de referencia superior es aproximadamente del 10%; en el doble del límite de referencia superior, está próxima al 5%. Los objetivos de la *performance* para  $\gamma$ GT se basan principalmente en la variación biológica, con límites de tolerancia del error total de aproximadamente 20%. Estos son adecuados para propósitos clínicos, dada la limitada utilidad clínica de las determinaciones de  $\gamma$ GT.

## Bilirrubina

La producción diaria de bilirrubina no conjugada es de 250 a 350 mg, principalmente proveniente de eritrocitos senescentes (65). El *clearance* a valores normales es 5 mg/kg/día, o alrededor de 400 mg/día en adultos; la proporción no aumenta significativamente con hemólisis (66). La vida media de la bilirrubina no conjugada es < 5 min (67). La UDP-glucuronil transferasa cataliza la conjugación rápida de la bilirrubina en el hígado; la bilirrubina conjugada es excretada por bilis y está esencialmente ausente de la sangre en los individuos normales. La bilirrubina delta ( $\delta$ -bilirrubina, también a veces llamada biliproteína) se produce por reacción de la bilirrubina conjugada con albúmina (68); tiene una vida media de aproximadamente 17-20 días (la misma que la albúmina), presentándose en pacientes con ictericia prolongada que se recuperan de

hepatitis o de una obstrucción (69). Los cambios relacionados con la edad y el sexo en los límites de referencia para bilirrubina se ilustran en la Figura 5.

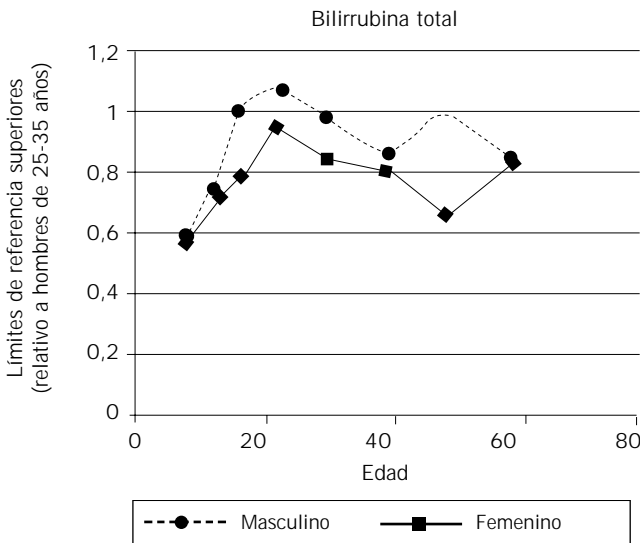


Figura 5. Efectos de la edad y el sexo sobre los límites de referencia para bilirrubina total. El límite superior de referencia para hombres de 25-35 años se toma como 1.0 unidades de valor relativas. Los límites superiores de referencia aumentan durante la niñez y la adolescencia, alcanzando valores picos a aproximadamente los 20 años; luego de esto, los valores disminuyen gradualmente con el aumento de la edad. A todas las edades, los límites de referencia superiores son mayores en los hombres que en las mujeres, aunque las diferencias son mínimas en los extremos de la vida. Datos de la referencia 16.

Los aumentos en la bilirrubina conjugada son altamente específicos para enfermedad hepática o de los ductos biliares (70). Los incrementos en la bilirrubina conjugada también pueden ocurrir con alteraciones de la excreción de bilirrubina, dependiente de energía en sepsis, nutrición parenteral total, y luego de una cirugía (71). En la recuperación de una hepatitis o de una obstrucción, la bilirrubina conjugada cae rápidamente, mientras que la  $\delta$ -bilirrubina declina más lentamente (72). El síndrome de Gilbert, encontrado en aproximadamente el 5% de la población, causa una leve hiperbilirrubinemia no conjugada debido a una alteración en la actividad de la UDP-glucuronil transferasa junto con una disminución en la captación de iones orgánicos (73)(74). La bilirrubina total raramente excede 68-85  $\mu\text{mol/L}$  (4-5 mg/dL), aún durante el ayuno prolongado, a menos que otros factores que incrementan la bilirrubina se encuentren también presentes (75). En la Tabla VI se resumen otros factores que afectan a la bilirrubina.

La bilirrubina se mide típicamente usando dos ensayos, bilirrubina total y bilirrubina directa; sustrayendo la bilirrubina directa de la total se obtiene la "bilirrubina

indirecta". El ensayo para bilirrubina directa mide la mayoría de la  $\delta$ -bilirrubina y la bilirrubina conjugada, y un porcentaje pequeño y variable de bilirrubina no conjugada (79) (80). Un valor alto de pH o la presencia de un agente humectante promueve la reacción de bilirrubina no conjugada en el ensayo de la "directa"; el reactivo para la bilirrubina "directa" debe contener al menos 50  $\mu\text{mol/L}$  de HCl para prevenir la medición de bilirrubina no conjugada (81). La luz puede convertir la bilirrubina no conjugada en un fotoisómero que reacciona directamente (79); esto causa una disminución de la bilirrubina total de 0.34  $\mu\text{mol/L/h}$  (0.02 mg/dL/h). La espectrofotometría directa (métodos en películas secas) mide bilirrubina conjugada y no conjugada individualmente, y luego calcula la  $\delta$ -bilirrubina como la diferencia entre la suma de éstas y la bilirrubina total. Algunos han sugerido que la bilirrubina conjugada es mejor que la bilirrubina "directa" para medir la recuperación de una enfermedad hepática (82).

Los objetivos de la *performance* de la medición de bilirrubina permiten de un 20% (CLIA) a 30% (variación biológica) de error total. Los médicos sienten que un 23% de cambio en los límites de referencia superiores de bilirrubina indican un cambio significativo en la condición (9). Así, CLIA parece alcanzar las necesidades de *performance* clínica. A concentraciones elevadas, un cambio de 2 mg/dL (5%) fue considerado clínicamente significativo. Valores *targets* para el error total deben, por lo tanto, especificar la concentración de bilirrubina.

## Recomendaciones

Los ensayos para bilirrubina deben tener un error analítico total  $\leq 20\%$  (o 6.8  $\mu\text{mol/L}$  [0.4 mg/dL]) en el límite superior de referencia (IIIB).

Deben usarse límites de referencia superiores separados para hombres y mujeres. Mientras los límites superiores de referencia de bilirrubina declinan con la edad en los adultos, hay poca significancia para elevaciones ligeras en la bilirrubina y no se requieren límites de referencia superiores ajustados por edad, separados, para adultos. En niños, deben ser usados rangos de referencia separados (IIIB).

## Albúmina

La albúmina es la más abundante de las proteínas plasmáticas y es producida por los hepatocitos. La velocidad de producción es dependiente de varios factores, incluyendo la provisión de aminoácidos, la presión oncótica del plasma, niveles de citoquinas inhibitorias (particularmente IL-6) y el número de he-

Tabla VI. Factores que afectan la bilirrubina aparte de la lesión hepática.

Factor	Cambio	Referencia	Comentarios
Día a día	15-30%	19	
Ingesta de alimentos	La bilirrubina aumenta un promedio de 1-2 veces con ayuno hasta las 48 horas.	76, 77	Promedios 20-25% mayores luego de una noche de ayuno más que luego de ingestas de comida
Raza	33% menor en hombres afro-americanos 15% menor en mujeres afroamericanas	21, 78	Comparado con valores en otros grupos étnicos y raciales.
Ejercicio	30% más alta en hombres	25	Sin efectos significativos en mujeres
Exposición a la luz	Hasta 50% de disminución en una hora	79	Se afecta la bilirrubina no conjugada más que la directa
Embarazo	Decrece 33% en el segundo trimestre	48	Similar en el segundo y tercer trimestre.
Hemólisis	Reacciones cruzadas en algunos análisis	47	La hemoglobina absorbe luz a la misma longitud de onda que la bilirrubina.
Anticonceptivos orales	15% más baja	49	
Anemia hemolítica	Aumenta la bilirrubina no conjugada	47	

patocitos funcionantes (83). La vida media de la albúmina plasmática es normalmente de alrededor de 19-21 días. Las concentraciones de albúmina plasmática son bajas en los neonatos, típicamente de 28 a 44 g/L (2.8-4.4 g/dL). En la primera semana de vida, se alcanzan los valores del adulto de 37 a 50 g/L (3.7-5.0 g/dL), aumentando de 45 a 54 g/L (4.5-5.4 g/dL) a los 6 años y permaneciendo en estas concentraciones durante la juventud, antes de declinar a los valores típicos del adulto. No existen diferencias significativas en los límites de referencia entre hombres y mujeres (84). Valores incrementados de albúmina son típicamente debidos a hemoconcentración, causada, ya sea por deshidratación, uso de torniquete prolongado durante la recolección de la muestra, o evaporación de la misma. Las principales causas para valores disminuidos de albúmina incluyen pérdida de proteínas (síndrome nefrótico, quemaduras, enteropatía con pérdida de proteínas), un recambio incrementado de albúmina (estados catabólicos, glucocorticoides), disminución en la ingesta de proteínas (malnutrición, dietas muy bajas en proteínas), y enfermedad hepática. La albúmina plasmática está disminuida a veces en la hepatitis aguda, debido a su larga vida media, pero en la hepatitis crónica la albúmina gradualmente cae cuando la enfermedad progresa a la cirrosis. Las concentraciones de albúmina son un marcador de la descompensación y del pronóstico en la cirrosis.

La albúmina es comúnmente medida por métodos

colorimétricos, particularmente con verde de bromocresol y púrpura de bromocresol; actualmente, alrededor del 50% de los laboratorios usan alguno de estos métodos. Los métodos con verde de bromocresol pueden sobreestimar la albúmina (85), aunque las diferencias entre los dos métodos son pequeñas (83). El púrpura de bromocresol subestima la albúmina en la falla renal (86) y en pacientes con un aumento de  $\delta$ -bilirrubina (87), tornando a este método inconveniente en pacientes con ictericia.

No se recomienda la estimación de la albúmina a partir de electroforesis de proteínas debido a la sobreestimación significativa de la misma basada en una mayor unión del colorante (83). Y los inmunoensayos en plasma para albúmina están disponibles pero no son muy utilizados (88).

Los objetivos de la *performance* para la determinación de albúmina basada en la variación biológica están típicamente alrededor del 4%, mientras que CLIA permite un error del 10%. El uso clínico de las determinaciones de albúmina para la enfermedad hepática está primariamente dirigido al reconocimiento de la cirrosis, y a determinar su severidad; esto requiere cambios significativos de los límites de referencia. Datos de fuentes CAP indican que sólo el 2% de los laboratorios pueden lograr los límites de error basados en la variación biológica. La opinión del Comité es que los objetivos de CLIA son adecuados para propósitos clínicos.

## Recomendaciones

Un error total < 10% en el límite de referencia inferior es adecuado para propósitos clínicos; los objetivos de *performance* basados en la variación biológica no pueden ser logrados por la mayoría de los laboratorios (IIB)

En los ensayos para albúmina en pacientes con enfermedad hepática debe usarse verde de bromocresol. El púrpura de bromocresol y las determinaciones de albúmina por electroforesis pueden ser inexactas en pacientes con enfermedad hepática (IIB).

## Tiempo de protrombina

El tiempo de protrombina (TP) mide el tiempo requerido para que el plasma coagule luego de la adición de Factor Tisular y fosfolípido; es afectado por cambios en la actividad de los factores X, VII, V, II (protrombina) y I (fibrinógeno). Todos estos factores son sintetizados en el hígado, y tres de ellos (II, VII y X) son activados por una enzima dependiente de vitamina K a través de la adición de un segundo grupo  $\gamma$  carboxilo sobre los residuos de ácido glutámico. La warfarina, un antagonista de la vitamina K, causa anticoagulación por inhibición de la  $\gamma$ -carboxilación, produciendo factores incapaces de unir calcio y reduciendo su actividad. Los individuos con warfarina o con deficiencia de vitamina K sintetizan cantidades normales de los precursores de los factores de coagulación, pero en una forma inactiva denominada "proteínas inducidas por antagonistas de vitamina K (PIVKA)". Hay inmunoensayos disponibles para medir los PIVKA más abundantes, des- $\gamma$ -carboxi protrombina. El TP es relativamente insensible a la deficiencia de cualquier factor de coagulación individual; no hay aumento significativo hasta que las concentraciones caen por debajo del 10% de la concentración normal (89).

El TP es comúnmente reportado en segundos y comparado con valores de referencia de pacientes. El tiempo requerido para que una muestra coagule está inversamente relacionado a la cantidad de Factor Tisular presente en los reactivos. Para minimizar la variación en TP entre reactivos con diferentes cantidades de Factor Tisular, se le asigna a cada uno un Índice de Sensibilidad Internacional (ISI); a menor cantidad de factor tisular, menor valor de ISI y más largo tiempo de protrombina. Para ajustar por diferencias en el ISI de reactivos, es utilizada la relación internacional normalizada (RIN); el valor se calcula como

$$RIN = (TP_{\text{paciente}} / TP_{\text{media control}})^{ISI}$$

El uso de reactivos con bajo ISI mejora la reproducibilidad de la medición del RIN, haciendo que el uso de reactivos con bajo ISI sea ideal para monitorear la terapia anticoagulante (90).

El efecto del ISI es mucho mayor sobre el TP durante el uso de warfarina que en la enfermedad hepática, por eso el RIN no refleja exactamente la inhibición de la coagulación en la enfermedad hepática (89) (91) (92).

Una muestra de un paciente que recibe warfarina tiene un TP de 20 s con reactivos de alto ISI y un TP de 40 s cuando se prueba con reactivos de bajo ISI, pero el RIN es esencialmente idéntico con ambos reactivos (89). El RIN, entonces, normaliza los resultados en un paciente con warfarina, a pesar de las diferencias en el ISI de los reactivos usados. En la enfermedad hepática, la disminución del ISI de los reactivos usados causa sólo un ligero aumento en el TP. Por ejemplo, una muestra de un paciente con enfermedad hepática tiene un TP de 20 s con reactivos de alto ISI, pero un TP de 23.6 s con reactivos de bajo ISI. Al contrario que en los pacientes con warfarina, en donde el RIN es virtualmente idéntico cuando se usan reactivos con diferente ISI, el RIN fue 2.90 con reactivos de alto ISI y 1.86 con reactivos de bajo ISI (89). Si se usan reactivos con bajo ISI, entonces el RIN desestima marcadamente la alteración del grado de coagulación en la enfermedad hepática. Una posible causa para la discrepancia en la utilidad del RIN entre el uso de warfarina y la enfermedad hepática es la marcada diferencia en las cantidades relativas de protrombina nativa *versus* la protrombina des- $\gamma$ -carboxilada presente en ambas condiciones. Los pacientes con warfarina o con déficit de vitamina K tienen una marcada elevación de la des- $\gamma$ -carboxi-protrombina y una disminución de la protrombina nativa, mientras que los pacientes con hepatitis aguda o cirrosis han disminuido la protrombina nativa con sólo una ligera elevación de la des- $\gamma$  protrombina (93). Algunas preparaciones de Factor Tisular son inhibidas por la des- $\gamma$ -protrombina (93).

En la hepatitis aguda isquémica (94) (95) y en la tóxica (96) el TP tiene un aumento de más de 3 segundos que la media de la población pero en las hepatitis virales (97) o alcohólicas (98) (99) raramente esté elevado más de 3 segundos. El TP a menudo está elevado en la ictericia obstructiva y puede responder a la administración parenteral de vitamina K. En la hepatitis crónica el TP está típicamente dentro de los límites de referencia pero aumenta a medida que progresa a cirrosis y está elevado en pacientes cirróticos (100). Otros factores que afectan el TP se resumen en la Tabla VII.

Reactivos con el mismo ISI típicamente brindan diferentes resultados sobre diferentes instrumentos aun del mismo modelo (103). Además, cuando se usan reactivos de diferentes fabricantes con el mismo ISI, la misma

Tabla VII. Factores que afectan el tiempo de protrombina.

Factor	Cambio	Referencia
Almacenamiento de la muestra	Sin cambio a temperatura ambiente hasta 3 días; la refrigeración acorta falsamente el TP	101
Concentración de citrato	Citrato al 3,2% minimiza los problemas con respecto a otras concentraciones	102
Llenado incorrecto del tubo	Aumento falso del TP	102
Hematocrito alto	Aumento falso del TP	102
Otros factores	Warfarina, malabsorción, deficiencia de vitamina K, drogas que disminuyen la producción de vitamina K (especialmente antibióticos, derivados del ácido fibrótico), coagulopatía por consumo aumenta el TP	

muestra puede dar diferentes RINs (104). La reproducibilidad de los resultados del TP en laboratorios que usan el mismo instrumento y reactivos es del 3-8% cuando los tiempos de protrombina son prolongados; la variación es mayor para el RIN que para el tiempo de protrombina en sí mismo. Dentro de un laboratorio, la variación promedio en el RIN está estimada en un  $\pm 10\%$  (105). La diferencia en el TP entre laboratorios que usan diferentes reactivos puede ser marcada; en un estudio, la diferencia promedio fue de 20% (104). Recientemente, el uso de plasmas calibradores para determinar el ISI en cada laboratorio para sus propios instrumentos y reactivos, ha demostrado mejorar significativamente la reproducibilidad del RIN (104) (106) (107).

### Recomendaciones

Debe usarse el TP (en segundos) más que el RIN, para expresar resultados del tiempo de protrombina en pacientes con enfermedad hepática; sin embargo, esto no estandariza resultados entre laboratorios (IIB).

Se necesita investigación adicional sobre estandarización de reactivos y uso de índices derivados (porcentaje de actividad, RIN) en la enfermedad hepática (IVB).

### AMONÍACO ( $\text{NH}_3$ )

El amoníaco es producto del metabolismo de los aminoácidos, primariamente se depura a través de la síntesis de urea en el hígado. En pacientes con cirrosis, el *Helicobacter pylori* en el estómago, parece ser una fuente importante de amoníaco (108). En la enfermedad hepática, el aumento de  $\text{NH}_3$  es un signo típico de lesión hepática. Pueden observarse concentraciones altas en los casos de deficiencias de enzimas del ciclo de la urea (110), Síndrome de Reye (111), y con encefalopatía hepática aguda o crónica (112) (113).

Leves incrementos plasmáticos de  $\text{NH}_3$  se observan en pacientes con hepatitis crónica, proporcionalmente a la extensión de la enfermedad (114). Está controvertido el uso de  $\text{NH}_4$  para monitoreo de pacientes con encefalopatía; algunos estudios han mostrado una buena correlación entre las concentraciones de amoníaco y el grado de encefalopatía (111) (113), mientras que otros lo han negado (115). El  $\text{NH}_3$  parece mejorar el efecto del ácido  $\gamma$ aminobutírico (GABA) (116) así como incrementar los receptores para las benzodiazepinas (117): ambos han sido implicados en la patogénesis de la encefalopatía hepática. Por otro lado, las características clínicas observadas en personas con hiperamoniemia aislada no son idénticas a las de la encefalopatía hepática (118). En la Tabla VIII se resumen otros factores que afectan al  $\text{NH}_3$ .

En las muestras, debe separarse el plasma de las células dentro de la primera hora de obtención; en pacientes con enfermedad hepática es ideal la separación dentro de los quince minutos (120) (122).

Varios métodos han sido usados para medir el amoníaco (120); los ensayos enzimáticos han sido los más empleados. Un fabricante usa tecnología en placas

### Recomendaciones

La medición del amoníaco plasmático para diagnóstico o monitoreo de encefalopatía hepática no se recomienda como rutina en pacientes con enfermedad hepática aguda o crónica: puede ser útil en pacientes con encefalopatía de etiología desconocida (IIB).

Para medidas más seguras debe usarse sangre arterial, más que venosa (IIB).

El plasma debería separarse de las células dentro de los 15 minutos de la obtención de la muestra para evitar aumentos artificiales de amoníaco (IIB).

con pH alcalino para convertir el amonio en amoniaco, para luego medir éste con azul de bromofenol. La reproducibilidad entre laboratorios que usan el mismo

método está entre 10 y 20%, con valores medios usando diferentes métodos que difieren, en promedio, menos de 10% (127).

Tabla VIII. Factores que afectan el amoniaco además de la lesión hepática.

Factor	Cambio	Referencia	Comentarios
Edad	4- 8 veces más alto en neonatos; 2-3 veces más alto en niños < 3 años; en la adolescencia alcanza la concentración del adulto	119	
Origen de la muestra	Valores más altos en sangre arterial que en sangre venosa; diferencia mayor en enfermedad hepática y renal; los valores en sangre capilar estarán falsamente aumentados debido al NH <sub>3</sub> del sudor, si la piel se ha higienizado inadecuadamente	112, 120	Sólo el amonio arterial se correlaciona con cambios en la función hepática. El uso de torniquete y el puño bien apretado aumentan el amonio venoso.
Ejercicio	Aumenta hasta 3 veces luego del ejercicio	121	Aumento mayor en hombres que en mujeres
Hábito de fumar	Aumenta 10 µmol/L luego de un cigarrillo	120	
Demora en el análisis	El amoniaco aumenta debido al metabolismo celular: 20% en una hora y 100% a las 2 horas	122	El uso de agua helada, la centrifugación rápida y la inmediata separación del plasma minimiza el aumento; en la enfermedad hepática, la velocidad de incremento es mayor, debido a la alta actividad de gGT en las muestras
Otros factores	Aumenta en la leucemia aguda, en las transfusiones de sangre, trasplante de médula ósea, shunt portal sistémico, sangrado gastrointestinal o alta ingesta proteica	123, 124	
Medicamentos	Ácido valproico y glicina (en fluidos de irrigación usados en próstata, refección endometrial) aumentan la producción de amonio	125, 126	

## Referencias bibliográficas

- Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, *et al.* The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States. 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 341: 556-62.
- Staadatmand F, Stinson FS, Grant BF, Dufour MC. Surveillance Report #49 -liver cirrhosis mortality in The United States, 1970-1995. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. National Institutes of Health.
- Davis GL, Albright JH, Cook SF, *et al.* Projecting the future healthcare burden from hepatitis C in the United States. *Hepatology* 1998; 28: 390A.
- El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999; 340: 745-50.
- Kaplan LA. Determination and application of desirable analytical performance goals: the ISO/TC 212 approach. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 479-82.
- Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 404-15.
- Westgard JO, Seehafer JJ, Barry PL. European specifications for imprecision and inaccuracy compared with operating specifications that assure the quality required by US CLIA proficiency-testing criteria. *Clin Chem* 1994; 40: 1228-32.

8. Ricos C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, *et al.* Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 491-500.
9. Skendzel LP, Barnett RN, Platt R. Medically useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 200-5.
10. Lott JA, Tholen DW, Massion CG. Proficiency testing of enzymes. Charting the way toward standardization. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 392-8.
11. Ross JW, Lawson NS. Analytic goals, concentration relationships, and state of the art for clinical laboratory precision. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 495-513.
12. Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate amino-transferase (ALT and AST). *Clinical enzymology: a case-oriented approach*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1986, 111-38
13. Rej R. Measurement of aminotransferases: Part I. Aspartate aminotransferase. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1984; 21: 99-106.
14. Price CP, Alberti KGMM. Biochemical Assessment of Liver Function. In Wright R, Alberti KGMM, Karran S, Millward Saldler GH (eds.): *Liver and Biliary Disease-Pathophysiology, Diagnosis, Management*. London: W.B. Saunders; 1979, 381-416.
15. Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem* 1990; 23: 311-9.
16. Siest G, Henry J, Schiele F, Young DS. Interpretation of Clinical Laboratory Tests: Reference Values and Their Biological Variation. Foster City, CA: Biomedical Publications; 1985.
17. Siest G, Schiele F, Galteau MM, Panek E, Steinmetz J, Fagnani F, *et al.* Aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities in plasma: statistical distribution, individual variations, and reference values. *Clin Chem* 1975; 21: 1077-87.
18. Cordoba J, O'Riordan K, Dupuis J, Borensztajn J, Blei AT. Diurnal variation of serum alanine transaminase activity in chronic liver disease. *Hepatology* 1999; 28: 1724-5.
19. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry: an update: collated data, 1988-1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 916-23.
20. Manolio TA, Burke GL, Savage PJ, Jacobs DR Jr, Sidney S, Wagenknecht LE, *et al.* Sex- and race-related differences in liver-associated serum chemistry tests in young adults in the CARDIA study. *Clin Chem* 1992;38(9):1853-9.
21. Salvaggio A, Periti M, Miano L, Tavanelli M, Mazurati D. Body mass index and liver enzyme activity in serum. *Clin Chem* 1991; 37: 720-3.
22. Piton A, Poynard T, Imbert-Bismut F, Kalil L, Delattre J, Pelissier E, *et al.* Factors associated with serum alanine aminotransaminase activity in healthy subjects: consequences for the definition of normal values, for selection of blood donors, and for patients with chronic hepatitis C. *MULTIVIRC group. Hepatology* 1998; 27: 1213-9.
23. Nuttall FQ, Jones B Creatinine kinase and glutamic oxalacetic transaminase activity in serum: kinetics of change with exercise and effect of physical conditioning. *J Lab Clin Med* 1968; 257-61.
24. Dufour DR. Effects of habitual exercise on routine laboratory tests. *Clin Chem* 1998; 44: 136.
25. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiha M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin Chem* 1981; 27: 35-8.
26. DiMagno EP, Corle D, O'Brien JF, Masnyk IJ, Go VL, Aamodt R. Effect of long-term freezer storage, thawing, and refreezing on selected constituents of serum. *Mayo Clin Proc* 1989; 27: 1226-34.
27. Prasad R, Firkins K, Fiorello J: Stability of AST and ALT assays in Tris buffers. *Clin Chem* 1990; 36: 407-8.
28. Litin S, O'Brien JF, Pruett S, Forsman RW, Burrit MF, Bartholomew LG, *et al.* Macroenzyme as a cause of unexplained elevation of aspartate aminotransferase. *Mayo Clin Proc* 1987; 62: 681-7.
29. Mifflin TE, Bruns DE, Wrotnoski U, Mac Millan RH, Stallings RG, Földer RA, *et al.* Macroamylase, macro creatine kinase, and other macroenzymes. *Clin Chem* 1985; 31: 1743-8.
30. Nalpas B, Vassault A, Le Guillou A, Lesgourgues B, Ferry N, Lacour B, *et al.* Serum activity of mitochondrial aspartate aminotransferase: a sensitive marker of alcoholism with or without alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1984; 4: 893-6.
31. Pol S, Nalpas B, Vassault A, Bousquet-Lemerrier B, Franco D, Lacour B, *et al.* Hepatic activity and mRNA expression of aspartate aminotransferase isoenzymes in alcoholic and non alcoholic liver disease. *Hepatology* 1991; 14: 620-5.
32. Ludwig S, Kaplowitz N. Effect of serum pyridoxine deficiency on serum and liver transaminases in experimental liver injury in the rat. *Gastroenterology* 1980; 79: 545-9.
33. Zhou S-L, Gordon RE, Bradbury M, Stump D, Kiang C-L, Berk PD. Ethanol up-regulates fatty acid uptake and plasma membrane expression and export of mitochondrial aspartate aminotransferase in Hep G-2 cells. *Hepatology* 1998; 27: 1064-74.
34. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24: 58-73.
35. Vanderlinde RE. Review of pyridoxal phosphate and the transaminases in liver disease. *Ann Clin Lab Sci* 1986; 16: 79-93.
36. Allman MA, Pang E, Yau DF, Stewart PM, Tiller DJ, Truswell AS. Elevated plasma vitamers of vitamin B6 in patients with chronic renal failure on regular hemodialysis. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 679-83.
37. Dybkaer R. International Federation of Clinical Expert Panel on Theory of Reference Values and International

- Committee for Standardization in Haematology Standing Committee on Reference Values: Approved recommendation (1987) on the Theory of Reference Values Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *Labmedica* 1988 (Apr/May), 27-30.
39. Lott JA, Tholen DW, Massion CG. Determination of reference ranges for serum enzymes via a large inter-laboratory survey. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 9-15.
  40. Moss DW. Multiple forms of acid and alkaline phosphatases: genetics, expression and tissue modification. *Clin Chim Acta* 1986; 161: 123-35.
  41. Weiss MJ, Ray K, Henthorn PS, et al. Structure of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene. *J Biol Chem* 1988; 263: 12002-10.
  42. Clubb JS, Neale FC, Posen S. The behavior of infused placental alkaline phosphatase in human subjects. *J Lab Clin Med* 1965; 66: 493-507.
  43. Moss DW. Physicochemical and pathophysiological factors in the release of membrane-bound alkaline phosphatase from cells. *Clin Chim Acta* 1997; 257: 133-40.
  44. Schlaeger R, Haux D, Kattermann R. Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase activity in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme* 1982; 28: 3-13.
  45. Bayer PM, Hotschek H, Knoth E. Intestinal alkaline phosphatase and the ABO blood group system: a new aspect. *Clin Chim Acta* 1980; 108: 81-7.
  46. Gordon T. Factors associated with serum alkaline phosphatase level. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 87-190.
  47. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, 2nd ed.. Washington, DC: AACC Press; 1997.
  48. Yamada N, Kido K, Hayashi S, et al. Characteristics of blood biochemical constituents of pregnant women. *Acta Obstet Gynaec Jpn* 1977; 29: 447-50.
  49. Dufour DR. Effects of oral contraceptives on routine laboratory tests. *Clin Chem* 1998; 44: 137.
  50. Bowers GN Jr, McComb RB, Kelley ML. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Sel Meth Clin Chem* 1977; 8: 31-9.
  51. Gomez B, Ardakani S, Ju J, et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem* 1995; 41: 1551-3.
  52. Anciaux ML, Pelletier AG, Attali P, Meduri B, Liguory C, Etienne JP. Prospective study of clinical and biochemical features of symptomatic choledo-cholithiasis. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 449-53.
  53. Sheeman M, Maythorn P. Predictive value of gamma-glutamyl transpeptidase in various liver diseases. In: Goldberg DM, Werner M, eds. *Progress in Clinical Enzymology*, New York: Masson; 1979, 184-7.
  54. Ratanasavanh D, Tazi A, Gaspart E. Hepatic gamma-glutamyl transferase release: effect of bile salt and membrane structure modification. *Advan Biochem Pharmacol* 1982; 3: 93-103.
  55. Itoh S, Nakajima M. Liver gamma-glutamyl transferase activity in viral liver disease. *Digestion* 1986; 33: 121-5.
  56. Nemesanszky E, Lott JA. Gamma-glutamyltransferase and its isoenzymes: progress and problems. *Clin Chem* 1985; 31: 797-803.
  57. Nilssen O, Helge-Forde O, Brenn T. The Tromso study: distribution and population determinants of gamma-glutamyltransferase. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 318-26.
  58. Schiele F, Guilmin AM, Detienne H, Siest G. Gamma-glutamyltransferase activity in plasma: statistical distributions, individual variations, and reference intervals. *Clin Chem* 1977; 23: 1023-8.
  59. Combes B, Shore GM, Cunningham FG, Walker FB, Shorey JW, Ware A. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in viral hepatitis: suppression in pregnancy and by birth control pills. *Gastroenterology* 1977; 72: 271-4.
  60. Young DS. *Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed.. Washington, D.C.: AACC Press; 1995.
  61. Moussavian SN, Becker RC, Piepmeyer JL, Mezey E, Bozlan RC. Serum gamma-glutamyl transpeptidase and chronic alcoholism - influence of alcohol ingestion and liver disease. *Dig Dis Sci* 1985; 30: 211-4.
  62. Hedworth-Whitty RB, Whitfield JB, Richardson RW. Serum gamma-glutamyltranspeptidase activity in myocardial ischaemia. *Brit Heart J* 1967; 29: 432-8.
  63. Burrows S, Feldman W, McBride F. Serum gamma-glutamyl transpeptidase. Evaluation in screening of hospitalized patients. *Am J Clin Pathol* 1975; 64: 311-4.
  64. Shaw LM, Stromme JH, London JL, Theodorsen L: International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee, Analytical Section. Expert Panel on Enzymes. IFCC methods for measurement of enzymes. Part 4. IFCC methods for gamma-glutamyltransferase [(gamma-glutamyl)-peptide: amino acid gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.2]. *Clin Chim Acta* 1983; 135: 315f-38f.
  65. Chowdhury JR, Wolkoff AW, Chowdhury NR, Arias IM. Hereditary jaundice and disorders of bilirubin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS, eds., New York: McGraw-Hill, Inc.; 1995; 2: 2161-208.
  66. Berk PD, Martin JF, Blaschke TF, Scharchmidt BF, Plotz PH: Unconjugated hyperbilirubinemia: physiologic evaluation and experimental approaches to therapy. *Ann Intern Med* 1975; 82: 552-70.
  67. Bloomer JR, Berk PD, Vergalla J, Berlin NI. Influence of albumin on the extravascular distribution of unconjugated bilirubin. *Clin Sci Mol Med* 1973; 45:



- 517-21.
68. McDonagh AF, Palma AA, Lauff JJ, Wu TW: Origin of mammalian biliprotein and rearrangement of bilirubin glucuronides in vivo in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 763-70.
  69. Fevery J, Blanckaert N. What can we learn from analysis of serum bilirubin. *J Hepatol* 1986; 2: 113-21.
  70. Berk PD, Noyer C. Clinical chemistry and physiology of bilirubin. *Sem Liver Dis* 1994; 14: 46-355.
  71. Zimmerman HJ. Intrahepatic cholestasis. *Arch Intern Med* 1979; 139: 1038-45.
  72. Van Hooft P, Fevery J, Blanckaert N. Serum bilirubins in hepatobiliary disease: comparison with other liver function tests and changes in the portobstructive period. *Hepatology* 1985; 5: 112-7.
  73. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, *et al.* The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333 (18): 1171-5.
  74. Persico P, Persico E, Bakker C, *et al.* Hyperbilirubinaemia in subjects with Gilbert syndrome (GS) mutations is determined by the rate of hepatic uptake of organic anions. *Hepatology* 1999; 30: 501A.
  75. Thomsen HF, Hardt F, Juhl E. Diagnosis of Gilbert's Syndrome. *Scand J Gastroent* 1981; 16: 699-703.
  76. Barrett PVD. Bilirubinemia and fasting. *N Engl J Med* 1970; 283: 823.
  77. Dufour DR. Effects of food ingestion on routine laboratory tests. *Clin Chem* 1998; 44: 136.
  78. Carmel R, Wong ET, Weiner JM, Johnson CS. Racial differences in serum total bilirubin levels in health and in disease (pernicious anemia). *JAMA* 1985; 253: 3416-8.
  79. Ihara H, Shino Y, Hashizume N, *et al.* Effect of light on total and direct bilirubin by an enzymatic bilirubin oxidase method. *J Anal Biol Sci* 1997; 20: 349-54.
  80. Dumas BT, Wu T-W, Jendzejczak. Delta bilirubin: absorption spectra, molar absorptivity, and reactivity in the diazo reaction. *Clin Chem* 1987; 33: 769-74.
  81. Dumas BT, Wu TW. The measurement of bilirubin fractions in serum. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991; 28: 415-46.
  82. Kubasik NP, Mayer TK, Bhaskar AG, Sine HE, D'Souza JP. The measurement of fractionated bilirubin by Ektachem film slides - method validation and comparison of conjugated bilirubin measurements with direct bilirubin in obstructive and hepatocellular jaundice. *Am J Clin Pathol* 1985; 84: 518-23.
  83. Dumas BT, Peters T. Serum and urine albumin: a progress report on their measurement and clinical significance. *Clin Chim Acta* 1997; 258: 3-20.
  84. Dufour DR. Gender related differences in liver function and integrity tests. *Clin Chem* 1998; 44: 137.
  85. McGinlay JM, Payne RB. Serum albumin by dye-binding: bromocresol green or bromocresol purple? *Ann Clin Biochem* 1988; 25: 417-21.
  86. Beyer C, Boekhout M, van Iperen H. Bromocresol purple dye-binding and immunoturbidimetry for albumin measurement in plasma or serum of patients with renal failure. *Clin Chem* 1994; 40: 844-5.
  87. Bush V, Reed RG. Bromocresol purple dye-binding methods underestimate albumin that is carrying covalently bound bilirubin. *Clin Chem* 1987; 33: 821-3.
  88. Pascucci MW, Grisley DW, Rand RN. Electro-immunoassay of albumin in human serum: accuracy and long-term precision. *Clin Chem* 1983; 29: 1787-90.
  89. Ts'ao C, Swedlund J, Neofotistos D. Implications of use of low international sensitivity index thromboplastins in prothrombin time testing. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 1183-7.
  90. Taberner DA, Poller L, Thomson JM, Darby KV. Effect of international sensitivity index (ISI) of thromboplastins on precision of international normalised ratios (INR). *J Clin Pathol* 1989; 42: 92-6.
  91. Kovacs MJ, Wong A, MacKinnon K, Weir K, Keeney M, Boyle E, *et al.* Assessment of the validity of the INR system for patients with liver impairment. *Thromb Haemost* 1994; 71: 727-30.
  92. Robert A, Chazouilleres O. Prothrombin time in liver failure: time ratio, activity percentage, or International Normalized Ratio? *Hepatology* 1996; 24: 1392-4.
  93. Blanchard RA, Furie BC, Jorgensen M, Kruger SF, Furie B. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. *N Engl J Med* 1981; 305: 242-8.
  94. Dufour DR, Teot, L. Laboratory identification of ischemic hepatitis (shock liver). *Clin Chem* 1988; 34: 1287.
  95. Fuchs S, Bogomolski-Yahalom V, Paltiel O, Ackerman Z. Ischemic hepatitis: clinical and laboratory observations of 34 patients. *J Clin Gastroenterol* 1998; 26: 183-6.
  96. Singer AJ, Carracio TR, Mofenson HC. The temporal profile of increased transaminase levels in patients with acetaminophen-induced liver dysfunction. *Ann Emerg Med* 1995; 26: 49-53.
  97. Willner IR, Uhl MD, Howard SC, Williams EQ, Riely CA, Waters B. Serious hepatitis A: an analysis of patients hospitalized during an epidemic in the United States. *Ann Intern Med* 1998; 128: 111-4.
  98. Mendenhall CL and the VA Cooperative Study Group on Alcoholic Hepatitis: Alcoholic hepatitis. *Clin Gastroenterol* 1981; 10: 417-41.
  99. O'Grady JG, Alexander GJM, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 97: 4439-45.
  100. Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1302-4.
  101. Baglin T, Luddington R. Reliability of delayed INR

- determination: implications for decentralized anticoagulant care with off-site blood sampling. *Br. J. Haematol* 1997; 96: 431-4.
102. Adcock DM, Kressen DC, Marlar RA. Effect of 3.2% vs. 3.8% sodium citrate on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 105-10.
  103. Cunningham MTA, Johnson GF, Pennell BJ, Olson JD: The reliability of manufacturer-determined, instrument specific international sensitivity index values for calculating the international normalized ratio. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 128-33.
  104. Stevenson KJ, Craig S, Dufty JMK, Taberner DA. System ISI calibration: a universally applicable scheme is possible only when coumarin plasma calibrants are used. *Br J Haematol* 1997; 96: 435-41.
  105. Lassen JF, Kjeldsen J, Antonsen S, Petersen PH, Brandslund I: Interpretation of serial measurements of international normalized ratio for prothrombin times in monitoring oral anticoagulant therapy. *Clin Chem* 1995; 41: 1171-6.
  106. Poller L. Screening INR deviation of local prothrombin time systems. *J Clin Pathol* 1998; 51: 356-9.
  107. Johnson M, Brigder M: A cross-Canada survey of prothrombin time testing - does the establishment of local ISI values improve the accuracy of International Normalized Ratio reporting? *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 683-90.
  108. Miyaji H, Ito S, Azuma T, Ito J, Yamazaki Y, Ohtoki Y, *et al.* Effects of *Helicobacter pylori* eradication therapy on hyperammonemia in patients with liver cirrhosis. *Gut* 1997; 40: 726-30.
  110. Batshaw ML. Inborn errors of urea synthesis. *Ann Neurol* 1994; 35: 133-41.
  111. Heubi JE, Daugherty CC, Partin JS, Partin JC, Schubert WK. Grade 1 Reye's syndrome - outcome and predictors of progression to deeper coma grades. *N Engl J Med* 1984; 311: 1539-42.
  112. Stahl J: Studies of the blood ammonia in liver disease - its diagnostic, prognostic, and therapeutic significance. *Ann Intern Med* 1963; 58: 1-23.
  113. Butterworth RF, Giguere JF, Michaud J, Lavoie J, Laryargues GP. Ammonia: key factor in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Neurochem Pathol* 1987; 6: 1-12.
  114. Muting D, Kalk JF, Fischer R, Wuzel H, Reikowski J. Hepatic detoxification and hepatic function in chronic active hepatitis with and without cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 41-6.
  115. McClain CJ, Zieve L, Doizaki WM, Gilberstadt S, Onstad GR. Blood methanetriol in alcoholic liver disease with and without hepatic encephalopathy. *Gut* 1980; 21: 318-23.
  116. Jones EA, Basile AS. The involvement of ammonia with the mechanisms that enhance GABA-ergic neurotransmission in hepatic failure. *Adv Exp Med Biol* 1997; 420: 75-83.
  117. Norenberg MD, Itzhak Y, Bender AS. The peripheral benzodiazepine receptor and neurosteroids in hepatic encephalopathy. *Adv Exp Med Biol* 1997; 420: 95-111.
  118. Chamuleau RAFM, Vogels BAPM. Hyperammonemia without portal systemic shunting does not resemble hepatic encephalopathy. *Adv Exp Med Biol* 1997; 420: 173-83.
  119. Diaz J, Tornel PL, Martinez P. Reference intervals for blood ammonia in healthy subjects, determined by microdiffusion. *Clin Chem* 1995; 41: 1048.
  120. Huizenga JR, Tangerman A, Gips CH. Determination of blood ammonia in biological fluids. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 529-43.
  121. Derave W, Bouckaert J, Pannier JL. Gender differences in blood ammonia response during exercise. *Arch Physiol Biochem* 1997; 105: 203-9.
  122. da Fonseca-Wollheim F. Preanalytical increase of ammonia in blood specimens from healthy subjects. *Clin Chem* 1990; 36: 1483-7.
  123. Davies SM, Szabo E, Wagner JE, Ramsay NK, Weisdorf DJ. Idiopathic hyperammonemia: a frequently lethal complication of bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 1119-25.
  124. Xu SR, Yao EG, Dong ZR, Liu RS, Pan L, Lin FR, *et al.* Plasma ammonia in patients with acute leukemia. *Chin Med J* 1992; 105: 713-6.
  125. Altunbasak S, Baytok V, Tasouji M, Herguner O, Burgut R, Kayrine L: Asymptomatic hyperammonemia in children treated with valproic acid. *J Child Neurol* 1997; 12: 461-3.
  126. Shepard RL, Kraus SE, Babayan RK, Sirosky MB: The role of ammonia toxicity in the post transurethral prostatectomy syndrome. *Br J Urol* 1987; 60: 349-51.
  127. Ammonia. College of American Pathologists, 325 Waukegan Road, Northfield, IL 60093, Chemistry Survey Set C-B, 1999, 73.

# Guías del laboratorio para *screening*, diagnóstico y monitoreo de la injuria hepática\*



The National Academy  
of Clinical Biochemistry

---

## EDITOR

D. Robert Dufour  
Chief, Pathology and Laboratory Medicine  
Service, VA Medical Center, Washington, DC;  
Professor of Pathology, George Washington  
University School of Medicine.

## GUIDELINES COMMITTEE

John A. Lott. Professor of Pathology, The Ohio  
State University College of Medicine  
Frederick S. Nolte. Associate Professor of  
Pathology and Laboratory Medicine, Emory  
University School of Medicine  
David R. Gretch. Associate Professor of  
Laboratory Medicine, University of Washington  
School of Medicine  
Raymond S. Koff. Professor of Medicine,  
University of Massachusetts Medical Center  
Leonard B. Seeff. Senior Scientist, Hepatitis C  
Programs, National Institute of Diabetes,  
Digestive, and Kidney Diseases, National  
Institutes of Health; Professor of Medicine,  
Georgetown University School of Medicine.

\* Este documento ha sido traducido con permiso de la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), Washington, DC. La NACB no se hace responsable de la exactitud de la traducción. Los puntos de vista presentados son los de los autores y no necesariamente los de la NACB.

## Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

## SECCIÓN II

### Pruebas de ácidos nucleicos y marcadores serológicos en hepatitis

#### Virus de la Hepatitis A (HAV)

El virus de la Hepatitis A es un virus a ARN de la familia de los picornavirus. El HAV se disemina por vía oral-fecal, y causa injuria hepática luego de un período de incubación de unas pocas semanas. El ARN HAV se presenta en materia fecal y plasma antes del período de manifestación de los síntomas clínicos, pero desaparece rápidamente luego de la manifestación clínica de la enfermedad. Anticuerpos IgM para HAV (anti-HAV IgM) están presentes típicamente al comienzo de la aparición de los síntomas, y permanecen detectables por un promedio de 3 a 6 meses luego de la infección (rango < 30-420 días, con un 13,5% de positivos más allá de 4 meses) (128). El anti-HAV total persiste por largos períodos luego de la infección, tal vez durante toda la vida (129); la seroprevalencia aumenta con la edad, con un rango del 11% en niños menores de 5 años a 74% en los mayores de 50 años (130). La vacuna contra HAV induce anti-HAV detectable dentro de las 2 a 4 semanas de la dosis inicial de vacunación (131) y el anticuerpo permanece detectable a los 5 años en el 99% de los individuos con vacunación completa (132). No hay disponibles en el mercado *tests* para la detección de antígeno o ácido nucleico para HAV. Los métodos de inmunoensayo e inmunoelectromicroscopía han sido usados para detectar el antígeno de HAV en filtrados de materia fecal y en otros especímenes y se han utilizado en ensayos para ARN de HAV se han utilizado para documentar estudios epidemiológicos y de investigación.

**Recomendaciones:** Se debe utilizar IgM anti-HAV para el diagnóstico de la infección aguda por HAV (IB).

La medición de anticuerpos totales debe ser usada para determinar el estado inmune para HAV (IB).

## Virus de la Hepatitis B (HBV)

El virus de la Hepatitis B es un virus a ADN del grupo de los hepadnavirus. Estos virus se replican formando un ARN intermediario, que es copiado usando la enzima transcriptasa reversa para regenerar las hebras del ADN. El HBV es transmitido por intercambio de fluidos corporales; se transmite principalmente a través de suero, relaciones sexuales y transmisión de la madre al niño (generalmente ocurre luego del nacimiento). Mientras la infección de HBV es típicamente aguda con recuperación completa en adolescentes y adultos inmunocompetentes, la infección crónica también puede ocurrir. Aproximadamente 1-3% de los adultos sanos, 5-10% de los adultos inmunocomprometidos y 90% de los neonatos expuestos al HBV desarrollan una infección crónica.

El HBV produce varios antígenos proteicos que pueden inducir una respuesta de anticuerpos. El más abundante, el antígeno de superficie HBV (HBsAg) es producido en exceso junto con partículas virales, pero también se puede presentar cuando HBV ADN es integrado dentro del ADN celular y ya no produce viriones infecciosos. El antígeno *core* HBV y los antígenos e (HBcAg y HBeAg) son producidos por la misma región genética en el virus y se encuentran en partículas infecciosas. En la Figura 6 se observa el curso serológico y clínico típico de una infección aguda por HBV (133).

El anticuerpo IgM para HBcAg (anti-HBc) es generalmente considerado de máxima utilidad para el diagnóstico de la hepatitis B aguda (134). También puede estar presente en títulos bajos y fluctuantes en pacientes con hepatitis B crónica, particularmente cuando los pacientes también tienen positivos en plasma HBeAg, HBV ADN o episodios de aumentos de ALT indicando reactivación de la enfermedad (135). El anti-HBc total persiste típicamente durante toda la vida (136). HBsAg se presenta en forma característica y anti-HBs está ausente en la presentación en pacientes con la infección HBV aguda, pero ambos están ocasionalmente ausentes (134), dejando a la IgM anti-HBc como el único marcador de infección ("ventana *core*"). Resultados positivos aislados para anti-HBc también pueden representar un bajo nivel de viremia, pérdida del anti-HBs muchos años después de la recuperación, o un resultado falso positivo (136-138). Hay dos factores asociados con la probabilidad de resultados falsos positivos: bajo nivel de reactividad de anti-HBc y ausencia de anti-HBs usando inmunoensayos sensibles. En varios estudios, virtualmente ninguno con bajos niveles de anti-HBc y negatividad para anti-HBs mostró una respuesta anamnésica para una inyección única de vacuna con HBsAg, mientras que 35-40% de aquellos con débil positividad para anti-HBc y 50-80% de aquellos con alto nivel de anti-HBc, respondieron (137) (139) (140). La convalecencia de la infección es indicada por la pérdida de

HBsAg y el desarrollo de anti-HBs. Concomitantemente, HBsAg y anti-HBs pueden ser vistos en un número de pacientes con infección crónica de HBV. Este fenómeno parece ser particularmente común en pacientes que se mantienen con hemodiálisis (7%) comparado con otros pacientes positivos para HBsAg (2%) (141). La presencia de anti-HBs en estos grupos no parece tener importancia clínica. Patrones de marcadores serológicos en varias formas y fases de la infección por HBV se muestran en la Tabla IX (142).

Ejemplos de discordancia o perfiles de hepatitis no comunes se pueden observar en la Tabla X.

Los *tests* con resultados discordantes deben ser repetidos y testeados para marcadores serológicos adicionales que deben ser indicados para establecer el diagnóstico correcto (143).

**Recomendaciones:** *Tests* para HBsAg, anti-HBs, y anti-HBc deben ser realizados para el diagnóstico de infección HBV actual o pasada. En caso de sospecharse infección aguda por HBV se deben utilizar *tes* para IgM anti HBc (IB).

HBeAg y anti-HBe no son requeridos para el diagnóstico de Hepatitis B aguda o para la evaluación de rutina del estado HBV (IIIB, E).

En pacientes con resultados discordantes, los *tests* deben ser repetidos; resultados discordantes persistentes deben ser evaluados por un hepatólogo o gastroenterólogo (IIIB).

Tabla IX. Diagnóstico serológico de la infección viral de Hepatitis B (modificada a partir de la referencia 142).

Marcador	Incubación	Infección aguda	Post infección	Infección crónica	Vacunación
HBsAg	+ <sup>a</sup>	+	-	+	-
HBcAg	+	+	-	+/-	-
HBV ADN	+	+	.b	+/-	-
IgM anti-HBc	-	+	-	+/- <sup>c</sup>	-
Total	-	+	+	+	-
Anti-HBe	-	-	+/-	+/- <sup>d</sup>	-
Anti-HBs	-	-	+	-	+

<sup>a</sup> detectable; - no detectable; +/- puede ser detectable.

<sup>b</sup> Sin métodos PCR (métodos no basados en PCR).

<sup>c</sup> Puede ser positivo en 10-15% de los pacientes con reactivación de la infección.

<sup>d</sup> Pacientes con infección HBV crónica generalmente tienen HBeAg o Anti-HBe detectables.

En pacientes con presencia crónica de HBsAg, HBcAg y anti-HBe son pruebas útiles para determinar el estado de la infección. HBV ADN se puede presentar en los hepatocitos en dos formas: como virus replicante, conduciendo a la producción de partículas infecciosas, o integrado al ADN del huésped, en una forma no replicativa. HBeAg sólo es producido como parte de virus

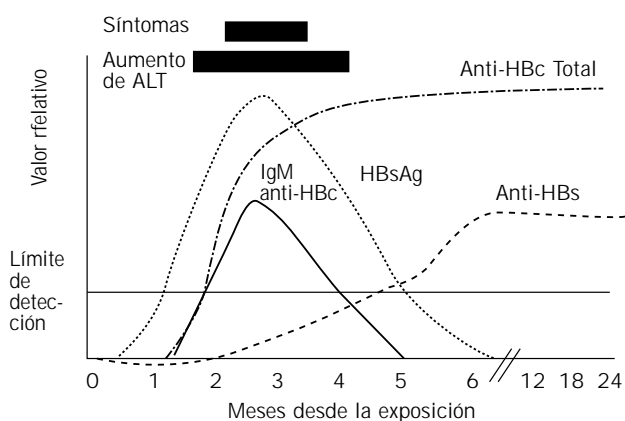


Figura 6. Curso de los marcadores serológicos en la infección aguda de hepatitis B con resolución. Luego de la infección, el primer marcador de infección que aparece es el antígeno de superficie (HBsAg), de 1 a 3 meses luego de la exposición. Aproximadamente 1-2 meses más tarde, la primera respuesta de anticuerpos son anticuerpos IgM para el antígeno core de la hepatitis B (IgM anti-HBc), generalmente alrededor del tiempo de incremento en las actividades de AST y ALT en plasma. En el momento de aparición de la ictericia, la mayoría de los pacientes tienen ambos HBsAg y IgM anti-HBc. Con la eliminación del virus el anti-HBs se hace detectable. En un pequeño porcentaje de pacientes, suele haber un período de transición en el que no se pueden medir ni HBsAg ni anti-HBs. El único marcador comúnmente presente en este tiempo es IgM anti-HBc, un patrón denominado la "ventana core". Aunque no se ilustra en este diagrama, estos pacientes generalmente son positivos para anti-HBe, si un segundo test es necesario para confirmar el resultado de anti-HBc. Con la recuperación de la infección HBV, anti-HBc y anti-HBs persisten durante toda la vida en la mayoría de los individuos.

replicativo, y así puede ser utilizado para determinar indirectamente el estado de la producción de ADN HBV del hepatocito. En el paciente positivo para HBeAg, la pérdida de HBeAg y la seroconversión a anti-HBe positivo están típicamente asociadas con la pérdida de ADN HBV circulante por métodos distintos de la reacción PCR, normalización de aminotransferasas y mejoramiento histológico, implicando un estado de replicación bajo y mejoramiento clínico significativo (144). Las medidas de ADN HBV son más útiles para seguir a pacientes con hepatitis B crónica que reciben terapia antiviral. La pérdida de ADN HBV detectable por un método de hibridación en fase de solución es un indicador más temprano de respuesta a la terapia antiviral

Tabla X. Perfiles discordantes o poco usuales de hepatitis B que requieren evaluación posterior.

- HBsAg positivo / anti-HBc negativo.
- HBsAg, anti-HBs, y anti-HBc positivos.
- Solamente anti-HBc positivo.
- Anti-HBs positivo sólo en paciente no inmunizado.
- HBsAg negativo / HBeAg positivo.
- Positivo para HBeAg y anti-HBc.
- Anti-HBc total negativo / IgM anti-HBc positiva.

que la pérdida de HBcAg (143). Varios ensayos para la detección de ADN HBV están disponibles; los límites de sensibilidad están dados en la Tabla XI. Generalmente no hay estandarización de los ensayos del ADN HBV entre laboratorios.

Tabla XI. Límites de detección inferiores para ensayos de HBV ADN

Método	Límites de detección (copias/mL) <sup>a</sup>
Captura híbrida	3,0 x 10 <sup>6</sup>
ADN "branched"	0,7 x 10 <sup>6</sup>
Hibridación líquida	4,0 x 10 <sup>4</sup>
Reacción de polimerasa en cadena (PCR)	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>

<sup>a</sup> Los resultados pueden también ser expresados como pg/mL de ADN HBV dividiendo por 2.85 \* 10<sup>5</sup>.

El ADN HBV circulante puede ser detectado por métodos sensibles como PCR en un alto porcentaje de pacientes con HBsAg negativo y anti-HBs, anti-HBe, y anti-HBc positivos, meses o años posteriores a la recuperación clínica de una hepatitis aguda (145) o hepatitis crónica (146). La significancia no es clara, ya que la mayor parte del ADN viral se encuentra en complejos inmunes (145), y puede no representar al genoma entero. Un estudio reciente de 7 donadores hepáticos potenciales que eran HBsAg negativos y anti-HBs y anti-HBc positivos encontró formas replicantes del virus dentro de los hepatocitos en 6 de los 7 individuos (147). Similarmente, en pacientes con hepatitis C crónica, el ADN viral HBV es encontrado comúnmente (usando métodos PCR sensibles) tanto en hígado como en suero, particularmente en pacientes con anti-HBc como un marcador aislado HBV (137) (138). Estos estudios sugieren que muchos pacientes que se supuso se habían recuperado de HBV realmente tienen niveles bajos pero controlados de replicación viral persistentes por muchos años luego de la recuperación clínica. No está claro qué nivel de viremia ADN HBV debe ser usado para considerar a un paciente "curado" de la infección HBV para propósitos clínicos.

**Recomendaciones:** HBeAg y anti-HBe son útiles para monitorear pacientes con positividad crónica HBsAg (IB).

El ensayo cuantitativo de ADN HBV debe ser usado para monitorear la respuesta a la terapia antiviral (IIB).

Un estándar internacional para los tests de ADN HBV debe ser establecido y los fabricantes deben calibrar sus kits contra ese estándar.

Los tests para ADN HBV deben ser cuantitativos y se debe definir la utilidad clínica del rango dinámico para los tests de ADN HBV (IIIB).

**Virus de la Hepatitis C (HCV).** El virus de la hepatitis C (HCV) es un virus de ARN de la familia flaviviridae. Hasta ahora el HCV no ha sido cultivado; fue reconocido por detección de secuencias virales a través de la tecnología recombinante, y el genoma entero ha sido ahora secuenciado. Al momento que este documento se escribe, no hay ensayos comerciales disponibles para detectar los antígenos HCV, aunque ha sido desarrollada un ensayo altamente sensible para la proteína del *core* HCV (148).

La mayoría de los *tests* para HCV miden anticuerpos contra HCV. Los *tests* de *screening* para la infección por HCV detectan anticuerpos contra las proteínas del HCV, aparentemente en un promedio de 80 días (rango 33 - 129) luego de la infección usando enzimo-inmunoensayos de segunda generación anti-HCV (EIA-2) (149). Los pacientes inmunocomprometidos y aquellos sometidos a diálisis raramente pueden carecer de anticuerpos detectables por EIA-2 a pesar de otra evidencia de infección viral activa (150). Un EIA de tercera generación (EIA-3) para anti-HCV ha sido aprobado por la FDA para el *screening* de productos hemáticos; contiene antígenos reconfigurados del *core* y NS3 y un antígeno adicional (NS5) no encontrado por EIA-2. EIA-3 provee un ligero aumento en la sensibilidad pero menor especificidad que EIA-2, y acorta el tiempo de detección de anticuerpos a un promedio de 7 - 8 semanas luego de la infección (151). En los pacientes que han eliminado el HCV de la circulación, los títulos de anti-HCV caen gradualmente (152), y eventualmente se tornan negativos en el 6-10% de los individuos infectados (153) (154). Para evaluar una posible transmisión perinatal de HCV, hay que considerar que los anticuerpos maternos son eliminados alrededor de los 12 meses en el 90% de los infantes no infectados y alrededor de los 18 meses en el 100% (155). Aproximadamente el 90% de los infantes infectados tiene ARN HCV detectable en plasma alrededor de los 3 meses de edad (156).

*Tests* suplementarios para anti-HCV ayudan a resolver resultados por EIA sospechados de falsos positivos. Ensayos por *immunoblot* recombinante (RIBA) contienen los mismos antígenos HCV que los *tests* EIA, junto con superóxido dismutasa (SOD) para detectar anticuerpos no específicos contra proteínas de levaduras (los antígenos recombinantes HCV son típicamente derivados usando las levaduras como vector). Un RIBA positivo es definido como reactividad contra dos o más antígenos HCV de diferentes regiones del genoma, sin reactividad para SOD. Reactividad contra un único antígeno HCV o reactividad multibanda con reactividad para SOD es considerada indeterminada. En poblaciones de alto riesgo para infección de HCV menos del 1% de los especímenes positivos por EIA-2 serán falsos positivos. Adicionalmente, en individuos recientemente infectados, RIBA es positivo en sólo 85% de los casos

(157). Por lo tanto, los *tests* RIBA en poblaciones de alto riesgo no son necesarios para el diagnóstico de hepatitis C (158).

La infección activa por HCV se define por la presencia de ARN HCV en plasma. ARN HCV puede ser detectado dentro de 1 - 2 semanas luego de la infección aguda, semanas antes que la ALT se torne anormal y previo a la aparición de anti-HCV (152). El curso en el tiempo de los marcadores en una infección por HCV típica se ilustra en la Figura 7.

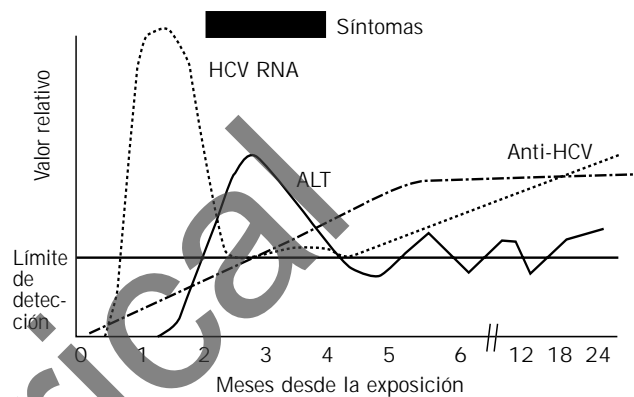


Figura 7. Curso en el tiempo de los marcadores serológicos de infección de hepatitis C aguda. Siguiendo la infección, el primer marcador en aparecer es el ARN HCV usualmente detectable luego de 1-2 semanas de la exposición al virus. La concentración de ARN HCV aumenta gradualmente, pero comienza a disminuir con el desarrollo de la respuesta de anticuerpos; puede ser transitoriamente negativo en aproximadamente 15% de los casos. Anti-HCV aparece en promedio a las 8 - 10 semanas luego de la exposición; el tiempo es más corto con los ensayos anti-HCV de tercera generación que con los de segunda generación. Luego del episodio agudo, que es clínicamente silencioso en la mayoría de los individuos, 75-85% de ellos desarrollará la infección crónica. Durante la transición de la infección aguda a la crónica tanto ALT como el ARN HCV pueden ser intermitentemente positivos; es más probable que persistan positivos durante muchos años luego de la infección aunque el 15-25% de los individuos crónicamente infectados pueden tener ALT normal.

Aunque no han sido aprobados por la FDA los ensayos de PCR por transcripción reversa (RT) para ARN HCV se utilizan comúnmente en la práctica clínica; los más sensibles pueden detectar > 100 copias/ mL de ARN HCV. Los ensayos de ARN HCV no están estandarizados y los resultados cuantitativos pueden variar significativamente entre diferentes laboratorios usando diferentes ensayos (158) (159). ARN HCV es muy susceptible a la degradación por las altas actividades de ARNasa presente en la sangre; por lo tanto, los especímenes de suero para ARN HCV deben ser centrifugados tan pronto como sea posible luego de la forma-

ción del coágulo. Se prefieren especímenes obtenidos con EDTA o citrato de sodio para los *tests* de ARN HCV. El plasma heparinizado es inhibitorio de muchos ensayos de amplificación de ácidos nucleicos, y los especímenes en suero proveen estabilidad subóptima a menos que el suero sea congelado rápidamente luego de la recolección de las muestras. Si la centrifugación es realizada inmediatamente, menos del 10% de ARN HCV se pierde aún si el plasma o suero no es separado de los elementos de la sangre antes de 6 horas como máximo (160). Si se utiliza un tubo separador de suero, los especímenes son estables luego de la centrifugación por 24 horas (160). Es aceptable el almacenamiento por corto tiempo (< 7 días) de suero o plasma a 4 °C. Una vez congeladas, las muestras son estables por lo menos durante tres ciclos de congelamiento – descongelamiento (160). Los ensayos cuantitativos para ARN HCV son a menudo menos sensibles que las técnicas de ARN cualitativas usando la misma tecnología, pero esto no es universal. La versión actual del ensayo de ADN “branched” es la de menor sensibilidad, con un límite inferior de detección de 200.000 copias/mL; sin embargo, los análisis de ADN “branched” tienen mejor linealidad y reproducibilidad que los ensayos por PCR. Un ensayo de ADN “branched” está siendo introducido comercialmente en los Estados Unidos. En pacientes con HCV crónica que no han sido tratados, es inusual encontrar especímenes con ARN HCV no detectable por ADN “branched” pero positivos por PCR. Resultados de diferentes métodos no pueden ser comparados directamente porque se utilizan diferentes estándares. Actualmente está disponible un estándar de la Organización Mundial de la Salud para ARN HCV para ensayos de amplificación de ácidos nucleicos (161) y está siendo introducido para su uso por los fabricantes de *kits*.

**Recomendaciones:** Los *tests* de *screening* EIA para anticuerpos HCV son adecuados para el diagnóstico de infección por HCV actual o pasada en una población de pacientes con alta prevalencia de la enfermedad; no se necesita testeo suplementario en tales pacientes. Si se necesita la confirmación de la infección activa, se debe utilizar ARN HCV (IIB, E).

Deben ser utilizados *tests* suplementarios anti-HCV (RIBA) en poblaciones con baja prevalencia de la enfermedad, o para confirmar infección previa por HCV en un paciente que es ARN HCV negativo (IIIB, E).

Se requiere un mejoramiento de la concordancia intermétodo y de la precisión para los *tests* de ARN HCV; los métodos deberían utilizar un estándar tal como el desarrollado por la Organización Mundial de la Salud (IIB).

Los especímenes para ARN HCV deben ser plasmas con EDTA o citrato, o ser rápidamente centrifugados para prevenir falsos resultados bajos (IIB).

Hay 6 genotipos principales y más de 90 subtipos de HCV que varían en su distribución mundial. Además, el HCV tiene una alta velocidad de mutación espontánea, produciendo “cuasi especies” discretas que varían de un individuo a otro (162).

Los genotipos 1a y 1b dan cuenta de alrededor de 2/3 de las infecciones en los Estados Unidos; el genotipo I representa el 90-95% de las infecciones en los afroamericanos comparadas con alrededor del 60% en pacientes blancos (163). La amplificación y el secuenciamiento genómicos, seguidos por comparación de secuencias y la construcción del árbol filogenético es el método de referencia para la determinación del genotipo (164). Una variedad de ensayos de *screening* de genotipos han sido descritos incluyendo PCR que utiliza *primers* genotipo específicos (165), fragmentos de polimorfismos de restricción de secuencias amplificadas (166), y una técnica con una sonda comercialmente disponible (167).

Estos métodos se comparan favorablemente con el método de referencia para determinar el genotipo HCV (168).

## Virus de la Hepatitis D

HDV es un virus ARN defectuoso que se replica sólo en presencia de HBsAg. Las pruebas para la evidencia de la infección por HDV deben ser consideradas en pacientes con HBsAg positivo con síntomas de hepatitis aguda o crónica, particularmente en aquellos con hepatitis fulminante o donde hay un alto riesgo para infección por HDV. El único *test* serológico para HDV ampliamente disponible en el comercio detecta anti-HDV total. En los pacientes en los cuales el virus ha sido eliminado, el anticuerpo desaparece típicamente entre 1 y 5 años (169). En la mayoría de las situaciones clínicas anti-HBsAg, IgM anti-HBc y anti-HDV total son adecuados para diagnosticar la infección por HDV. Los pacientes con co-infección aguda por HDV son generalmente positivos para anti-HBc IgM, mientras que los pacientes con superinfección HDV son usualmente negativos para IgM anti-HBc.

**Virus de la Hepatitis E.** El HEV es un virus a ARN que causa hepatitis epidémica aguda y esporádica en los países en desarrollo; no causa hepatitis crónica. En los Estados Unidos la infección por HEV se ha visto raramente como causa de hepatitis, predominantemente entre aquellos que han realizado un viaje a áreas endémicas, aunque al menos ha ocurrido un caso sin antecedentes de viaje (170). Se han desarrollado inmunoensayos para anti-HEV para uso diagnóstico (171). Una evaluación de los múltiples métodos anti-HEV mostró una variación significativa en los títulos reportados, y discordancia entre métodos, aunque los *tests* que detec-

tan anticuerpos para ORF2 fueron más seguros (172). Se encontró un anticuerpo reactivo para antígenos HEV en 15-25% de hombres homosexuales, usuarios de drogas intravenosas, y dadores de sangre en Baltimore, sugiriendo falta de especificidad de los ensayos (173).

## Referencias bibliográficas

128. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis* 1995; 175 (Suppl 1): S9-S14.
129. Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB. Hepatitis A in Greenland: importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. *Am J Epidemiol* 1977; 105: 140-7.
130. Koff RS. Seroepidemiology of hepatitis A in the United States. *J Infect Dis* 1995; 171 (Suppl 1): S19-S23.
131. Goubau P, Gan Gerven V, Safary A. Effect of virus strain and antigen dose on immunogenicity and reactivity of an inactivated hepatitis A vaccine. *Vaccine* 1992; 10 (Suppl 1): S114-8.
132. Totos G, Gizaris V, Papaevangelou G. Hepatitis A vaccine: persistence of antibodies 5 years after the first vaccination. *Vaccine* 1997; 15: 1252-3.
133. Hollinger FB, Dreesman GR. Hepatitis viruses. In: Rose NR, de Macario EC, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM (eds.). *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1997.
134. Lemon SM, Gates NL, Simms TE, Bancroft WH. IgM antibody to hepatitis B core antigen as a diagnostic parameter of acute infection with hepatitis B virus. *J Infect Dis* 1981; 143: 803-9.
135. Czaja AJ, Shiels MT, Taswell HF, Wood JR, Ludwig J, Chase RC. Frequency and significance of immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in corticosteroid-treated severe chronic active hepatitis B. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 119-25.
136. Seeff LB, Beebe GW, Hoofnagle JH, Norman JE, Busch-Bales Z, Waggoner JG, *et al.* A serologic follow-up of the 1942 epidemic of post-vaccination hepatitis in the United States Army. *N Engl J Med* 1987; 316: 965-70.
137. Silva AE, McMahon BJ, Parkinson AJ, Sjogren MH, Hoofnagle JH, DeBisceglie AM. Hepatitis B virus DNA in persons with isolated antibody to hepatitis B core antigen who subsequently received hepatitis B vaccine. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 895-7.
138. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Grenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 22-6.
139. McMahon BJ, Parkinson AJ, Helminiak C, Wainwright RB, Bulkow L, Kellerman-Douglas A, *et al.* Response to hepatitis B vaccine of persons positive for antibody to hepatitis B core antigen. *Gastroenterology* 1992; 103: 590-4.
140. Aoki SK, Finegold D, Kuramoto IK, Douville C, Richards C, Randell R, *et al.* Significance of antibody to hepatitis B core antigen in blood donors as determined by their serologic response to hepatitis B vaccine. *Transfusion* 1993; 33: 362-7.
141. Foutch PG, Carey WD, Tabor E, Cianflocco AJ, Nakamoto S, Smallwood LA, *et al.* Concomitant hepatitis B surface antigen and antibody in thirteen patients. *Ann Intern Med* 1983; 99: 460-3.
142. Chernesky MA, Gretch D, Mushahwar IK, Swenson PD, Yarbough PO. Cumitech 18A. Laboratory diagnosis of the hepatitis viruses. Coordinating ed. S. Young. Washington DC: American Society for Microbiology; 1998.
143. Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D Viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Ed. Washington DC: ASM Press; 1999.
144. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B virus. In: Fields BN, Knipe DM, Hawley PM (eds.). *Fields Virology*, 4th Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2000.
145. Yostuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, *et al.* Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27: 1377-82.
146. Lorient MA, Marcellin P, Walker F, Boyer N, Degott C, Randrianatoairna I, *et al.* Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatol* 1997; 27: 251-8.
147. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, Veda Y, Tanaka K, Shimotohno K, *et al.* Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology* 2000; 31: 488-95.
148. Aoyagi K, Ohue C, Iida K, Kimura K, Tanaka F, Kiyosawa K, *et al.* Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1802-8.
149. Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology* 1992; 15: 340-53.
150. Lu RH, Hwang SJ, Chan CY, Chang FY, Lee SD. Quantitative measurement of serum HCV-RNA in patients with chronic hepatitis C: comparison between Amplicor HCV monitor system and branched DNA signal amplification assay. *J Clin Lab Anal* 1998; 12: 121-5.
151. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, Nelles M, Achord D, Darner J, *et al.* Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA. *Vox Sang* 1995; 68: 15-8.
152. Barrera JM, Bruguera M, Ercilla MG, Gil C, Celis R, Gil MP, *et al.* Persistent hepatitis C viremia after acute self-limited posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1995; 21: 639-44.
153. Seeff LB, the NHLBI Study Group. Mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B hepatitis and type C hepatitis: and NHLBI multi-center study. *Hepatology* 1994; 20: 204A.



154. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in Germany: a 20-year multi-center study. *Hepatology* 2000; 32: 91-6.
155. Mast AF, Hwang L-Y, Seto D, Nolte FS, Kelly MG, Alter MJ. Perinatal hepatitis C virus transmission: maternal risk factors and optimal timing of diagnosis. *Hepatology* 1999; 30: 499A.
156. Thomas SL, Newell ML, Peckham CS, Ades AE, Hall AJ. Use of polymerase chain reaction and antibody tests in the diagnosis of vertically transmitted hepatitis C virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 711-9.
157. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Cohn S, Thomas DL. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1999; 29: 908-14.
158. Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, Reynard B, Darthuy F, Remire J, *et al.* What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology* 1998; 27: 1700-2.
158. Ravaggi A, Biasin MR, Infantolino D, Cariani E. Comparison of competitive and non-competitive reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for the quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA. *J Virol Methods* 1997; 65A: 123-9.
159. Lunel F, Cresta P, Vitour D, Payan C, Dumont B, Frangeul L, *et al.* Comparative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and Monitor assays. *Hepatology* 1999; 29: 528-35.
160. Davis GL, Lau JY, Urdea MS. Quantitative detection of hepatitis C virus RNA with a solid-phase signal amplification assay: definition of optimal conditions for specimen collection and clinical application in interferon-treated patients. *Hepatology* 1994; 19: 1337-41.
161. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology assays for HCV RNA. *Vox Sanguinis* 1999; 76: 149-58.
162. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 41-63.
163. Reddy KR, Hoofnagle JH, Tong MJ, Lee WM, Pockros P, Heathcote EJ, *et al.* Racial differences in response to therapy with interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1999; 30: 787-893.
164. Forns X, Bukh J. Methods for determining the hepatitis C virus genotype. *Viral Hepatitis* 1998; 4: 1-19.
165. Germer JJ, Rys PH, Thorvilson JN, Pershing DH. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2625-30.
166. Marshall DJ, Heisler LM, Lyamichev V, Murvine C, Olive DM, Ehrlich GD, *et al.* Determination of hepatitis C virus genotype in the United States by cleavage fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3156-62.
167. Pawlotsky JM, Prescott L, Simmonds P, Pellet C, Laurent-Puig P, Labonne C, *et al.* Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1734-9.
168. Lau JY, Mizokami M, Kolberg JA, Davis GL, Prescott LE, Ohno T, *et al.* Application of six hepatitis C genotyping systems to sera from chronic hepatitis C patients in the United States. *J Infect Dis* 1995; 171: 281-9.
169. Rizetto M, Ponzetto A, Forzani I. Epidemiology of hepatitis delta virus: overview. *Prog Clin Biol Res* 1991; 364: 1-20.
170. Erker JC, Dessai SM, Schlauder GG, Dawson GJ, Mushawar IK. A hepatitis E variant from the United States: molecular characterization and transmission in cynomolgus macaques. *J Gen Virol* 1999; 80: 681-90.
171. Yarbrough PO, Tam AW, Gabor K. Assay development of diagnostic tests for hepatitis E. In: Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T (eds.): *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Tokyo: Springer-Verlag; 1994.
172. Mast EE, Alter MJ, Holland PV, Purcell RH. Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. *Hepatology* 1998; 27: 857-61.
173. Thomas DL, Yarbrough PO, Vlahov D, Tsarev SA, Nelson KE, Saah AJ, *et al.* Seroreactivity to hepatitis E virus in areas where the disease is not endemic. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1244-7.

# Guías del laboratorio para *screening*, diagnóstico y monitoreo de la injuria hepática\*

## EDITOR

D. Robert Dufour  
Chief, Pathology and Laboratory Medicine  
Service, VA Medical Center, Washington, DC;  
Professor of Pathology, George Washington  
University School of Medicine.

## GUIDELINES COMMITTEE

John A. Lott. Professor of Pathology, The Ohio  
State University College of Medicine  
Frederick S. Nolte. Associate Professor of  
Pathology and Laboratory Medicine, Emory  
University School of Medicine  
David R. Gretch. Associate Professor of  
Laboratory Medicine, University of Washington  
School of Medicine  
Raymond S. Koff. Professor of Medicine,  
University of Massachusetts Medical Center  
Leonard B. Seeff. Senior Scientist, Hepatitis C  
Programs, National Institute of Diabetes,  
Digestive, and Kidney Diseases, National  
Institutes of Health; Professor of Medicine,  
Georgetown University School of Medicine.

\* Este documento ha sido traducido con permiso de la Nacional Academy of Clinical Biochemistry (NACB), Washington, DC. La NACB no se hace responsable de la exactitud de la traducción. Los puntos de vista presentados son los de los autores y no necesariamente los de la NACB.

## Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

## SECCION III

### Reconocimiento de la injuria hepática por el laboratorio

La injuria hepática se define por el daño a los hepatocitos. Tradicionalmente, se reconocen dos patrones principales de injuria hepática, aguda y crónica. Estos son a menudo denominados "hepatitis", e indican la presencia de inflamación en el hígado. Sin embargo, en algunas causas de injuria hepática, la inflamación es mínima o está ausente; por eso en este documento se usará el término más específico de injuria hepática. La injuria hepática aguda se refiere al daño del hepatocito que ocurre abruptamente y en un corto período de tiempo. La característica más consistente de la injuria hepática aguda es la significativa elevación de las aminotransferasas (usualmente más de ocho veces el límite de referencia superior), a menudo acompañada por el aumento de la bilirrubina. La síntesis de proteínas está afectada en algunos casos, particularmente aquellos debidos a injuria directa de los hepatocitos por isquemia o ingestión de toxinas. La injuria hepática crónica se refiere a un daño continuo en el hepatocito durante largos períodos de tiempo, usualmente definidos como períodos mayores de 6 meses. La injuria hepática crónica usualmente se reconoce por una ligera elevación de las aminotransferasas (usualmente menos de 4 veces el límite de referencia superior), aunque las actividades pueden estar intermitentemente elevadas y, en un pequeño porcentaje de los casos, estar dentro de los límites de referencia. La excreción de bilirrubina y la síntesis de proteínas generalmente son normales. La fosfatasa alcalina generalmente se encuentra dentro de los límites de referencia en la mayoría de los casos de injuria hepática aguda y crónica; su medición generalmente es utilizada para reconocer desórdenes hepáticos con obstrucción del drenaje biliar, los que pueden de otra manera semejar injuria hepática aguda o crónica. Las proteínas totales, a menudo incluidas en los paneles hepáticos, no son útiles en la evaluación de la función hepática ya que están afectadas por cambios en niveles de inmunoglobulinas así como por cambios en la síntesis hepática. Un aumento en las globulinas es útil en pacientes con injuria hepática aguda o crónica para sugerir la posibilidad de una enfermedad autoinmune como causa de la injuria.

**Recomendación:**

Un panel hepático que contenga las siguientes pruebas debe ser usado para evaluar pacientes con enfermedad hepática conocida o sospechada: aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, bilirrubina directa, proteínas totales y albúmina. Este panel es actualmente aprobado para ser reembolsado por Health Care Financing Administration for Medicare.

## Injuria hepática aguda

La injuria hepática aguda puede ser reconocida por la presencia de ictericia o síntomas no específicos de enfermedad aguda acompañada por elevación de AST y/o ALT. Se estima que 80% de los individuos con hepatitis viral aguda no son nunca diagnosticados clínicamente aunque algunos pueden ser detectados por elevación de las aminotransferasas en la fase asintomática o con síntomas inespecíficos. Las actividades de AST y ALT son raramente mayores que 10 veces el límite de referencia superior en enfermedades diferentes de la injuria hepática aguda. ALP es mayor que 3 veces el límite de referencia superior en menos del 10% de los casos de injuria hepática aguda (174) (175). En la década pasada se observó una significativa disminución en la incidencia de la hepatitis viral aguda; en Centers for Disease Control and Prevention Sentinel Counties Study, la hepatitis B declinó un 55% y la hepatitis no-A, no-B (la mayoría de las cuales son hepatitis C) un 80% (175 a). Otras enfermedades hepáticas son las causas de los aumentos más comunes de AST o ALT; en un estudio reciente, el 25% de los casos con AST aumentada más de diez veces el límite de referencia superior presentaron una obstrucción como causa (176). En total, alrededor de 1-2% de los pacientes con obstrucción de los ductos biliares tienen un aumento transitorio en las actividades de AST y/o ALT > de 2.000 U/L (177) (178); las actividades de las aminotransferasas caen dentro del intervalo de referencia durante un lapso de 10 días aun si la obstrucción persiste (174) (176) (177).

Los valores mejor discriminantes para reconocer la injuria hepática aguda parecen ser 200 U/L para AST (sensibilidad 91%, especificidad 95%) y 300 U/L para ALT (sensibilidad 96%, especificidad 94%) (175). La AST supera 10 veces el límite superior del intervalo de referencia en más de la mitad de los pacientes al tiempo de presentación (175). En la hepatitis alcohólica no complicada, los valores de AST y ALT casi nunca son mayores a 10 veces el límite de referencia superior. La relación AST/ALT es mayor a 2 en el 80% de los casos y la fosfatasa alcalina está elevada en el 20% de los casos. (98) (179) (180). La ictericia ocurre en 60-70%

de los casos de hepatitis alcohólica (179) (180). La frecuencia de ictericia en pacientes con hepatitis viral aguda difiere tanto por la edad como por el agente etiológico. La ictericia es rara en niños con hepatitis viral y cuando se presenta es menos severa que en los adultos. En un estudio, sólo el 1% de los niños con hepatitis aguda tuvo un pico de bilirrubina mayor a 171  $\mu\text{mol/L}$  (10 mg/dL), mientras que el 27% de los adultos si los tuvieron (181). En adultos, la ictericia aparece en el 70% de los casos de hepatitis A aguda (182), 33-50% de los casos de hepatitis B aguda (183) (184) y 20-33% de los casos de hepatitis C aguda (185) (186). Existe una correlación directa entre la edad y el pico de bilirrubina sérica en niños; un aumento de 10 años en la edad se asoció con un aumento promedio con 85  $\mu\text{mol/L}$  (5 mg/dL) en la bilirrubina. En adultos, no hay una relación entre la edad y el pico de bilirrubina (187). La distribución de la bilirrubina directa como porcentaje de la bilirrubina total es similar en la injuria hepática aguda y en la ictericia obstructiva: sólo 16% de los casos de injuria hepática aguda tienen bilirrubina directa < 50% de la bilirrubina total. Porcentajes menores de la bilirrubina directa sugieren otra causa para la ictericia, tal como la hemólisis (187).

**Recomendaciones:**

La injuria hepática aguda puede ser diagnosticada por ALT mayor que 10 veces el límite superior del intervalo de referencia y fosfatasa alcalina menos que 3 veces dicho límite (IIB).

La bilirrubina directa es necesaria para descartar causas de aumento de la bilirrubina total tales como hemólisis, pero no diferencia la injuria hepática de la ictericia obstructiva (IIB).

## Marcadores de severidad

La hepatitis viral aguda A o B es generalmente una enfermedad autolimitante y la mayoría de los pacientes se recuperan completamente. De las personas con hepatitis C aguda, aproximadamente 80-85% desarrollan hepatitis crónica, aunque el porcentaje parece ser menor en niños o en mujeres jóvenes que reciben inmunoglobulina Rh (154) (188) (189). Raramente la injuria hepática aguda causa daño hepático severo y falla hepática aguda. Los análisis deben identificar los pacientes con mayor riesgo de falla hepática.

Las actividades de las aminotransferasas están más relacionadas con la causa de injuria hepática que con la severidad. Hay una débil correlación entre las actividades de las aminotransferasas y la bilirrubina en la hepatitis viral (175) y ninguna en la injuria hepática por isquemia o tóxica (190). El pico de las actividades de las

aminotransferasas no se correlaciona con el pronóstico y puede caer con el empeoramiento de la condición del paciente; en todos los casos de injuria hepática, las actividades de la aminotransferasas comienzan a caer antes de que se presente el pico de bilirrubina, independientemente de que ocurra recuperación o deterioro (175) (191). El tiempo de protrombina (TP) es el predictor más importante del pronóstico; tiempos de corte > 4 segundos por encima del control, > 20 segundos, o INR > 6,5 han sido usados para identificar pacientes con alto riesgo de muerte (99) (191). En la injuria hepática isquémica o tóxica, la prolongación del TP es comúnmente más temprana luego de la injuria, con el pico de anormalidad entre las 24-36 horas retornando luego rápidamente al valor normal. En la injuria por acetaminofeno, un TP prolongado no indica en si mismo probabilidad de falla hepática (94) (96), pero la elevación persistente o un aumento de TP por 4 días luego de la ingestión de acetaminofeno si es indicativa (192). Otros *tests* pueden ser útiles para el pronóstico en el caso de causas específicas de injuria hepática (191). En la hepatitis viral, bilirrubina total > 257 µmol/L (15 mg/dL) indica injuria hepática severa y obliga a un estrecho monitoreo por encefalopatía (193). En la hepatitis alcohólica, bilirrubina > 428 µmol/L (> 25 mg/dL) o albúmina < 25 g/L (2.5 g/dL) predice una alta probabilidad de muerte (91) (180).

**Recomendaciones:** Bilirrubina total > 257 µmol/L (15 mg/dL) o TP > 4 segundos por encima del límite superior de referencia en un individuo con hepatitis viral, en ausencia de otros factores que afectan los resultados, indican injuria hepática severa (IIB).

En la toxicidad por acetaminofeno, una elevación persistente o un aumento del tiempo de protrombina durante más de 4 días luego de la ingesta de acetaminofeno indica injuria hepática severa (IIB).

## Diagnóstico diferencial

El patrón de las anormalidades en el laboratorio varía según las diferentes causas de injuria hepática aguda (Tabla XII).

Tabla XII. Patrón de las pruebas de laboratorio en tipos de injuria hepática aguda.

Enfermedad	Pico ALT (x LRS)	Relación AST/ALT	Pico de bilirrubina (mg/dL)	Prolongación del tiempo de protrombina (s)
Hepatitis viral	10-40	<1	< 15	< 3
Hepatitis alcohólica	2-8	>2	< 15	1-3
Injuria tóxica	> 40	> 1 temprano	< 5	> 5 (transitorio)
Injuria isquémica	> 40	> 1 temprano	< 5	> 5 (transitorio)

x- veces; LRS- límite de referencia superior.

A menudo es posible sospechar el tipo de agente causante de injuria hepática a partir del patrón anterior. La evaluación inicial de los pacientes con el patrón más común (inmunológico) de injuria hepática aguda debería incluir una historia de drogas y un teste de anticuerpos para los virus de hepatitis A, B y C (VHA, VHB y VHC). La mayoría de las reacciones hepáticas por drogas ocurren dentro de los 3 a 4 meses de iniciado el tratamiento. Sin embargo, en algunos casos, la injuria hepática puede comenzar a manifestarse tan tarde como 12 meses luego de haber iniciado el tratamiento y en unos pocos casos la injuria puede tornarse evidente en días a semanas luego de abandonar la administración de la droga responsable (198). Por lo tanto, es importante preguntar acerca de todas las drogas que el paciente pudo haber recibido durante el año pasado o anteriores. La evaluación para la hepatitis viral debe utilizar el panel de hepatitis aguda aprobado por la Health Care Financing Administration. (IgM anti-VHA, IgM anti-HBc, AgHBs, y anti-VHC) (Fig. 8)

La IgM anti-VHA, el *test* diagnóstico de elección para la infección aguda por VHA, desaparece a los 4-6 meses (194), mientras que los anticuerpos VHA totales persisten durante toda la vida (129) y se encuentran en un alto porcentaje de la población (130). Debido a ese corto período de transmisibilidad, el diagnóstico de la infección aguda por VHA debe realizarse tan rápido como sea posible luego de la presentación, idealmente dentro de las 48 horas, para permitir el tratamiento de los individuos expuestos con globulina inmune. IgM anti-HBc y AgHBs son los *tests* más confiables para la infección aguda VHB (134) (193); la IgG anti-HBc persiste por años y no ayuda en el diagnóstico en la hepatitis aguda B (136). Otros marcadores virales para VHB y anticuerpos no son utilizados en el diagnóstico de la infección aguda por VHB. Actualmente no hay un *test* para el diagnóstico definitivo de la hepatitis C aguda, ya que anti-VHC y ARN VHC pueden estar presentes tanto en la infección aguda como en la crónica por VHC. Anti-VHC es detectable con EIA-2 en sólo 57% de los casos agudos de VHC al inicio de la elevación enzimática mientras que ARN VHC es positivo esencialmente en todos los casos (195), aunque está presente en el 15% (157) (196). Al momento de la presentación clínica entre el 80 y el 90% tienen anti-VHC detectable (196). Los

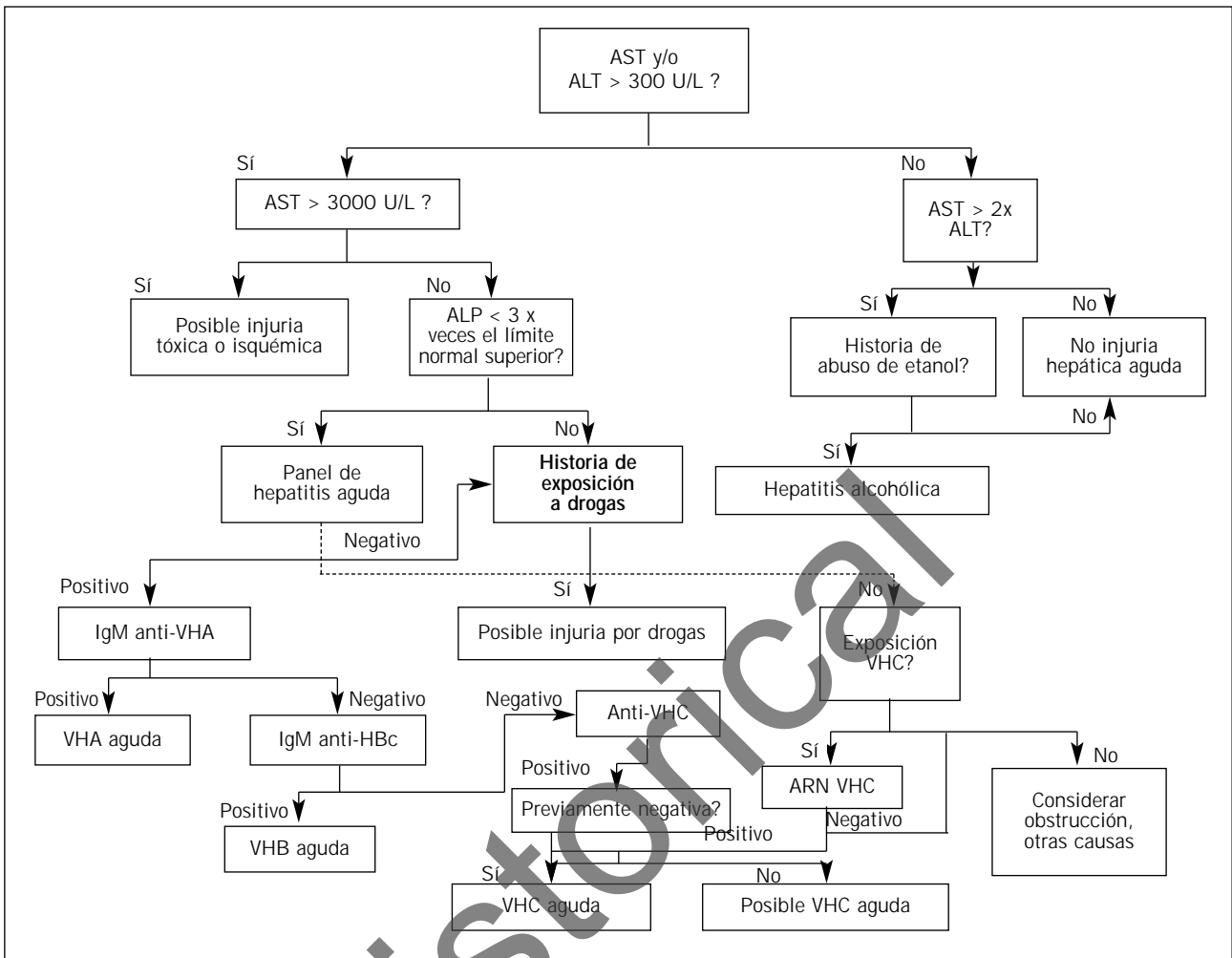


Figura 8. Abordaje para hepatitis aguda - En pacientes con signos o síntomas de injuria hepática aguda (fiebre, pérdida del apetito, orina oscura, materia fecal clara, ictericia), la evaluación inicial incluye determinación de las actividades de AST y ALT. Una ligera elevación en AST (< 10 veces el límite superior del intervalo de referencia), particularmente con AST > ALT, sugiere hepatitis alcohólica aguda, mientras que aumentos marcados (> 1.000 veces el límite superior del intervalo de referencia) sugiere fuertemente injuria hepática tóxica o isquémica. En aquellos casos con valores intermedios, un panel de hepatitis aguda (ver texto) es el inicio para la evaluación. La presencia de IgM anti-VHA o IgM anti-HBc son considerados diagnóstico para hepatitis aguda A y B, respectivamente. La hepatitis C aguda no puede ser diagnosticada definitivamente por pruebas serológicas, pero se puede sospechar por aparición de anti-VHC en un paciente con ictericia, cuando fue previamente negativo) ó ARN VHC positivo en un paciente que carece de anti-VHC. En un paciente con resultados negativos para marcadores virales deben ser consideradas otras causas de injuria hepática aguda tal como la obstrucción, otros agentes infecciosos, enfermedad de Wilson, o hepatitis autoinmune (ver Tabla XIII).

patrones que podrían soportar un diagnóstico de hepatitis aguda C son anti-VHC negativo pero ARN VHC positivo, o (si ARN VHC no fue testeado) los resultados de anti-VHC que se convierten de negativos en positivos dentro de un corto período de tiempo. El uso de anti-VHD para detectar la infección por virus delta debería ser limitado a pacientes con AgHBs positivo, particularmente si está acompañado por hepatitis aguda severa, factores de alto riesgo (abuso de drogas intravenosas, hemofilia) o por un patrón bifásico de enfermedad (197). Si un paciente con hepatitis B crónica se sobreinfecta con VHD, puede desarrollar un cuadro clínico

que semeja injuria hepática aguda severa y puede evolucionar a falla hepática (197).

### Manejo de pacientes sin causa obvia de injuria hepática aguda (Tabla XIII)

**Injuria hepática tóxica e isquémica.** Valores de AST o ALT superiores a 100 veces el valor normal son raros en la hepatitis viral (174) (175), pero son comunes tanto en la ingestión de toxinas, especialmente aceta-

Tabla XIII. Causas no comunes de injuria hepática aguda.

Desorden	Característica clave	Pruebas de laboratorio	Hallazgos asociados
Enfermedad de Wilson	Individuos jóvenes, fosfatasa alcalina baja, bilirrubina alta	Céruoplasmina baja en sólo 40%. Gen anormal en el cromosoma 13	Orina, cobre sérico no confiable en paciente con enfermedad de Wilson aguda. A menudo asociada con hemolisis o insuficiencia renal
Hepatitis auto inmune	Individuos jóvenes; gamma globulinas aumentadas; albúmina baja, ascitis a menudo presente	ANA positivo y/o ASMA	Otros desórdenes autoinmune en algunos casos
Hepatitis E	Viaje a áreas endémicas	Anti-VHE	Similar a hepatitis A
Otros virus	Características clínicas de mononucleosis a menudo presentes	Anti- CMV, Anti-EBV	Fosfatasa alcalina elevada

ANA – Anticuerpo anti nuclear; ASMA- Anticuerpo anti- músculo liso; UHB – virus de la hepatitis B; CMV-Chóme galovirus; EBV-Virus de Epstein-Barr.

**Recomendaciones:** La evaluación inicial de injuria hepática aguda debe incluir una historia detallada de drogas y marcadores virales (IgM anti-VHA, IgM anti-HBc, HBsAg, y anti-VHC) (II B).

Debido a la necesidad de profilaxis post-exposición el tiempo para la detección de IgM anti-VHA debe ser < 48 horas (III C, E).

Considerando el costo-efectividad (basado en la prevalencia), los laboratorios pueden usar inicialmente anticuerpos totales para VHA y anti-Bc, determinando anticuerpos IgM sólo si uno o ambos son positivos, si las necesidades del tiempo de retorno pueden ser logradas (III E).

El diagnóstico de la infección aguda por VHC (en un paciente con un cuadro clínico de injuria hepática aguda) puede ser hecho presuntivamente por ser negativos los marcadores VHA y VHB, por exposición reciente, y por presentar anti-VHC negativo y ARN VHC positivo, o anti-VHC negativo en la presentación inicial con desarrollo de anti-VHC positivo dentro de 1-3 meses (III B).

El testeo para VHD debe estar limitado a pacientes con HBsAg positivo, curso clínico atípico, y alto riesgo para infección con VHD (II B, E).

minofeno (96) (179) (200), como en la injuria hepática isquémica (94) (95) (190). En la injuria hepática inducida por acetaminofeno, el pico de AST es superior a 3.000 U/L en el 90% de los casos (200). La injuria hepática isquémica o tóxica causa más del 90% de los casos de las injurias hepáticas agudas con actividad de AST > 3000 U/L (200a). Tanto en la injuria hepática tóxica como en la isquémica, las actividades de AST y ALT presentan típicamente un pico temprano (en las

primeras 24 horas luego de la admisión) con actividad de AST inicialmente mayor que la ALT. Luego del pico, las actividades de ambas enzimas caen rápidamente; AST puede caer alrededor del 50% o más en las primeras 24 horas (199) (200) y declina más rápidamente que ALT debido a su corta vida media (175). La actividad de AST alcanza valores próximos al normal en promedio a los 7 días luego de la injuria (174). El tiempo de protrombina está más de 4 segundos por encima de los límites de referencia en el 90% de los casos (94) (96), y rápidamente cae luego que se alcanza el pico de AST (94).

La bilirrubina es menor que 34 µmol/L (2 mg/dL) en el 80% de casos de injuria tóxica o isquémica (94-96). La actividad de lactato deshidrogenasa (LDH) es a menudo superior a la de AST en el momento de la presentación para los casos de injuria hepática tóxica o isquémica (94) (199) (200), mientras que está aumentada inicialmente en sólo 55% de los casos de hepatitis viral, con valores promedio sólo ligeramente por encima del límite de referencia superior (175).

**Otras causas.** Raramente la enfermedad de Wilson y la hepatitis autoinmune (discutidas con más detalle como injurias hepáticas crónicas) pueden presentarse como injuria hepática aguda (Tabla XIII). La hepatitis E es endémica en algunas partes del mundo; los individuos con injuria hepática aguda que han viajado o residido en áreas endémicas deben ser testeados para anti-VHE. Varios virus distintos de los agentes clásicos (VHA, VHB, VHC, VHE) están asociados con hepatitis incluyendo Herpes Virus, citomegalovirus (CMV), enterovirus, coronavirus, reovirus (en neonatos), adenovirus, parvovirus B6 (en poblaciones pediátricas), virus varicela – zóster y virus de Epstein-Barr. La sífilis, la leptospirosis y

toxoplasmosis también pueden causar injuria hepática, así como otros agentes infecciosos menos comunes. Raramente, otros desórdenes como linfoma, el síndrome de Budd-Chiari, y enfermedades veno-oclusivas pueden presentarse con un cuadro de injuria hepática aguda. En general, la injuria hepática asociada con estas etiologías también es inusual, o está asociada con un síndrome específico varicela de los pollos con virus de varicela-zóster, mononucleosis con virus de Epstein-Barr o citomegalovirus). La mayoría de los pacientes con otras causas infecciosas de injuria hepática tiene signos y síntomas que sugieren un agente particular. El diagnóstico específico de infección por otros agentes debe ser realizado cuando la etiología permanece desconocida después de haber excluido las causas más comunes, y cuando el establecimiento de un diagnóstico específico aparece clínicamente indicado. Puede producirse sobreinfección con otros virus de hepatitis en un paciente con otras formas de injuria hepática, por ejemplo pacientes con VHC crónica o hepatitis alcohólica pueden ser infectados ya sea con VHA o VHB y desarrollar una hepatitis aguda debido a la infección agregada. En la hepatitis crónica, un aumento agudo en las aminotransferasas con semejanza a la hepatitis aguda puede ocurrir con un *clearance* de AgHBe (208) o con emergencia de cuasi especies de VHC (209).

**Recomendaciones:** En pacientes con marcadores virales negativos (AST inicial > 100 veces el límite superior del intervalo de referencia, debe ser sospechada exposición tóxica o isquemia (IIB).

En pacientes con marcadores virales negativos y niveles de enzimas 8-100 veces el límite superior de intervalo de referencia, los *tests* deben excluir la posibilidad de enfermedad de Wilson y hepatitis autoinmune (IIB).

El *test* para anticuerpos para hepatitis E se recomienda en aquellos individuos con serología negativa para otros virus e historia de viajes recientes o residencia en el área endémica (IIIE).

Los *tests* para otros agentes infecciosos (virus de Epstein-Barr y citomegalovirus, sífilis, toxoplasmosis) pueden ser usados si otras causas no son evidentes (IIB).

## Monitoreo

**Aminotransferasas** – Las actividades de las aminotransferasas tienden a aumentar primero y presentan un pico cercano al comienzo de la aparición de la ictericia en la hepatitis viral, cayendo gradualmente a partir de ese punto (191). Las actividades tienden a caer lentamente en la hepatitis viral y en la alcohólica; AST y ALT disminuyen en promedio 11.7% y 10.5% por día, respectivamente, y permanecen elevadas  $22 \pm 16$  y

$27 \pm 16$  días, respectivamente (175). En la hepatitis A se produce un aumento secundario en las enzimas en un 5-10% de los casos antes de que las actividades retornen al valor basal, asociado con ARN VHA circulante y partículas virales en materia fecal, indicando potencialidad para la transmisión de la infección (210). Como se discutió antes, AST y ALT caen rápidamente luego de alcanzar el pico de actividades en la injuria hepática tóxica e isquémica. Una vez que las aminotransferasas han mostrado un patrón de disminución consistente no necesitan ser controladas nuevamente hasta que el paciente se haya recuperado clínicamente. El retorno de las aminotransferasas al valor normal no es un signo confiable de recuperación en la hepatitis B o C. En pacientes con infección crónica por VHC, el 49% de los casos tienen ALT normal en la visita inicial luego de la seroconversión que desarrolló aumento de ALT en el seguimiento subsecuente (211). En la hepatitis B, AST y ALT pueden retornar al valor normal a pesar de la persistencia de la infección (212).

**Bilirrubina** - La bilirrubina hace el pico después de la aminotransferasas, a menudo una semana y luego gradualmente decae. Un pico de bilirrubina de 257 – 342  $\mu\text{mol/L}$  (15-20 mg/dL) no es usual en hepatitis viral. Sólo del 10-12% de los pacientes con hepatitis viral tiene valores por encima de 257  $\mu\text{mol/L}$  (15 mg/dL) y sólo 4% tiene valores pico sobre 342  $\mu\text{mol/L}$  (20 mg/dL); la bilirrubina más alta es más común en la infección por VHB (175) (181). A medida que la bilirrubina total disminuye, la proporción de bilirrubina- $\delta$  aumenta, a menudo alcanzando 70-80% de la bilirrubina total (213) (214). En adultos con hepatitis viral, la bilirrubina permanece elevada  $30.3 \pm 19.7$  días luego de que se alcanzaron los niveles pico (175), pero clarifica más rápidamente en niños (181); la ictericia permanece más de 6 semanas en el 34% de los casos de adultos con VHB pero en sólo 15% de los casos de otras formas de hepatitis viral (181). Una elevación prolongada de la

**Recomendaciones:** El tiempo de protrombina > 4 segundos por encima de los límites de referencia, bilirrubina > 257  $\mu\text{mol/L}$  (15 mg/dL), o desarrollo de encefalopatía identifica a los pacientes de alto riesgo que requieren un monitoreo cuidadoso y la consideración de consulta con un gastroenterólogo o hepatólogo (IIB).

En pacientes con hepatitis B aguda, se debe realizar repetidamente la determinación de AgHBs dentro de los 6-12 meses; si es negativa y anti-HBs es positiva no se necesita seguimiento posterior (IIE).

En pacientes con hepatitis C aguda, ALT debe ser repetida periódicamente durante 1-2 años para asegurar la continuidad de los resultados normales. El *clearance* del virus debe ser confirmado con medidas cualitativas de ARN HCV (II B).

bilirrubina conjugada ocurre ocasionalmente con la hepatitis viral, particularmente con HVA, pero no significa un pobre pronóstico si la función sintética permanece intacta (215). No es común un aumento significativo de bilirrubina en la injuria hepática isquémica o tóxica. Una vez que la bilirrubina comenzó a disminuir, no hay razón para medirla nuevamente a menos que clínicamente la ictericia empeore.

**Pruebas de coagulación** – El tiempo de protrombina elevado es un hallazgo común en la injuria hepática tóxica e isquémica, a menudo con resultados > 15 segundos ó 4 segundos por encima del límite superior del intervalo de referencia, antes de retornar rápidamente al valor normal. No hay datos sobre el grado de elevación que pueda afectar el pronóstico en la injuria hepática isquémica. Una elevación del tiempo de protrombina > 15 segundos, o más de 4 segundos por encima de los límites del intervalo de referencia en hepatitis viral o alcohólica es marcadora de enfermedad más severa (98) (99) (180).

**Marcadores serológicos** - En individuos con hepatitis B aguda AgHBs es el mejor indicador del *clearance* viral. Los pacientes que pierden AgHBs y desarrollan anti-HBs virtualmente nunca desarrollan recurrencia de injuria hepática, y pueden ser considerados como recuperados de la infección por VHB. En la infección aguda por VHC, la mayoría de los individuos nunca desarrollan un cuadro clínico de injuria hepática aguda (154) (211). El único marcador confiable del *clearance* de VHC es el ARN HCV repetidamente (en por lo menos dos ocasiones) negativo, usando *tests* cualitativos sensibles.

## Referencias bibliográficas

174. Ellis G, Goldberg DM, Spooner RJ, Ward AM. Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 248-58.
175. Rozen P, Korn RJ, Zimmerman HJ. Computer analysis of liver function tests and their interrelationship in 347 cases of viral hepatitis. *Isr J Med Sci* 1970; 6: 67-79.
- 175a. Hepatitis Surveillance Report No. 56. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1995, 36p.
176. Whitehead MW, Hawkes ND, Hainsworth I, Kingham JGC. A prospective study of the causes of notably raised aspartate aminotransferase of liver origin. *Gut* 1999; 45: 129-33.
177. Anciaux ML, Pelletier AG, Attali P, Meduri B, Liguory C, Etienne JP. Prospective study of clinical and biochemical features of symptomatic choledocholithiasis. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 449-53.
178. Fortson WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *J Clin Gastroenterol* 1985; 7: 502-05.
179. Mihas AA, Doos WG, Spenny JG. Alcoholic hepatitis – a clinical and pathological study of 142 cases. *J Chronic Dis* 1978; 31: 461-72.
180. Goldberg S, Mendenhall C, Anderson S, García-Pont P., Kieman T, Seeff L, *et al.* VA Cooperative Study on Alcoholic Hepatitis. IV. The significance of clinically mild alcoholic hepatitis – describing the population with minimal hyperbilirubinemia. *Am J Gastroenterol* 1986; 81: 1029-34.
181. Stewart JS, Farrow LJ, Clifford RE, Lamb SG, Coghill NF, Lindon RL, *et al.* A three-year survey of viral hepatitis in West London. *Q J Med* 1978; 47: 365-84.
182. Lednar WM, Lemon SM, Kirkpatrick JW, Redfield RR, Fields ML, Kelley PW. Frequency of illness associated with epidemic hepatitis A virus infections in adults. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 226-33.
183. Gitlin N. Hepatitis B, diagnosis, prevention and treatment. *Clin Chem* 1997; 43: 1500-6.
184. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Haymond WL, Bender TR, Francis DP, *et al.* Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985; 151: 599-603.
185. Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology* 1997; 26(Suppl 1): 15S-20S.
186. Seeff LB, Wright EC, Zimmerman HJ, McCollum VA. Cooperative study of post-transfusion hepatitis, 1969-1974: incidence and characteristics of hepatitis and responsible risk factors. *Am J Med Sci* 1975; 270: 355-62.
187. Borsch G, Baier J, Glocke M, Nathusius W, Gerhardt W. Graphical analysis of laboratory data in the differential diagnosis of cholestasis: a computer-assisted prospective study. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988; 26: 509-19.
188. Kenny-Walsh E, for the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999; 340: 1228-33.
189. Vogt M, Lang T, Frosner G, Klinger C, Sendl AF, Zeller A, *et al.* Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood donor screening. *N Engl J Med* 1999; 341: 866-70.
190. Gitlin N, Serio KM. Ischemic hepatitis: widening horizons. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 831-6.
191. Tygstrup N, Ranek L. Assessment of prognosis in fulminant hepatic failure. *Semin Liv Dis* 1986; 6: 129-37.
192. Harrison PM, O'Grady JG, Keays RT, Alexander GJ, Williams R. Serial prothrombin time as prognostic indicator in paracetamol induced fulminant hepatic failure. *BMJ* 1990; 301: 964-8.
193. Noskin GA. Prevention, diagnosis, and management of viral hepatitis: a guide for primary care physicians. *Arch Fam Med* 1995; 4: 923-34.



194. Lemon SM, Brown CD, Brooks DS, Simms TE, Bancroft WH. Specific immunoglobulin M response to hepatitis A virus determined by solid phase radioimmunoassay. *Infect Immun* 1980; 28: 927-36.
195. Gretch DR, de la Rosa C, Carithers RL, Wilson RA, Williams B, Corey L. Assessment of hepatitis C viremia using molecular amplification technologies: correlations and clinical implications. *Ann Intern Med* 1995; 123: 3211-329.
196. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, *et al.* The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992; 327: 1899-905.
197. London WT, Evans AA. The epidemiology of hepatitis viruses B, C, and D. *Clin Lab Med* 1996; 16: 251-71.
198. Zimmerman HJ. Hepatotoxicology: The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. 2nd Edition. Philadelphia: J. B. Lippincot; 1999.
199. Fry SW, Seeff LB. Hepatotoxicity of analgesics and antiinflammatory agents. *Gastroenterol Clin North Am* 1995; 24: 875-905.
200. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology* 1995; 22: 767-73.
- 200a. Johnson RD, O'Connor ML, Kerr RM. Extreme serum elevations of aspartate aminotransferase. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1244-5.
201. Shilsky ML. Wilson disease: genetic basis of copper toxicity and natural history. *Semin Liv Dis* 1996; 16: 83-95.
202. Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl C, *et al.* Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology* 1997; 113: 212-8.
203. Berman DH, Leventhal RI, Gavaler JS, Cadoff EM, Van Thiel DH. Clinical differentiation of fulminant Wilsonian hepatitis from other causes of hepatic failure. *Gastroenterology* 1991; 100: 1129-34.
204. Crapper RM, Bhathal PS, Mackay IR, Frazer IH. "Acute" autoimmune hepatitis. *Digestion* 1986; 34: 216-25.
205. Amontree JS, Stuart TD, Bredfeldt JE. Autoimmune chronic active hepatitis masquerading as acute hepatitis. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11: 303-07.
206. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993; 18: 998-1005.
207. Horwitz CA, Burke MD, Grimes P, Tombers J. Hepatic function in mononucleosis induced by Epstein-Barr virus and cytomegalovirus. *Clin Chem* 1980; 26: 243-6.
208. Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ, Lin DY, Chang-Chien CS. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983; 84: 216-9.
209. Yuki N, Hayashi N, Moribe T, Matsushita Y, Tabata T, Inoue T, *et al.* Relation of disease activity during chronic hepatitis C infection to complexity of hypervariable region 1 quasispecies. *Hepatology* 1997; 25: 439-44.
210. Tong MJ, el-Farra NS, Crew MI. Clinical manifestations of hepatitis A. Recent experience in a community teaching hospital. *J Infect Dis* 1995; 171 Suppl 1: S15-8.
211. Inglesby TV, Rai R, Astemborski J, Gruskin C, Nelson KE, Vlahov D, *et al.* A prospective community-based evaluation of liver enzymes in individuals with hepatitis C after drug use. *Hepatology* 1999; 29: 590-6.
212. de Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Tatarella M, Colombo M, Del Ninno E, *et al.* The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118: 191-4.
213. Weiss JS, Gautman A, Lauff JJ, Sunaberg MW, Jatlow P, Boyer JL, *et al.* The clinical importance of a protein-bound fraction of serum bilirubin in patients with hyperbilirubinemia. *N Engl J Med* 1983; 309: 147-50.
214. Van Hooftgem P, Fevery J, Blanckaert N. Serum bilirubins in hepatobiliary disease: comparison with other liver function tests and changes in the postobstructive period. *Hepatology* 1985; 5: 112-7.
215. Gordon SC, Reddy KR, Schiff L, Schiff ER. Prolonged intrahepatic cholestasis secondary to acute hepatitis A. *Ann Intern Med* 1984; 101: 635-7.

Historical



# Guías del laboratorio para *screening*, diagnóstico y monitoreo de la injuria hepática\*

## EDITOR

D. Robert Dufour  
Chief, Pathology and Laboratory Medicine  
Service, VA Medical Center, Washington, DC;  
Professor of Pathology, George Washington  
University School of Medicine.

## GUIDELINES COMMITTEE

John A. Lott. Professor of Pathology, The Ohio  
State University College of Medicine  
Frederick S. Nolte. Associate Professor of  
Pathology and Laboratory Medicine, Emory  
University School of Medicine  
David R. Gretch. Associate Professor of  
Laboratory Medicine, University of Washington  
School of Medicine  
Raymond S. Koff. Professor of Medicine,  
University of Massachusetts Medical Center  
Leonard B. Seeff. Senior Scientist, Hepatitis C  
Programs, National Institute of Diabetes,  
Digestive, and Kidney Diseases, National  
Institutes of Health; Professor of Medicine,  
Georgetown University School of Medicine.

\* Este documento ha sido traducido con permiso de la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), Washington, DC. La NACB no se hace responsable de la exactitud de la traducción. Los puntos de vista presentados son los de los autores y no necesariamente los de la NACB.

## Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

## SECCION IV

### Injuria hepática crónica

La injuria hepática crónica (IHC) es un desorden relativamente común con síntomas mínimos, pero con riesgo a largo plazo de morbilidad y mortalidad significativas. Desde el punto de vista patológico se define por necrosis hepática progresiva e inflamación del hígado, acompañada a menudo por fibrosis. Puede progresar a cirrosis (15-20% en HCV) y predispone para el carcinoma hepatocelular. Comúnmente se debe a una infección viral crónica. Sólo en los EE.UU. se estima que hay entre 2,1 y 2,7 millones de personas infectadas crónicas con virus de la hepatitis C (HCV) (1). También hay alrededor de 1-1,25 millones de portadores crónicos de virus de la hepatitis B (HBV) sólo en EE.UU. Mientras que las tasas de prevalencia para la infección por HCV generalmente están entre 0,5 y 5% en otras partes del mundo, las tasas para HBV varían marcadamente, siendo en muchas áreas una infección endémica. La prevalencia del HBV endémico en niños está en declinación en muchas partes del mundo debido al uso de la vacuna. Los hallazgos del laboratorio a menudo son adecuados para establecer el diagnóstico con un valor predictivo del 88% para la hepatitis alcohólica y un 81% para la hepatitis viral crónica (antes de que estuviesen disponibles *tests* para HCV) cuando se los compara con una biopsia (216).

**Recomendación:** en ausencia de una biopsia hepática que demuestre una hepatitis crónica, debe usarse una de las siguientes definiciones clínicas para diagnosticar una hepatitis crónica:

– Persistencia de ALT elevada más de 6 meses luego de un episodio de hepatitis aguda o.

– Elevación de ALT (sin otra explicación) en más de una ocasión en un periodo de 6 meses. Un tiempo más corto puede ser apropiado en pacientes con factores de riesgo para hepatitis viral crónica, causas genéticas de injuria hepática o injuria hepática autoinmune; o en presencia de signos clínicos o síntomas de enfermedad hepática (IIB).

Aunque la definición de IHC por la elevación de la ALT es ampliamente aceptada, un 15-50% de individuos con hepatitis crónica a virus C tienen la ALT normal (211). La probabilidad de continuar con una ALT normal disminuye con el número de mediciones; aún después de tres valores de ALT normales, el 11% de aquellos pacientes con viremia crónica por HCV desarrollan una ALT elevada persistentemente (211). La ALT a menudo fluctúa entre normal y anormal particularmente en la hepatitis C crónica; el 60% de los pacientes con múltiples mediciones de ALT tienen por lo menos algún valor normal (Dufour DR, observaciones no publicadas). La mayoría de los pacientes con ALT persistentemente normal tienen evidencia histológica de hepatitis crónica en una biopsia, pero, en general la inflamación es más leve, la fibrosis es menor y tienen menores tasas de progresión a cirrosis que los pacientes con hepatitis a virus C con ALT elevada (185) (217). Las pautas del Centers for Disease Control and Prevention (CDC) no recomiendan el tratamiento del paciente con HCV y ALT persistentemente normal (218). Aunque se necesitan estudios a largo plazo, parece que la definición clínica propuesta no perderá a un grupo significativo de pacientes que requieren tratamiento.

No siempre es posible distinguir entre injuria hepática aguda y crónica. La mayoría de pacientes con hepatitis C crónica (causa más común de una IHC) tienen valores de ALT entre 1-4 veces el límite de referencia superior, y el 90% tienen un máximo de ALT menor que 7 veces dicho límite, valores inferiores que los vistos típicamente en una hepatitis aguda. Sin embargo, en cerca del 5% de los casos el pico de ALT puede estar por encima de 10 veces el límite de referencia superior, asociado a menudo con ictericia, con un patrón semejante al de la injuria hepática aguda (Dufour DR, observaciones no publicadas). En tales casos, a menudo son necesarios análisis adicionales para descartar otra causa de injuria aguda.

#### SCREENING

El *screening* general de población para la IHC no es costo-efectivo; los análisis deben limitarse a individuos de alto riesgo (218) (219), en los que se incluyen aquellos con historia familiar de enfermedades genéticas conocidas que afectan el hígado, o factores de riesgo para infección viral crónica (Tabla XIV).

La ALT es mayor que la AST en todas las causas de IHC excepto la alcohólica; la AST es normal en un número significativo de casos. La ALT puede ser normal en pacientes con cirrosis, mientras que la AST permanece elevada (100) (220). La fosfatasa alcalina y la bilirrubina total y directa son normales en casi todos los pacientes y no son útiles en el *screening* (216) (221) (222). Si en un *test* de rutina se encuentra una ALT elevada esto debe confirmarse repitiéndolo antes de una

Tabla XIV. Factores de riesgo para hepatitis viral crónica (ref. 218)

#### Factores de riesgo establecidos

- Uso de drogas inyectadas
- Hemodiálisis crónica
- Transfusión de sangre o trasplante previo a 1992 (HCV)
- Receptor de sangre (incluyendo jeringas) de un donante positivo para HCV.
- Receptor de factores de coagulación concentrados producidos antes de 1987.
- Ascendientes asiáticos (HCV)
- Trabajadores de la salud no vacunados (HBV)
- Nacido de madre con HCV o HBV crónicas

#### Factores de riesgo posibles

- *Piercing* o tatuajes en el cuerpo
- Múltiples parejas sexuales o enfermedades de transmisión sexual
- Trabajadores de la salud (HCV)
- Contacto con personas positivas para HCV

posterior evaluación. Se ha encontrado una minoría de individuos con enfermedad hepática que sólo tienen la ALT elevada (221) (223). Los pacientes con una ALT ligeramente elevada (1-2 veces el límite de referencia superior) es probable que tengan una elevación transitoria no debida a enfermedad (216) (222) (223); sin embargo, cerca del 30% de los que tienen una infección crónica por HCV tienen un pico de ALT menor que 2 veces el límite de referencia superior (Dufour DR, observaciones no publicadas). Como la ALT también se encuentra en el músculo esquelético debe considerarse al ejercicio físico y, de ser así, medir una creatina quinasa para descartar el origen muscular de la ALT (25) (223).

En pacientes con factores de riesgo para infección crónica por HBV o HCV (Tabla XIV) deben medirse HBsAg y el anti-HCV para el *screening* de la infección crónica. Los portadores "crónicos" de HBV tienen típicamente una ALT normal (224) y el 15-30% de pacientes con infección crónica por HCV tienen la ALT normal en forma persistente o intermitente; sin embargo, la probabilidad de tener sólo valores normales cae con la frecuencia del análisis (225). Como algunos individuos con anti-HCV tienen viremia no detectable, las personas con anti-HCV positivo y ALT normal deben realizarse un ARN-HCV cualitativo para identificar individuos con infección persistente. El ARN - HCV puede estar presente en forma transitoria en las primeras etapas de la infección (157). Si un paciente tiene la ALT persistentemente elevada con anti-HCV positivo y ARN-HCV negativo, el *test* debe repetirse.

**Recomendaciones:** se recomienda el *screening* para hepatitis crónica en individuos asintomáticos de alto riesgo (IIB, E).

ALT es el *test* de *screening* más costo-efectivo para la injuria hepática metabólica o inducida por drogas; la AST debería medirse en el caso de historia de abuso de alcohol (IIB, E).

Serología viral específica (HBsAg, anti-HCV), debería usarse, en adición a la ALT, en individuos con alto riesgo de hepatitis viral (IB).

De ser necesario debe realizarse la confirmación de infección crónica por HCV en un individuo con anti-HCV positivo, por *test* de ARN-HCV; si es negativo y la ALT está elevada, el ARN-HCV debería repetirse (IIB).

el diagnóstico más probable es hepatitis alcohólica. Virtualmente, ninguna otra forma de IHC causa aumento de AST > ALT, a menos que se desarrolle una cirrosis (221) (222). Mientras que la mayoría de los casos de IHC son causados por virus, drogas o etanol, un cierto número de otros desórdenes pueden producir una IHC. No son necesarios *tests* adicionales si la evaluación inicial es consistente con hepatitis B, C o con hepatitis alcohólica (222) (226). La prescripción de drogas puede causar un incremento persistente en la ALT, sobre todo con drogas como las sulfonamidas, agentes que disminuyen el colesterol y la isoniazida (198). En un estudio realizado en un área de baja prevalencia de hepatitis viral, la historia de uso de drogas de prescripción fue común en individuos con IHC y etiología no reconocible a pesar de los *tests* de laboratorio (227). En pacientes con ALT elevada, marcadores virales negativos e historia negativa de consumo de drogas o alcohol, el seguimiento debería considerar causas menos comunes de IHC (Tabla XV).

### Diagnóstico diferencial

Si la historia clínica sugiere abuso de alcohol y/o la AST es mayor que la ALT (especialmente si > 2 x ALT),

Tabla XV. Otras causas de elevación crónica de ALT y/o AST.

Causa	Características clave	Tests de Screening	Test confirmatorio
Esteatohepatitis no alcohólica	Causa más común luego de la viral, alcohólica	Ninguno	Biopsia
Hemocromatosis	Autosómica recesiva; 1:200 entre ancianos del norte de Europa	Saturación de transferrina > 45%; capacidad de unión de hierro no saturado < 28 mmol/L (155 µg/L)	Análisis de genes HFE para mutación C282Y
Enfermedad de Wilson	Autosómica recesiva; 1:30.000 individuos; anemia hemolítica; injuria renal.	Baja celuloplasmina en 65 - 95% de los homocigotas; 20% en heterocigotas	Análisis genético, bajo cobre sérico, alto cobre urinario
Hepatitis autoinmune	Hasta un 18% de hepatitis no virales, principalmente en mujeres jóvenes; γ-globulina aumentada	ANA y ASMA; comúnmente falso positivo para anti-HCV	Biopsia
Cirrosis biliar primaria	Mujeres de edad media; generalmente aumento de fosfatasa alcalina; asociada a menudo con síndrome de Sjogren	Anticuerpo anti-mitocondrial	Biopsia
Colangitis esclerosante	Hombres jóvenes y de edad media; generalmente aumento principal de fosfatasa alcalina; asociada con enfermedad inflamatoria del intestino	Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos; ASMA, ANA pueden ser positivos	Imágenes de ductos biliares
Deficiencia de α <sub>1</sub> -antitripsina	Autosómica recesiva; 1:1.000 a 1:200; dudas acerca de si causa enfermedad hepática crónica en adultos	Fenotipo de α <sub>1</sub> - antitripsina	

**Recomendaciones:** la evaluación inicial debería incluir una historia de drogas detallada junto con la medición de HBsAg y anti-HCV. Si este último es positivo, debería confirmarse la infección crónica con una medición cualitativa de ARN-HCV (IIB, E).

Con una ALT que persiste elevada y con marcadores virales negativos el seguimiento debería incluir anticuerpos antinucleares, hierro y capacidad de unión al hierro (o capacidad de unión al hierro no saturado) (IIIB).

En pacientes menores de 40 años también debería medirse la ceruloplasmina (IIIB).

En pacientes negativos para estos marcadores, el fenotipo de  $\alpha_1$ -antitripsina puede ser útil (IIIB).

Si estos *tests* son negativos o indeterminados debería llevarse a cabo una biopsia hepática (IIIB).

## Estudio de pacientes sin causa obvia de injuria hepática crónica

**Esteatohepatitis noalcohólica (NASH).** La aparición de una enfermedad hepática crónica que histológicamente semeja una hepatitis alcohólica (cambio graso o esteatosis, respuesta inflamatoria neutrofílica y cuerpos de Mallory) en pacientes sin abuso de alcohol ha sido llamada NASH. Muchos individuos con ALT elevada tienen esteatosis sin la presentación histológica completa de la NASH (227). La esteatosis no alcohólica es la causa más común de injuria hepática crónica, más que los virus y el alcohol así como la causa más común de cirrosis criptogénica (216) (228). Aunque se presenta más comúnmente en mujeres de mediana edad, con obesidad y/o diabetes, también lo hace en hombres y en personas sin estos factores de riesgo (228). Los pacientes con NASH generalmente presentan perfiles lipídicos anormales, aunque resultados normales no descartan esta enfermedad. Difiere de la hepatitis alcohólica pues tiene la ALT más elevada que la AST (excepto en los que tienen cirrosis) (229). La disminución de peso puede causar una mejora significativa en los resultados de las enzimas; en un estudio, una reducción del peso del 1% causó una caída del 8,1% en la ALT (230). No hay características clínicas ni pruebas de laboratorio que establezcan un diagnóstico definitivo de NASH; la biopsia es el único procedimiento diagnóstico con la especificidad adecuada.

**Recomendación:** la biopsia es necesaria para establecer el diagnóstico de NASH (IIB).

**Hemocromatosis.** Es el defecto genético heredado más común que se detecta en personas con ancestros del norte de Europa (aproximadamente 1:200-1:300 en los Estados Unidos) (231). La mayoría de los casos se debe a una de dos mutaciones puntuales del gen HFE sobre el cromosoma 6. La mayoría (60-90%) de los individuos afectados son homocigotas para la mutación C282Y (845A), mientras que una minoría tiene un componente heterocigota para esta mutación y la H63D (187G) (232). El *screening* implica detectar el aumento de la saturación de transferrina (saturación = hierro sérico (Fe) \* 100/capacidad de unión total del hierro (TIBC) (233) o baja capacidad de unión del hierro no saturado (234). Un punto de corte de la saturación de transferrina  $\geq 45\%$  o de la capacidad de unión del hierro no saturado  $\leq 28 \mu\text{mol/L}$  (155 mg/dL) tiene una sensibilidad de 90-100% para la mutación homocigota C282Y; si se usan muestras en ayunas la especificidad es 43% (235) (236). Una reciente conferencia para consenso recomienda que el diagnóstico definitivo debe hacerse por un análisis genético (237). Mientras varias publicaciones han mostrado la viabilidad del *screening* para hemocromatosis usando saturación de transferrina, la mayoría de los investigadores y las organizaciones no la recomiendan debido a temas no resueltos con relación a la capacidad de convencer a adultos jóvenes para ser estudiados, a la especificidad y reproducibilidad de los *tests* de *screening* y a interrogantes acerca de la historia natural de la enfermedad no tratada (237). El *screening* ha sido defendido por el College of American Pathologists (238) y se ha estimado que ahorra US\$ 3,19 por cada donante de sangre que se somete a él (239).

**Recomendaciones:** la evaluación inicial para hemocromatosis debería realizarse a través de la determinación en ayunas de la saturación de la transferrina sérica o de la capacidad de unión del hierro no saturado (IIB).

Una saturación de transferrina  $\geq 45\%$  o una capacidad de unión del hierro no saturado  $\leq 28 \mu\text{mol/L}$  (155 mg/dL) debería continuarse con un análisis de mutaciones del gen HFE (IIB).

El *screening* poblacional puede ser beneficioso pero no se recomienda en tanto no estén claros sus beneficios (IIB, E).

**Enfermedad de Wilson.** Se trata de un desorden autosómico recesivo que se produce en 1 cada 30.000 individuos, en Europa y América del Norte. Es causado por la mutación de un gen en el cromosoma 13 que codifica para una ATPasa necesaria para el transporte del cobre (240). La enfermedad de Wilson puede presentarse como una enfermedad hepática como problemas neurológicos, o con síntomas psiquiátricos, casi siempre antes de los 40 años. La mayoría de los pacien-

tes que presentan síntomas hepáticos no tienen manifestaciones neurológicas (201). El hallazgo diagnóstico más común es la ceruloplasmina plasmática disminuida. Niveles bajos aparecen también en la malnutrición, pérdida proteica y enfermedad hepática avanzada; valores falsamente disminuidos pueden aparecer en el embarazo, en la administración de estrógenos y en la inflamación aguda (241). La mayoría de los informes hacen referencia a una ceruloplasmina baja en el 95% de los homocigotas y en el 20% de los heterocigotas (241). Un estudio halló una ceruloplasmina normal en el 35% de los pacientes con enfermedad hepática crónica por enfermedad de Wilson (confirmada en el 80% de los casos por estudios genéticos), pero sólo en 15% de pacientes con enfermedad de Wilson sin compromiso hepático manifiesto (201). Otros hallazgos esperados en la enfermedad de Wilson son aumento del cobre sérico libre, disminución del cobre sérico total, aumento de la excreción urinaria de cobre y aumento del contenido hepático de cobre. Estos *tests* también pueden proporcionar resultados confusos en pacientes con enfermedad de Wilson (201) (242). Frecuentemente se necesitan *tests* múltiples para establecer el diagnóstico.

**Recomendaciones:** Se indica estudiar la ceruloplasmina en la enfermedad de Wilson en pacientes menores de 40 años con injuria hepática crónica o con hígado graso y con estudios negativos para hepatitis viral, injuria hepática inducida por drogas y hemocromatosis (IIB).

No está indicado el *screening* para enfermedad de Wilson en todos los pacientes con IHC (IIB, E).

El estudio de marcadores genéticos puede ser útil en algunos casos ambiguos, pero debe ser capaz de detectar mutaciones múltiples en los genes de la enfermedad de Wilson (IIIB).

**Hepatitis autoinmune.** La hepatitis autoinmune (HAI) es responsable de hasta un 18% de hepatitis crónicas no debidas a virus ni a alcohol (243). Se han descrito ciertas variantes de HAI (244). La Tipo 1, que se encuentra generalmente en mujeres jóvenes y de mediana edad, es la forma más frecuente; se asocia con títulos altos de anticuerpos antinúcleo (ANA) y/o antimúsculo liso (ASMA). La Tipo 2 se encuentra principalmente en niños; es común en Europa occidental y rara en los Estados Unidos; se la asocia con anticuerpos contra el antígeno microsomal de hígado-riñón (anti-LKM<sub>1</sub>), pero raramente presenta ANA o ASMA positivos. Muchos pacientes con HAI Tipo 2 también presentan infección por HCV. El Tipo 3, que se encuentra principalmente en mujeres jóvenes, está asociado en muchos casos con enfermedad autoinmune sistémica. La mayoría de los individuos afectados pier-

den los ANA, ASMA o los anticuerpos microsomales anti-hígado o riñón, pero son positivos para anticuerpos para el antígeno hepático soluble (anti-SLA). Un panel internacional ha definido un criterio diagnóstico estandarizado y un sistema de puntaje (206). Las características clásicas del Tipo 1 incluyen transaminasas elevadas, elevación nula o mínima de la fosfatasa alcalina, hipergammaglobulinemia policlonal (al menos 1,5 veces el límite de referencia superior), sin evidencia de infección viral de factores de riesgo para la infección viral o de exposición a drogas o alcohol; y ANA o ASMA positivos (al menos 1:80) (206). Aproximadamente el 40% de pacientes con infección crónica por HCV tienen ANA o ASMA positivos, generalmente con títulos bajos (244). Se han informado anti-HCV falsos positivos en el 60% de pacientes con HAI cuando se usan *tests* de segunda generación y en el 20% al usar pruebas de tercera generación (245); el anti-HCV desaparece ante un tratamiento exitoso (246). En los casos dudosos puede usarse ARN-HCV (o ensayos inmunoblot recombinantes) para establecer el diagnóstico (245).

**Recomendaciones:** Debe sospecharse hepatitis autoinmune en pacientes con IHC, aumento de inmunoglobulinas y ausencia de marcadores virales o factores de riesgo para hepatitis viral (IIIB).

El diagnóstico de HAI Tipo I se basa clínicamente en la positividad tanto de los anticuerpos antinucleares (ANA) como los antimúsculo liso (ASMA) en títulos altos (IIIB).

**Cirrosis biliar primaria y colangitis esclerosante primaria.** La cirrosis biliar primaria (CBP) y la colangitis esclerosante primaria (CEP) son enfermedades autoinmunes que causan la destrucción de los ductos biliares. Aunque de manera característica causan elevación de ALP y  $\gamma$ -GT, algunos pacientes con CBP y CEP pueden presentar elevadas la ALT y la AST, siendo considerados de tener una hepatitis crónica. La CBP se asocia con la destrucción de los ductos biliares intra-hepáticos; a menudo se relaciona con otros desórdenes autoinmunes como el síndrome de Sjogren (hasta en el 80% de los casos) (247).

En casi todos los pacientes con CBP se encuentra un marcador autoinmune, el anticuerpo antimitocondrial (AMA). Aunque otras enfermedades pueden estar asociadas con AMA positivos, en la CBP el anticuerpo está dirigido contra el complejo de la piruvato deshidrogenada (llamado también tipo M2 de AMA), particularmente hacia la dihidrolipoamida acetiltransferasa (E2) y la proteína que une E3 (248). Cerca del 5-10% de los pacientes tienen características tanto de CBP como de HAI (249). La CBP a menudo se detecta en individuos asintomáticos a través del hallazgo de una elevación de

ALP; AST y ALT están incrementadas en casi la mitad de los casos, aunque los valores sólo superan dos veces el límite de referencia en el 20% de los casos (250). La CET se asocia con daño en los ductos intra y extra hepáticos; el 70% de los casos se asocia con enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa) (251). Los anticuerpos citoplasmáticos perinucleares antineutrófilos se encuentran en casi 2/3 de los casos (252). En la CEP los anticuerpos comúnmente están dirigidos contra la proteína que incrementa la permeabilidad bactericida, la catepsina G y/o la lactoferrina. Parece que las distintas especificidades de los anticuerpos no tienen valor pronóstico, aunque los pacientes con cirrosis tienen anticuerpos a antígenos múltiples y a otros antígenos diferentes a la lactoferrina (253). En casi el 70% de los casos también están presentes anticuerpos antimúsculo liso y antinúcleo (254).

**Recomendaciones:** Debe sospecharse CBP o CEP en pacientes con elevación crónica de fosfatasa alcalina (IIIB). El diagnóstico puede basarse clínicamente en anticuerpos antimitocondriales positivos en CBP o anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos en CEP, con títulos altos (IIIB).

**Deficiencia de alfa-1-antitripsina ( $\alpha_1$ -AT).** La  $\alpha_1$ -AT es el más importante inhibidor de proteasa; aparecen deficiencias congénitas en 1:1.000 ó 1:2.000 personas con ancestros europeos. El gen de la  $\alpha_1$ -AT está localizado en el cromosoma 14 (255); la deficiencia generalmente se debe a la sustitución de un solo aminoácido que altera la unión de los hidratos de carbono y perjudica su liberación desde el hepatocito (256). La deficiencia más importante implica carácter homocigota para la variante Z, llamada Pi ZZ (por inhibidor de proteasa, en inglés). La deficiencia se asocia con enfisema y hepatitis neonatal (257); también se han informado IHC con cirrosis y carcinoma hepatocelular (256). Casi todos los neonatos Pi ZZ evidencian injuria hepática al nacer; esto generalmente se resuelve a los 12 años (257). En adultos, el 50% de los individuos Pi Z positivos (tanto homocigotas como heterocigotas) desarrollan cirrosis, y el 31% un carcinoma hepatocelular (256). Hay un exceso de individuos Pi Z heterocigoto entre los pacientes con indicación de trasplante hepático, particularmente entre aquellos con cirrosis criptogénica donde casi el 25% de los pacientes son Pi Z positivos (258).

Sin embargo, hay evidencias de que la deficiencia de  $\alpha_1$ -AT o el carácter de heterocigota para el fenotipo Pi Z, puede no causar directamente enfermedad hepática aunque sí un aumento de la susceptibilidad al daño hepático por otros agentes, en especial virus. Dos estudios

controlados hallaron igual frecuencia de Pi Z (tanto homo como heterocigota) en controles y en pacientes con enfermedad hepática (259). En un estudio de 164 pacientes con Pi Z, 40% tenían enfermedad hepática crónica, 87% eran también positivos para anticuerpos VHC o para marcadores de VHB y sólo 11% no tenían otros factores de riesgo de enfermedad hepática (260).

Como la  $\alpha_1$ -AT es un reactante de fase aguda, sus niveles cuantitativos pueden ser falsamente normales en infecciones o inflamaciones, o estar falsamente disminuidos en la malnutrición, estados de pérdida proteica o enfermedad hepática terminal. En un estudio los niveles de  $\alpha_1$ -AT fueron normales en el 42% de pacientes heterocigotas Pi Z con enfermedad hepática (261). En el estudio de la deficiencia de  $\alpha_1$ -AT deben realizarse análisis de fenotipo más que dosajes de su concentración en plasma (256).

**Recomendaciones:** El estudio de la deficiencia de  $\alpha_1$ -antitripsina puede ser beneficioso en pacientes con injuria hepática crónica aunque el rol de la deficiencia de  $\alpha_1$ -AT en la enfermedad hepática en adultos no está definido claramente (IIB).

El estudio es especialmente importante en neonatos con evidencia de injuria hepática (IIB).

El estudio de variantes de  $\alpha_1$ -AT debería realizarse mediante determinación del fenotipo (IIB).

No se recomienda el *screening* para deficiencia de  $\alpha_1$ -AT en pacientes con injuria hepática crónica (IIIB, E).

## Otros virus

Otros dos virus han sido sugeridos como relacionados con la patogénesis de la hepatitis crónica: virus de la hepatitis G (HGV) y el virus TT (TTV). Ambos pueden transmitirse por transfusiones y con ambos está presente la viremia crónica. A la fecha, la evidencia sugiere que es común la infección con estos virus pero no hay pruebas claras de que jueguen un rol en la injuria hepática. El HGV pertenece a la familias de los flavivirus como el HCV. El HGV se aisló primeramente de pacientes luego de una transfusión, aunque no había evidencia de injuria hepática (262). El HGV también puede hallarse en hepatitis crónicas (263) pero no parece ser causa de la enfermedad hepática crónica criptogénica (264). Esto puede ser porque el ARN-HGV raramente se halla en el hígado de pacientes con viremia crónica (265). El TTV se identificó primero en pacientes con hepatitis post-transfusional (266). El ADN de TTV se halla en 1-7% de los donantes de sangre en EE.UU. (267) (268). La presencia de ADN-TTV no es más común en personas con hepatitis aguda no A, no E que en otras causas de hepatitis agudas o pacientes control (268) (269).



**Recomendación:** No se recomienda la búsqueda de HGV o TTV, salvo en casos de trabajos de investigación (IIIE).

## Monitoreo

Mientras que la ALT es el *test* de laboratorio más usado para monitoreo de la injuria hepática, a menudo existe una considerable variación de la actividad enzimática en el tiempo (particularmente en la infección crónica por HCV) (217) (270). Es importante repetir la medición de la ALT en la hepatitis a virus C crónica antes de concluir que es normal (225); el 43% de los individuos afectados en forma crónica tienen valores de ALT que fluctúan entre normales y elevados, y el 16% de aquellos con valores normales en sus dos primeros análisis y el 11% con valores normales en los tres primeros análisis, luego aumentan la ALT (211). En pacientes con infección crónica a virus B sin ALT elevada ("portadores crónicos"), cerca del 10% aumentará la ALT durante su seguimiento; la ALT deber ser medida periódicamente aunque haya sido normal al inicio.

Tanto en HBV como en HVC crónicos, el *clearance* de los marcadores virales es el método más confiable para detectar la resolución de la infección. En la hepatitis B no tratada, un pequeño porcentaje de pacientes clarifican espontáneamente los antígenos virales; en estudios a largo plazo se ha visto que se produce la desaparición de HBeAg en 1/3 ó 1/2 de los pacientes (208) (270). Entre los que pierden el HBeAg, el 5-10% perderán el HBsAg en 10 años de seguimiento (224) (271). Si el HBeAg es inicialmente positivo deberá ser reevaluado periódicamente. Si es negativo, pero si el anti-HBe es positivo, esto puede indicar tanto el comienzo del *clearance* viral del cuerpo como la integración del ADN-HBV en el ADN del huésped y la pérdida de la capacidad de formar virus replicantes. Tanto HBsAg como anti-HBs deben medirse periódicamente para buscar el *clearance* viral ya que HBsAg permanecerá positivo en los que se produzca la integración del ADN del HBV. En el tratamiento de la HBV, la probabilidad del *clearance* viral se relaciona con los valores basales de ALT; aquellos con ALT elevada es más probable que respondan, con respecto a los que tiene la ALT normal al inicio (272). Un tratamiento exitoso se asocia con la pérdida del ADN-HBV, HBsAg y HBeAg. Mientras que existe evidencia de que el HBeAg cuantitativo correlaciona bien con ADN-HBV (273), los ensayos cuantitativos para HBeAg no están disponibles en el comercio (al momento que se escribe este documento). El HBeAg puede desaparecer hasta en pacientes que no muestran respuesta a la terapia (274). Además, hay un incremento en la frecuencia de mutantes *pre-core* que no pueden producir HBeAg, particularmente en áreas endémicas de Asia y del Mediterráneo (275). Los pacientes infectados con

esos mutantes tienen anti-HBe pero continúan con ADN-HBV circulante. En la infección con cepas normales, el ADN-HBV permanece detectable más que HBsAg en la recuperación (276). Cuando el ADN viral se integra al genoma del huésped, el HBsAg todavía se produce, aunque HBeAg y ADN-HBV son comúnmente negativos en plasma (277). En el tratamiento con lamivudina, sin embargo, está inhibida la producción de ácido nucleico viral a través de la transcriptasa reversa (277), aunque no hay cambios en los niveles de ADN viral en los hepatocitos (278). Por estas razones, el uso del conjunto ADN-HBV, HBeAg y HBsAg puede ser útil en el monitoreo de pacientes con HBV crónica, ya que ningún *test* solo proporciona evidencia inequívoca de *clearance* viral.

La mayoría de los estudios han mostrado que el ARN-HCV fluctúa en el tiempo pero raramente varía por más de logaritmo de 1 y en la mayoría de los casos varía en menos de logaritmo de 0,5 (279). En individuos no tratados en la repetición de *tests* a lo largo de varios años el ARN-HCV aumenta en promedio de 0,25 log/año (281). En algunas series, sin embargo, se ha visto hasta una diferencia en log de 3 en pacientes con ALT elevada cuando el ARN-HCV se midió mensualmente (282); en cerca de 1/3 de los pacientes infectados crónicamente el ARN-HCV puede fluctuar entre una media de 10<sup>6</sup> copias/mL, e indetectable (283).

Actualmente se recomienda el tratamiento antiviral en pacientes con infección crónica por HCV que tienen ALT elevada y cambios inflamatorios en la biopsia más que moderados. La terapia más efectiva que se dispone actualmente es la combinación de ribavirina e interferón. Los análisis de laboratorio han sido útiles en predecir la respuesta ante varias duraciones de las terapias y en detectar a los que no responden al tratamiento, en los cuales la terapia deberá ser probablemente discontinuada. En aquellos individuos tratados con una terapia combinada, tanto la carga viral como el genotipo identifican pacientes que pueden responder en 24 semanas de terapia y no en 48 (284) (285). En un análisis combinado de estos dos estudios se hallaron cinco factores útiles para predecir la respuesta (Tabla XVI).

Las personas con genotipo 2 ó 3 junto con otros 3 ó 4 factores de riesgo favorables, pueden ser tratadas efectivamente con sólo 24 semanas de terapia; para todos los otros pacientes es mejor una terapia de 48 semanas (286). El mejor indicador del *clearance* viral es la ausencia persistente de ARN-HCV (determinado por ensayos cualitativos de ARN-HCV). La ausencia de ARN-HCV 6 meses luego de completado el tratamiento se asocia con una probabilidad inferior al 10% de viremia HCV recurrente (287). La disminución de la carga viral en ausencia de *clearance* no es una evidencia confiable de un tratamiento exitoso; sin embargo, una imposibilidad del ARN-HCV en declinar a menos de 400.000 copias/mL a través de 12 semanas de terapia se asocia con un 100%

Tabla XVI. Factores de riesgo favorables y desfavorables en el tratamiento de HCV con interferón y ribavirina (286)

<p><i>Factores favorables</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Genotipo 2 ó 3</li> <li>- Carga viral menor que el valor medio (<math>3,5 \times 10^6</math> copias/mL)</li> <li>- Sexo femenino</li> <li>- Edad &lt; 40 años</li> <li>- Sin o sólo con fibrosis portal</li> </ul> <p><i>Factores desfavorables</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Genotipo 1, 4, 5, 6</li> <li>- Carga viral &gt; valor medio</li> <li>- Sexo masculino</li> <li>- Edad <math>\geq</math> 40 años</li> <li>- Fibrosis septal o más severa</li> </ul>
--

de probabilidad de ARN-HCV persistente al final del tratamiento (286). Una aproximación para monitorear el tratamiento en pacientes con HCV por terapias combinadas se esquematiza en la Figura 9.

Algunos pacientes no pueden tomar ribavirina; la única opción para ellos es la terapia con interferón. Con este tratamiento, el hecho de que el ARN-HCV no se haga indetectable y que la ALT no retorne a la normalidad a las 12 semanas de iniciada la terapia se asocian con una probabilidad mayor del 95% de falla del tratamiento, y se consideran motivo para discontinuar la terapia (288).

No se ha determinado la frecuencia óptima de los *tests* de laboratorio en pacientes con hepatitis C crónica. La European Association for the Study of the Liver Consensus Conference on Hepatitis C recomienda realizar el recuento sanguíneo y las enzimas hepáticas cada 6 meses en pacientes no tratados (289). Las complicaciones más importantes del tratamiento con interferón son depresión, trombocitopenia e hipotiroidismo, en tanto que la anemia hemolítica es la peor complicación del tratamiento con ribavirina. La European Association for the Study of the Liver recomienda el recuento completo de sangre semanalmente durante las primeras cuatro semanas de tratamiento y luego otras determinaciones regulares. También recomiendan medir la TSH cada 6 meses durante la terapia.

**Recomendaciones:** En la hepatitis viral, los marcadores virales son los indicadores más confiables de resolución de la hepatitis (IIB).

La cuantificación y el genotipo de ARN-HCV son determinantes importantes de duración de una terapia combinada. Para reducir los gastos, de ser posible debería obtenerse una muestra antes del tratamiento, que se pudiese conservar a  $-70$  °C, dependiendo su realización de los resultados de dicho tratamiento. De no ser posible, el análisis debería realizarse antes de comenzar dicho tratamiento (IIB, E).

En pacientes con HCV tratados con interferón y ribavirina, el ARN-HCV debería ser medido cuantitativamente luego de 24 semanas de tratamiento para determinar potenciales respondedores. Si no se hicieron ni el genotipo ni el ARN-HCV cuantitativo pero se frizaron las muestras previas al tratamiento para su posterior análisis, las que tengan el ARN-HCV negativo y factores de riesgo favorables deberían tener esos *tests* realizados (IB, E).

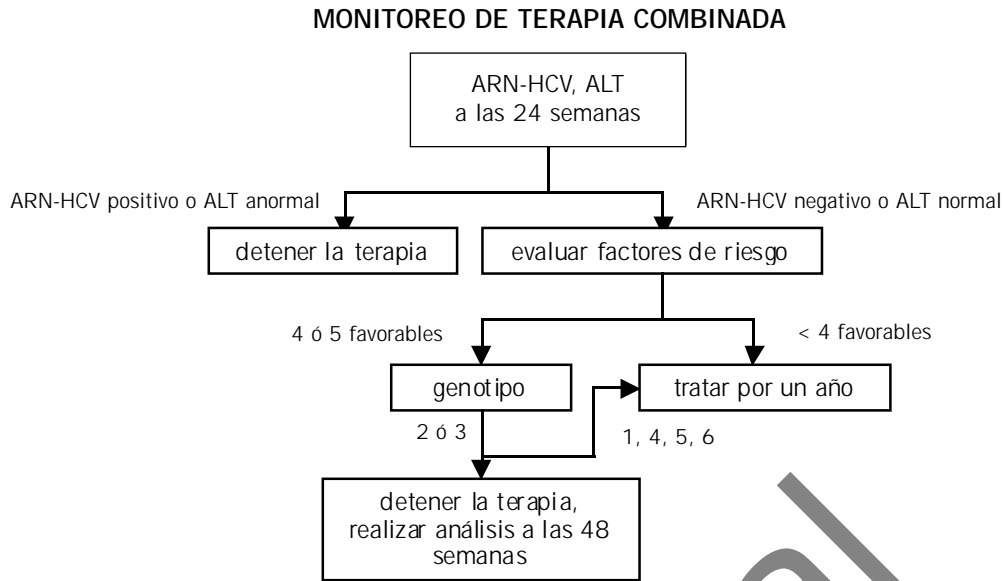
En pacientes con HCV tratados con monoterapia con interferón el ARN-HCV y la ALT deberían medirse luego de 12 semanas de tratamiento para determinar los individuos no respondedores (IIB).

Luego del tratamiento en aquellas personas con ARN-HCV negativo a las 24 semanas deberían realizarse análisis cuantitativos 6 meses luego de finalizado el tratamiento para documentar la remisión virológica. Con terapia antiviral, debe usarse el ADN-HBV para documentar el *clearance* viral (IIB).

En pacientes con HBV no tratados debería monitorearse periódicamente el HBeAg; si es negativo pero el anti-HBe es positivo, debería medirse periódicamente el HBsAg para determinar el *clearance* viral (IIB).

En los pacientes tratados debe controlarse semanalmente durante las primeras cuatro semanas el recuento de elementos de la sangre con recuento de plaquetas, para seguir luego con controles mensuales. La TSH debe ser medida cada 3 ó 6 meses, o más frecuentemente si aparecen síntomas de disfunción tiroidea. La medición de ALT debe realizarse por lo menos mensualmente (IIB).

La ALT es el mejor marcador disponible de la actividad inflamatoria, pero su utilidad es limitada para predecir el grado de inflamación y no se usa para estimar la severidad de la fibrosis (IIB).



**Figura 9.** Aproximación para el tratamiento de la hepatitis C. Como datos basales debe realizarse un ARN-HCV (usando un ensayo cuantitativo lineal hasta por lo menos  $4 \times 10^6$  copias/mL) y un genotipo; si no existe la posibilidad de almacenamiento a 70 °C durante 6 meses, los tests deben realizarse previos a la terapia. Luego de 6 meses de tratamiento debe hacerse una ALT y una medición de ARN-HCV (límite de detección inferior < 1.000 copias/mL). Si la ALT permanece elevada y/o el ARN-HCV es indetectable el tratamiento se detiene. En pacientes que responden, los factores de riesgo (Tabla XVI) se usan para determinar si son necesarios otros 6 meses de tratamiento. En pacientes con fenotipo 2 ó 3 y que tienen por lo menos 3 factores de riesgo favorables, el tratamiento puede detenerse.

## SECCION V

### Cirrosis

El significado más importante de una hepatitis crónica es su posible progresión o cirrosis, una etapa final del proceso de cicatrización y regeneración del hígado en respuesta a un daño crónico. La cicatrización causa aumento en la resistencia al flujo sanguíneo a través de la vena porta (que lleva la sangre desde el intestino hacia el hígado) conduciendo a la aparición de ascitis, várices esofágicas y aumento del riesgo de infecciones. Eventualmente la cirrosis puede causar falla hepática y es la causa más importante de trasplante hepático. Actualmente el *gold standard* para la evaluación de pacientes con hepatitis crónica es la biopsia hepática, que permite determinar la severidad del daño.

La hepatitis crónica tiene dos componentes principales: daño inflamatorio y fibrosis. Mientras que la extensión de la inflamación refleja el grado del daño en ese momento, la extensión de la fibrosis se relaciona

más estrechamente con la probabilidad de desarrollar cirrosis. Las actividades plasmáticas de las aminotransferasas no están relacionadas con el grado de fibrosis y hay como mucho una débil correlación entre la actividad plasmática de ALT (290) (291) o (en la HCV crónica), los niveles de ARN-HCV (291) y la actividad histológica. La ALT explica sólo 30-50% de variación en la actividad histológica y hay una considerable superposición de los valores en pacientes con actividad leve, moderada o severa (290) (291). La actividad inflamatoria tiene una débil correlación con la tasa de progresión a fibrosis (292).

La fibrosis hepática se asocia con la deposición de un cierto número de proteínas en el hígado. Entre las proteínas producidas como parte de la fibrosis están colágeno, laminina, elastina y fibronectina, así como enzimas producidas en la síntesis del colágeno como la lisil y la prolil hidroxilasas. En el proceso de fibrosis también se producen varios proteoglicanos, como el hialuronato. La fibrosis es removida por una variedad de enzimas relacionadas, llamada metaloproteinasas de la matriz; estas enzimas y sus inhibidores también se producen en la hepatitis crónica. Muchos estudios de

niveles plasmáticos de proteoglicanos, proteínas de fibrosis y sus precursores (293) (294) han demostrado como mucho una débil correlación entre los niveles de los marcadores y la extensión de la fibrosis. Los niveles reflejan el grado de fibrogénesis al momento de la toma de muestra y hay una considerable superposición de valores en varios grados de fibrosis.

En el proceso de progresión de hepatitis crónica a cirrosis, ocurren cambios en los resultados de las pruebas básicas del laboratorio. Varios estudios han mostrado que la relación AST/ALT típicamente es  $< 1$  en pacientes con hepatitis crónica (excepto cuando la causa es el alcohol), pero con la progresión a cirrosis la relación a menudo se incrementa a  $> 1$ : la especificidad de una relación mayor a 1 es 75-100%, con una sensibilidad de 32-83% (100) (220). En un estudio (220) la relación aumentó también con el "score" para fibrosis. Esto parece deberse a una disminución de la producción de ALT en el hígado dañado (295). Otras pruebas de rutina que predicen la probabilidad de cirrosis son la trombocitopenia y el tiempo de protrombina prolongado; un índice que usa estas dos variables con la relación AST/ALT tiene una sensibilidad del 46% y una especificidad del 98% para cirrosis (100). La albúmina

se mide comúnmente en pacientes en donde se sospecha un progreso a cirrosis. Aunque no es tan sensible como otros marcadores se usa como marcador de severidad como parte de la clasificación de cirrosis de *Child-Pugh*. La  $\alpha$ -feto-proteína (AFP) es más probable que se encuentre elevada a medida que aumenta el grado de fibrosis hepática (296), especialmente en la cirrosis; una AFP mayor que 17,8 ng/mL tiene una sensibilidad de 35%, especificidad de 98,6% y valor predictivo positivo de 97,7% para la cirrosis (297).

**Recomendaciones:** La biopsia es el único marcador definitivo de progresión de una hepatitis crónica a cirrosis (IIB).

No deben usarse marcadores de fibrosis en el laboratorio, salvo en investigación (IIB, E).

Los marcadores de la función hepática que pueden indicar progresión a cirrosis (relación AST/ALT, albúmina, tiempo de protrombina, recuento de plaquetas) deben medirse cada 3-6 meses en pacientes con hepatitis crónica (IIB).

## SECCIÓN VI

### Carcinoma hepatocelular

En cáncer primario de hígado (carcinoma hepatocelular, CHC) es una complicación tardía y seria de la injuria hepática crónica, particularmente en la cirrosis debida a HBV, HCV y hemocromatosis. Con poca frecuencia se observa el CHC en pacientes con HCV crónica y en portadores asintomáticos de HBV sin cirrosis. Es el quinto tumor maligno más común, en particular en África y en el este de Asia (298). La incidencia de CHC ha aumentado 70% en los EE.UU. en los últimos 20 años, en especial entre pacientes jóvenes (299) y está en aumento en otras partes del mundo (298). El riesgo de desarrollar CHC en la cirrosis por infección con HBV o HCV es de 1,5% por año (300) (301). En un estudio de 448 casos de CHC, el 75% correspondió a pacientes con cirrosis; sin embargo, sólo en el 30% de la cirrosis fue reconocida clínicamente antes de ser diagnosticado el carcinoma hepatocelular (302). Estos datos sugieren que los programas de *screening* deberían incluir pacientes con injuria hepática crónica así como otros con diagnóstico de cirrosis. En un estudio, sin embargo, el CHC desarrolló sólo en 325 pacientes con hepatitis crónica severa o cirrosis y en ninguno de los 800 pacientes con hepatitis crónica leve o modera-

da (303). Como los pacientes con ALT normal tienen generalmente una leve inflamación observable en la biopsia (185) (217) (218), es razonable excluir del *screening* a personas sin cirrosis, con ALT normal o con menos que una hepatitis severa en la biopsia. Otros factores de riesgo son el sexo masculino y la edad  $> 55$  años.

El pronóstico de los pacientes con CHC detectado mediante sus síntomas es desalentador, con pocas esperanzas de supervivencia más allá de los 6 meses. La detección de pequeños tumores ofrece el potencial de una resección curativa y fundamenta el *screening*.

Actualmente se sugiere medir la AFP y realizar ultrasonido del hígado cada 6 meses (304). Desgraciadamente la interpretación de la AFP es complicada debido a sus elevaciones intermitentes en 12-13% de pacientes con HBV o HCV crónicas (305), asociadas a menudo con aumentos transitorios de ALT (306). Un taller denominado Consensus Development recomendó el *screening* de portadores crónicos de HBsAg por lo menos una vez, aunque preferiblemente 2 veces al año, con AFP solo, mientras que a pacientes con otros factores de riesgo (cirrosis, historia familiar, debería realizarse tanto AFP como ultrasonido (307). En la injuria hepática crónica los pacientes con hemocromatosis o cirrosis tienen alto riesgo de CHC, debido al HBV o al HCV o al abuso de alcohol. Otras causas de IHC o de cirrosis tienen menor riesgo de CHC (308).

En los países occidentales el valor predictivo de la AFP es bajo, a menudo en el rango de 10–30%, con una sensibilidad entre 40–80% (309) (310). En 147 pacientes con cirrosis, ninguno de los 30 con CHC tuvo AFP > 105 ng/mL al momento del diagnóstico y el 60% tuvo AFP < 20 ng/mL; sin embargo, la frecuencia de CHC en pacientes con AFP < 50 ng/mL fue del 17% si se compara con el 42% en aquellos con AFP mayor (310). En otro estudio de 260 pacientes con cirrosis se desarrolló un CHC en el 26% de pacientes con AFP inicial < 20 ng/mL, pero en el 46% de los que tenían niveles más altos. Además, aquellos con un aumento transitorio por encima de 100 ng/mL tuvieron un riesgo significativamente mayor de CHC que los que tenían la AFP < 20 ng/mL (311). Un estudio acerca de *screening* para CHC en pacientes occidentales con cirrosis compensada concluyó que para pacientes con una probabilidad de supervivencia del 85%, a 5 años, el *screening* debería agregar 3–9 meses a la expectativa de vida promedio a un costo de US\$ 26.000 – US\$ 55.000 por año de vida ganado, números que se comparan favorablemente a aquellos del *screening* para cáncer de colon y de mama (312). En pacientes con menos posibilidad de sobrevivencia, el *screening* proporciona una ganancia mínima o nula y parece no estar indicado. Un análisis sistemático de todos los estudios publicados concluye que los datos no son adecuados para determinar el beneficio del *screening* para CHC en pacientes con enfermedad hepática crónica (313). Si se usa el *screening*, una frecuencia en los análisis de 6 meses parecería óptima en base a los tiempos de duplicación de HCC, en promedio de 3-5 meses (314).

Se ha sugerido a la des- $\gamma$ -carboxi protrombina como *test* de *screening*. Ocasionalmente sus niveles están elevados en la enfermedad hepática crónica, pero hay menos superposición con los valores vistos en CHC que con AFP (315) (316). Algunos niveles altos pueden encontrarse en el carcinoma metastásico del hígado, pero en general son incrementos mínimos. Aunque la des- $\gamma$ -carboxi protrombina parece menos sensible que la AFP (50–70%), es más específica. Hay poca correlación entre la misma y la AFP; algunos tumores sólo son detectados por la des- $\gamma$ -carboxi protrombina (315) (316). La deficiencia en vitamina K puede causar un aumento significativo; la repetición del *test* luego de administrar vitamina K mejora la especificidad (315) (316). Recientemente, un inmunoensayo más sensible ha sido promisorio en la detección de pequeños CHC, con una positividad del 27% de los casos en relación con un 3% con otros ensayos anteriores (317). Las pruebas para des- $\gamma$ -carboxi protrombina no están muy disponibles, al revés que los ensayos para AFP. Otras pruebas de laboratorio que incluyen variantes de AFP (318) y cromatografía de afinidad de lectinas para fosfatasa alcalina (319) han sido evaluadas en pocos pacientes como para hacer recomendaciones definitivas.

Un estudio reciente identificó altos niveles de formas anormales de  $\gamma$ GT en 78 de 91 pacientes con CHC, pero sólo en 2,5% de 116 pacientes con otras formas de la enfermedad (320).

#### Recomendaciones:

El *screening* para carcinoma hepatocelular es cuestionable en cuanto a sus beneficios en poblaciones occidentales (IIB, E)

El *screening* debería limitarse sólo a pacientes de alto riesgo (con hepatitis crónica o cirrosis por alcohol, HBV, HCV o hemocromatosis) que son candidatos para el tratamiento del CHC, si es detectado (IIIB, E)

Si se hace un *screening* se recomienda la medición de  $\alpha$ -fetoproteína y ultrasonido a intervalos no menores que 6 meses (IIB).

Hay pocos datos que avalen el uso de otros *tests* (IIIB).

#### Referencias bibliográficas

216. Van Ness MM, Diehl AM. Is liver biopsy useful in the evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? *Ann Intern Med* 1989; 111: 473-8.
217. Mathurin P, Moussali J, Cadranel J-F, Thibault V, Charlotte F, Dumouchel P, *et al.* Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C patients with persistently normal alanine aminotransferase activity. *Hepatology* 1998; 27: 568-72.
218. Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for the prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR* 1998; 47 (No. RR-19), 1-39.
219. Quinn PG, Johnston DE. Detection of chronic liver disease: costs and benefits. *Gastroenterologist* 1997; 5: 58-77.
220. Sheth SG, Gamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 44-8.
221. Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21: 109-13.
222. Friedman LS, Dienstag JL, Watkins E, Hinkle CA, Spiers JA, Rieder SV, *et al.* Evaluation of blood donors with elevated serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med* 1987; 107: 137-44.
223. Kundrotas LW, Clement DJ. Serum alanine aminotransferase (ALT) elevation in asymptomatic US Air Force basic trainee blood donors. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2145-50.
224. de Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Tatarella M,

- Colombo M, Del Ninno E, *et al.*: The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118: 191-4.
225. McMahon BJ, Christensen C, Gretch D. Alanine aminotransferase (ALT) levels over time in anti-HCV-positive persons who are HCV RNA positive compared with persons who are HCV RNA negative but RIBA positive. *Hepatology* 1999; 30: 358A.
226. Cauza E, Maier-Dobersberger T, Polli C, Kaserer K, Kramer L, Ferenci P. Screening for Wilson's disease in patients with liver diseases by serum ceruloplasmin. *J Hepatol* 1997; 27: 358-62.
227. Mathiesen UL, Franzen LE, Fryden A, Foberg U, Bodemar G. The clinical significance of slightly to moderately increased liver transaminase values in asymptomatic patients. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 85-91.
228. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45.
229. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CJ, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
230. Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology* 1990; 99: 1408-13.
231. McLaren CE, Gordeuk VR, Looker AC, Hasselblad V, Edwards CO, Griffen LM, *et al.* Prevalence of heterozygotes for hemochromatosis in the white population of the United States. *Blood* 1995; 86: 2021-7.
232. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basasva A, *et al.* A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399-408.
233. Milman N, Albeck MJ. Distinction between homozygous and heterozygous subjects with hereditary haemochromatosis using iron status markers and receiver operating characteristic (ROC) analysis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 95-8.
234. Witte DL. Mild liver enzyme abnormalities: eliminating hemochromatosis as cause. *Clin Chem* 1997; 53: 1535-8.
235. Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 718-24.
236. Adams PC, Kertesz AE, McLaren CE, Barr R, Bamford A, Chakrabarti S. Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron binding capacity, transferrin saturation, and C282Y genotyping in 5,211 blood donors. *Hepatology* 2000; 31: 1160-4.
237. Bacon BR, Powell LW, Adams PC, Kresina TF, Hoofnagle JH. Molecular medicine and hemochromatosis: at the crossroads. *Gastroenterology* 1999; 116: 193-207.
238. Witte DL, Crosby WH, Edwards CQ, Fairbanks VG, Mitros FA. Practice guideline development task force of the College of American Pathologists. Hereditary hemochromatosis. *Clin Chim Acta* 1996; 245: 139-200.
239. Adams PC, Gregor JC, Kertesz AE, Valberg LS. Screening blood donors for hereditary hemochromatosis: decision analysis model based on a 30-year database. *Gastroenterology* 1995; 109: 177-88.
240. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATP-ase similar to the Menkes gene. *Nature Genet* 1993; 5: 327-37.
241. Gibbs K, Walshe JM. A study of the caeruloplasmic concentrations found in 75 patients with Wilson's disease, their kindreds, and various control groups. *Q J Med* 1979; 48: 447-63.
242. Dufour J-F, Kaplan MM. Muddying the water: Wilson's disease challenges will not soon disappear. *Gastroenterology* 1997; 113: 348-50.
243. Czaja AJ, Carpenter HA, Manns MP. Antibodies to soluble liver antigen, P450I15, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1993; 105: 1522-8.
244. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis: evolving concepts and treatment strategies. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 435-56.
245. Czaja AJ, Magrin S, Fabiano C, Fabiano G, DiQuattro O, Craxi A, *et al.* Hepatitis C virus infection as a determinant of behavior in type I autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 33-40.
246. Czaja AJ, Taswell HF, Rakela J, Rabe D. Duration and specificity of antibodies to hepatitis C virus in chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 102: 1675-9.
247. Neuberger J. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1997; 350: 875-9.
248. Yeaman SJ, Fussey SPM, Danner DJ, James OFW, Mutimer DJ, Bassendine MF. Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens. *Lancet* 1988; I: 1067-70.
249. Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, Montembault S, Rosmordue O, Poupon R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology* 1998; 28: 296-301.
250. Lohse AW, Meyer zum Buschenfelde K-H, Franz B, Kanzler S, Gerken G, Dienes H-P. Characterization of the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis (PBC) and autoimmune hepatitis: evidence for it being a hepatitis form of PBC in genetically susceptible individuals. *Hepatology* 1999; 29: 1078-84.
251. Ponsioen CI, Tytgat GN. Primary sclerosing cholangitis: a clinical review. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 515-23.
252. Mudder AHL, Horst G, Haagsma EB, Haimburg PC, Kleibeuker JH, Kallenberg CG, *et al.* Prevalence and characterization of neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver diseases. *Hepatology* 1993; 17: 411-7.
253. Chapman RW, Cottone M, Selby WS, Sheperd HA, Sherlock S, Jewell DP, *et al.* Serum autoantibodies,

- ulcerative colitis, and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1986; 27: 86-91.
254. Roozendaal C, Van Milligen de Wit M, Haagsma EB, Hort G, Schwarzec C, Peter HH, *et al.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary sclerosing cholangitis: defined specificities may be associated with distinct clinical features. *Am J Med* 1998; 105: 393-9.
  255. Carell RW, Jeppson JQ, Laurell CB. Structure and variation of human alpha-1-antitrypsin. *Nature* 1982; 298: 239-334.
  256. Propst T, Propst A, Dietze O, Judmaier G, Braunsteiner H, Vogel W. Alpha-1-antitrypsin deficiency and liver disease. *Dig Dis* 1994; 12: 139-49.
  257. Sveger T. The natural history of liver disease in alpha-1-antitrypsin deficient children. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77: 847-51.
  258. Graziadel IW, Joseph JJ, Wiesner RH, Therneau TM, Batts KP, Porayko MK. Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency. *Hepatology* 1998; 28: 1058-63.
  259. Fisher RL, Taylor L, Sherlock S.  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency in liver disease: the extent of the problem. *Gastroenterology* 1976; 71: 646-51.
  260. Propst T, Propst A, Dietze O, Judmaier G, Braunsteiner H, Vogel W. High prevalence of viral infection in adults with homozygous and heterozygous alpha1-antitrypsin deficiency and chronic liver disease. *Ann Intern Med* 1992; 117: 641-5.
  261. Hodges JR, Millward-Sadler GH, Baarbatis C, Wright R. Heterozygous MZ alpha1-antitrypsin deficiency in adults with chronic active hepatitis and cryptogenic cirrhosis. *N Engl J Med* 1981; 304: 557-60.
  262. Linnen J, Wages J, Zhang-Keck Z, Fryk KE, Krawczynsky KZ, Aher H. Molecular clone in disease association of hepatitis G virus. A transfusion transmissible agent. *Science* 1996; 271: 505-8.
  263. Brandhagen DJ, Gross JB, Poterucha JJ, Charlton MR, Detmer J, Kolberg I, *et al.* The clinical significance of simultaneous infection with hepatitis G virus in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1000-5.
  264. Hollingsworth RC, Minton EJ, Fraser-Moodie C, Metvier E, Rizzi PM, Irving WL, *et al.* Hepatitis G infection: role in cryptogenic liver disease and primary liver cancer in the UK. Trent hepatitis C virus study group. *J Viral Hepat* 1998; 4: 165-9.
  265. Laskus T, Radkowski M, Wang LF, Vargas H, Rakela J. Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J Virol* 1997; 71: 7804-6.
  266. Nishizawa AT, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in post-transfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 92-7.
  267. Charlton M, Adjei P, Poterucha J, Zein N, Moore B, Therneau T, *et al.* TT-virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 1998; 28: 839-42.
  268. Matsumoto A, Yeo AET, Shih JWK, Tanaka E, Kiyosawa K, Alter HJ. Transfusion-associated TT virus infection and its relationship to liver disease. *Hepatology* 1999; 30: 283-8.
  269. Kanda T, Yokosuka O, Ikeuchi T, Seta T, Kawai S, Imaseki F, *et al.* The role of TT virus infection in acute hepatitis. *Hepatology* 1999; 29: 1905-8.
  270. Alter HJ, Conry-Cantilena C, Melpolder J, Tan D, Van Raden M, Herion D, *et al.* Hepatitis C in asymptomatic blood donors. *Hepatology* 1997; 26 (Suppl 1): 29S-33S.
  270. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Seeff LB, Jones EA, Waggoner JG, Bales ZB. Seroconversion from hepatitis Be antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981; 94: 744-8.
  271. Brown SD, Barbara AJ, Lambert T, Wilson DV. Spontaneous loss of HBeAg and development of anti-HBe during long-term follow-up of blood donors found to be HBsAg positive. *Br J Biomed Sci* 1995; 52: 106-9.
  272. Lok AS, Ghany MG, Watson G, Ayola B. Predictive value of aminotransferase and hepatitis B virus DNA levels on response to interferon therapy for chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 1998; 5: 171-8.
  273. Bernard F, Raymond G, Willems B, Villeneuve JP. Quantitative assessment of serum hepatitis B e antigen, IgM hepatitis B core antibody and HBV DNA in monitoring the response to treatment in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 1997; 4: 265-72.
  274. Dienstag JL, Perillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995; 333: 1704-5.
  275. Shobokshi OA, Serebour FE, Skakni L. Hepatitis B surface gene mutants and their emerging role in the efficacy of HBV vaccination programs. *Ann Saudi Med* 1999; 19: 87-92.
  276. Lorient MA, Marcellin P, Walker F, Boyer N, Degott C, Randrianatoavina I, *et al.* Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatol* 1997; 27: 251-8.
  277. Omata M. Treatment of chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1998; 339: 114-5.
  278. Lai C-L, Chien R-N, Leung NWY, Chang T-T, Guan R, Tai D-I, *et al.* A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1998; 339: 61-8.
  279. Nguyen TT, Sedghi-Vaziri A, Wilkes LB, Mondala T, Pockros PJ, Lindsay KL, *et al.* Fluctuations in viral load (HCV RNA) are relatively insignificant in untreated patients with chronic HCV infection. *J Viral Hepat* 1996; 3: 75-8.
  281. Fanning L. Natural fluctuations of hepatitis C viral load in a homogeneous patient population: a prospective study. *Hepatology* 2000; 31: 225-9.
  282. Pontisso P, Bellati G, Brunetto M, Chemello L, Colloredo

- G, Di Stefano R, *et al.* Hepatitis C virus profiles in chronically infected individuals: do they relate to disease activity? *Hepatology* 1999; 29: 585-9.
283. Beld M, Penning M, McMorro M, Gorgels J, van den Hoek A, Goudsmit J. Different hepatitis C virus (HCV) RNA load profiles following seroconversion among injecting drug users without correlation with HCV genotype and serum alanine aminotransferase levels. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 872-7.
284. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, *et al.* Interferon alfa-2b or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 39: 1485-92.
285. Poynard T, Marcellin S, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, *et al.* Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998; 52: 1426-32.
286. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling M-H, Albrecht J for the ALGOVIRC Project Group: Is an "A la Carte" combination interferon alfa-2 $\beta$  plus ribavirin regimen possible for first line treatment in patients with chronic hepatitis C? *Hepatology* 2000; 31: 211-8.
287. Camma C, Giunta M, Pinzello G, Morabito A, Verderio P, Pagliaro L. Chronic hepatitis C and interferon alpha: conventional and cumulative meta-analyses of randomized clinical trials. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:581-95.
288. Management of Hepatitis C. NIH Consensus Statement 1997 Mar 24-26: 15(3):1-41.
289. Consensus Statement: EASL international consensus conference on hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 30: 956-61.
290. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A: Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1250-7.
291. McCormick SE, Goodman ZD, Maydonovitch CL, Sjogren MH: Evaluation of liver histology, ALT elevation, and HCV RNA titer in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:1516-22.
292. Poynard T, Bedossa P, Opolon P: Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997; 49: 825-32.
293. Oberti F, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Aube C, *et al.* Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1609-16.
294. Trinchet J-C. Clinical use of serum markers of fibrosis in chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22 (Suppl 2): 89-95.
295. Schmidt E, Schmidt FW. Progress in the enzyme diagnosis of liver disease: reality or illusion. *Clin Biochem* 1990; 23: 375-83.
296. Goldstein NS, Blue DE, Hankin R, Hunter S, Bayati N, Silverman AL, *et al.* Serum  $\alpha$ -fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C – relationship with serum alanine aminotransferase values, histologic activity index, and hepatocyte MIB-1 scores. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 811-6.
297. Bayati N, Silverman AL, Gordon SC. Serum alpha-fetoprotein levels and liver histology in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2452-6.
298. Bosch FX, Ribes J, Borrás J: The epidemiology of primary liver cancer. *Semin Liv Dis* 1999; 19: 271-85.
299. El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 1999; 340: 745-50.
300. Fattovich F, Giustina G, Schalm SW, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, *et al.* Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. *Hepatology* 1995; 21: 77-82.
301. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, *et al.* Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112: 463-72.
302. Zaman SN, Johnson PJ, Williams R. Silent cirrhosis in patients with hepatocellular carcinoma. Implications for screening in high-incidence and low-incidence areas. *Cancer* 1990; 65: 1607-10.
303. Izzo F, Cremona F, Ruffolo F, Palaia R, Parisi V, Curley SA. Outcome of 67 patients with hepatocellular carcinoma detected during screening or 1125 patients with chronic hepatitis. *Ann Surg* 1998; 227: 513-8.
304. Chalasani N, Said A, Ness R, Hoen H, Lumeng L. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis in the United States: Results of a national survey. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2224-9.
305. Tong MJ, Blatt LM, Kao VW. Screening and surveillance of chronic viral hepatitis patients for hepatocellular carcinoma: a seven year study using serum alpha-fetoprotein and abdominal ultrasound. *Hepatology* 1999; 30: 209A.
306. Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Elevations in serum alpha-fetoprotein in patients with chronic hepatitis B. *Cancer* 1989; 64: 2117-0.
307. McMahon BJ, London T. Workshop on screening for hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 916-9.
308. Riegler JL. Preneoplastic conditions of the liver. *Sem Gastrointest Dis* 1996; 7: 74-87.
309. Pateron D, Ganne N, Trinchet JC. Prospective study of screening for hepatocellular carcinoma in Caucasian patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1995; 22: 708-9.
310. Cottone M, Turri M, Caltagirone M, Parisi P, Orlando A, Fiorentino G, *et al.* Screening for hepatocellular carcinoma in patients with Child's A cirrhosis: an 8 year prospective study by ultrasound and alpha-fetoprotein. *J Hepatol* 1994; 21: 1029-34.



311. Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kobayashi K, Yamamoto S. Prospective study of alpha-fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994;19: 61-6.
312. Sarasin FP, Giostra E, Hadengue A. Cost-effectiveness of screening for detection of small hepatocellular carcinoma in western patients with Child-Pugh class A cirrhosis. *Am J Med* 1996;101:422-34.
313. Collier J, Sherman M: Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 273-8.
314. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, *et al.* Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *Gastroenterology* 1983; 89: 259-66.
315. Fujiyama S, Morishita T, Hashiguchi O, Sato T. Plasma abnormal prothrombin (des- $\gamma$ -carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 1621-8.
316. Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, *et al.* Des- $\gamma$ -carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1984; 310: 1427-31.
317. Nomura F, Ishijima M, Kuwa K, Tanaka N, Nakai T, Ohnishi K: Serum des-gamma-carboxy prothrombin levels determined by a new generation of sensitive immunoassays in patients with small-sized hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:650-654.
318. Shiraki K, Takase K, Tameda Y, Hamada M, Kosaka Y, Nakano T, *et al.* A clinical study of lectin-reactive alpha fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow-up of cirrhotic patients. *Hepatology* 1995; 22: 802-7.
319. Lu Y, Lu Q, Chen HL. Diagnosis of primary liver cancer using lectin affinity chromatography of serum alkaline phosphatase. *J Exp Clin Cancer Res* 1997; 16: 75-80.
320. Yao D-F, Huang Z-W, Chen S-Z, Huang JF, Lu JX, Xiao MB, *et al.* Diagnosis of hepatocellular carcinoma by quantitative detection of hepatoma-specific bands of serum  $\Gamma$ -glutamyltransferase. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 743-9.

Historical