REVISION BIBLIOGRAFICA

Propuesta de algoritmo para el diagnóstico diferencial de la hepatitis viral aguda: descripción de elementos claves diagnósticos

Olga Castillo de Febres[1], Maria de los R. Chacón de Petrola[2]

[1]Unidad de Investigación en Infectologia Pediátrica,

[2]Unidad de Investigaciones en Inmunología Clínica. Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Corresponencia: M.R. Chacon de Petrola
E-mail: mreyes72ch@gmal.com

Recibido: Marzo 2007 **Aprobado:** Diciembre 2008

RESUMEN

La presentación clínica de las hepatitis virales muestra características similares independientemente del agente causal, por lo que es fundamental establecer un diagnóstico etiológico específico, del que dependerá en gran medida el pronóstico del caso en particular. Unido a esto, existen gran número de pruebas diagnósticas, de compleja interpretación e interrelación secuencial. Debido a esto, los autores, después de una exhaustiva revisión bibliográfica, proponen un algoritmo para facilitar el diagnóstico etiológico de esta patología. En el mismo se enfatiza: 1.- Existencia de virus hepatotrópicos (VHA, VHB, VHC, VHE) y no hepatotrópicos (VEB y CMV) como agentes etiológicos. 2.- Se señala la secuencia a seguir dependiendo de los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas sugeridas previamente. 3.- Se proponen como pruebas diagnósticas iniciales en todo paciente con sospecha clínica de hepatitis viral aguda: IgM anti VHA, AgHBs, IgM anti HBc. 4.- La negatividad de estas pruebas iniciales obliga al descarte de HVC.. Adicionalmente se hace una revisión actualizada de la literatura en relación a las pruebas diagnósticas existentes y su interpretación.

Palabras clave Hepatitis Viral Aguda, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, Hepatitis D; Hepatitis E, Hepatitis G, Diagnostico, algoritmo.

ABSTRACT

Proposing a flow diagram for the differential diagnosis of the acute viral hepatitis: description of key diagnostic elements

Clinical presentation of MN viral hepatitis shows similar characteristics regardless of the causal agent, for what it is fundamental to establish a specific diagnosis, on which the prognostic of the

case will depend. Moreover, there exist great number of diagnostic tests, of complex interpretation and sequential interrelationship. Consequently, after a thorough literature review, the authors propose a flow diagram to facilitate the diagnostic of a specific agent of this pathology which emphasizes: 1. - Existence of some virus with hepatic tropism (HAV, HBV, HCV, and HEV) and some with no hepatic tropism (EBV and CMV) as specifics agents. 2.-The sequence is indicated depending on the results obtained in the diagnostic tests previously suggested. 3.- The initial tests proposed for every patient with any clinical suspicion of acute viral hepatitis: IgM anti HAV, HBsAg, IgM anti HBc. 4.- Negative results in the initial tests will rule out VHC. Additionally, an update review of the literature on existing diagnostic test and its interpretation is presented.

Key words Viral Acute Hepatitis, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, Hepatitis D; Hepatitis E, Hepatitis G, Diagnosis, Flow diagram

INTRODUCCION

La hepatitis infecciosa es una enfermedad inflamatoria del hígado, causada por:
:

1. Virus hepatotrópicos, que provocan exclusivamente enfermedad hepática, donde se incluyen los virus A, B, C, D, E, F y G de la hepatitis.

2. Virus no hepatotrópicos, producen inflamación del hígado como parte de una enfermedad sistémica, como el Citomegalovirus, virus Epstein Barr, Varicela zoster, algunos Adenovirus y Arbovirus y el virus Herpes simplex

El espectro clínico que caracteriza esta infección es muy amplio, pudiendo cursar en forma asintomática o síntomática, y en este caso puede variar desde un padecimiento leve, autolimitado hasta una enfermedad fulminante. Puede tener un curso agudo o evolucionar a la cronicidad (1, 2).

Clínicamente es imposible el diagnóstico etiológico preciso de las hepatitis virales debido a la carencia de signos o síntomas patognomónicos de cada agente causal. Aunado a esto, la dificultad para la interpretación de las pruebas diagnósticas, debido no solo a la multiplicidad de las mismas, sino también al orden secuencial en que deben realizarse, han motivado la realización de una exhaustiva y actualizada revisión bibliográfica, que concluye en la descripción de los elementos claves para el diagnóstico diferencial de las hepatitis agudas causadas por virus hepatotropicos, ilustrados con gráficos donde se observa la evolución en el tiempo de los diferentes marcadores, para finalizar con la propuesta del siguiente algoritmo que simplifica los pasos diagnósticos a seguir (Fig. 1)

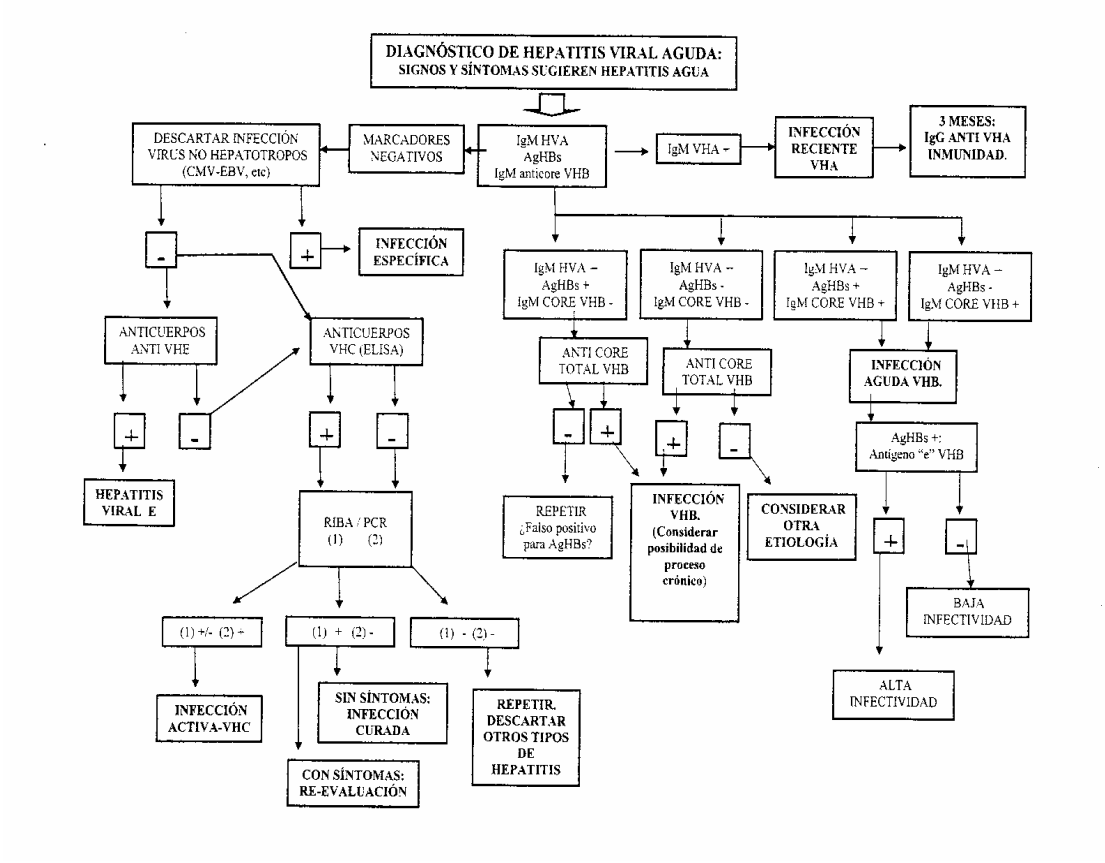

Fig. 1 Algoritmo para el diagnóstico de hepatitis viral

Diagnóstico etiológico

- **VIRUS DE LA HEPATITIS A (VHA)**

El diagnóstico de infección aguda por el VHA se basa en la detección de inmunoglobulina M anti-HVA (IgM anti HVA), su presencia confirma el diagnóstico de infección aguda; estos anticuerpos persisten durante aproximadamente 6 meses con un máximo de 12, aunque existen estudios que reportan su presencia hasta por 30 meses después del inicio de la enfermedad. La disminución de los niveles séricos de IgM anti VHA, generalmente se corresponde con el descenso de la carga viral. El ARN viral puede detectarse precozmente en sangre de los pacientes, antes de la aparición de IgM, permanece detectable en 40% de las personas con hepatitis aguda A por 70 a 127 días, posterior pico máximo de la enzima alanino amino transferasa -ALT: puede ser de utilidad para el diagnóstico etiológico durante brotes epidémicos (identificación y cuantificación de serotipos), para su detección en muestras de alimentos o bien puede ayudar en casos de hepatitis aguda de etiología desconocida, por cuanto se ha descrito un período de "ventana" que sigue a la infección por el VHA, en donde no existen niveles cuantificables de IgM específica (3,4).

Es importante señalar que la presencia de Factor Reumatoide puede dar lugar a falsos positivos de IgM anti VHA. (1).

En la convalecencia predominan los anticuerpos del isotipo G, los cuales persisten durante toda la vida, confiriendo un estado de inmunidad frente al virus. Si no se dispone de IgM anti VHA, un incremento de sus títulos 4 veces el valor inicial, en dos muestras sucesivas de suero, confirma el diagnóstico de infección por este virus (5, 6,7, 8). (Figura 1).

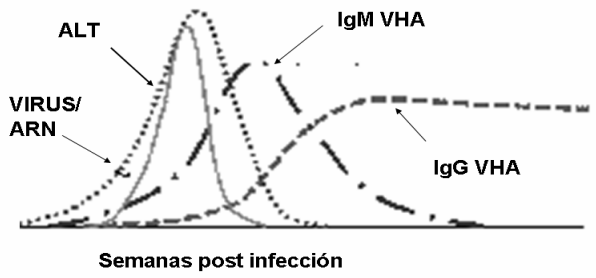

Fig. 1 IgM VHA: Inmunoglobulina M anti VHA; IgG VHA: Inmunoglobulina G anti VHA; ALT: Alanino-amino transferasa.

***Fuente**: Dienstag J, Isselbacher K. Hepatitis Viral Aguda. Principios de Medicina Interna.(2002) Harrison. McGraw Hill Interamericana Editores, Mexico. 2011 – 2030. Modificado por los autores.*

- **VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB).**

La respuesta de anticuerpos a los diferentes antígenos del Virus de la Hepatitis B (VHB) es la base de las pruebas diagnósticas tanto desde el punto de vista etiológico como de evolución, pronóstico y curación de la infección.

I.- Marcadores de infección aguda:, antigéno de superficie – antígeno e – anticuerpo anticore M ó total (G/M) – ADN viral

La detección del Antígeno de Superficie del Virus B (AgHBs – Antígeno Australia) en la sangre nos indica la presencia del virus en el individuo, puede detectarse tan precozmente como 3 a 6 días post exposición, pero habitualmente no lo hace hasta 1 o 3 meses, estando el paciente todavía asintomático; en la mayoría de los casos se hace indetectable entre 1 y 2 meses después del inicio de los síntomas. Debido a su capacidad mutante, hoy en día se dispone de ensayos comerciales capaces de detectar mutaciones del AgHBs. (9)

Su ausencia en sangre no descarta la presencia de una infección aguda por el virus B, (período de "ventana"), por lo que en presencia de un paciente con sospecha de infección aguda, debe realizarse conjuntamente la determinación del anticuerpo anti antígeno del core viral, preferiblemente M (IgM anti-HBc), el cual aparece después del inicio de la fase ictérica alcanza un máximo a los 5 meses, para declinar en los casos en que la infección se resuelve. Es el marcador más importante de infección reciente por el virus B, cuando ya el AgHBs se ha negativizado. El denominado anticuerpo anti core total (Anti HBc total), constituido fundamentalmente por el isotipo IgG, está presente tanto en fase aguda de la enfermedad como en infecciones curadas o crónicas, en caso de ser positivo es mandatario realizar un anti core IgM. No existe un tiempo determinado entre la desaparición del AgHBs y la aparición del anticuerpo correspondiente, anti antígeno de superficie, generalmente aparece 4 meses después de la negativización del primero.(9).

En resumen, en la HVB aguda, se pueden distinguir dos fases: una inicial, con una elevada viremia, en donde se encuentra en el suero: el ADN viral, el antígeno de superficie, y el anticuerpo anticore IgM. También puede ser positivo el antígeno "e" (Ag HBe), aunque su presencia no es necesaria para el diagnóstico de infección aguda, este antígeno aparece en la fase tardía del período de incubación al mismo tiempo o poco después del AgHBs, para desaparecer después que se elevan los niveles de la enzima ALT, antes de la desaparición de dicho antígeno; por lo general es de corta duración, de 3 a 6 semanas, con un rango de 4 a 12; su persistencia por períodos superiores habla de enfermedad crónica. Si la infección pasa a una fase de resolución los marcadores cambian, no se detectan partículas del ADN viral, el AgHBe es negativo, el anticuerpo anti antígeno "e" (Ac anti AgHBe) puede o no aparecer, el antígeno de superficie se mantiene por poco tiempo, y desaparece entre 1 y 2 meses posterior al cese de los síntomas; con mucha frecuencia, el único marcador que permite el diagnóstico es el anticuerpo anticore IgM inicialmente, y el total, cuando el tiempo transcurrido es mayor o no se cuenta con la posibilidad de detección del isotipo M. (Figura 2) (10, 11)

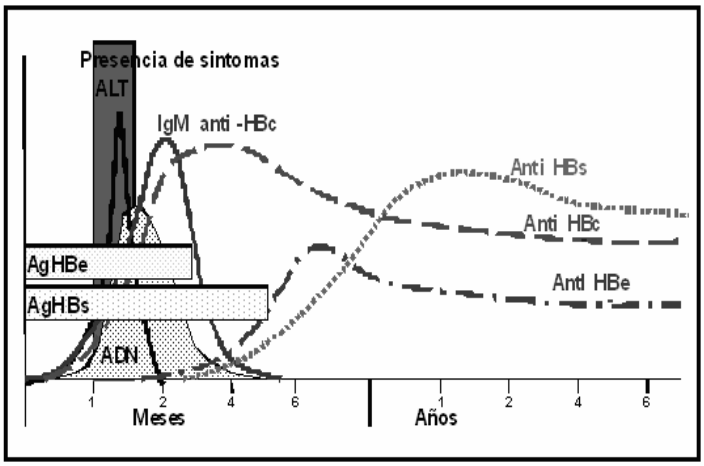

Fig. 2 AgHBe: Antígeno "e" del VHB; Anti HBe: Anticuerpo anti antígeno "e" del VHB; AgHBs: Antígeno de Superficie del VHB; Anti HBs: Anticuerpo anti antígeno de Superficie del VHB; ALT: Alaninoamino transferasas; IgM anti HBc: Inmunoglobulina M anti core del VHB; Anti HBc: Anticuerpos anti core totales del VHB. ***Fuente***:. *Broderick A, Jonas M. Hepatitis B and D Viruses en Feiging, R; Cherry, J; Kaplan, S. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Saunders, V ed. 2004; 1863-83.Modificado por los autores*

II.- Marcadores de replicación viral. Hasta hace pocos años, la detección del antígeno "e" en sangre periférica era el indicador más fidedigno de replicación viral y por ende de portadores con una alta viremia; la aparición del anticuerpo anti antígeno "e" diferenciaba el individuo con bajos grados de replicación viral (viremia baja). La negativización del antígeno e con la aparición de su anticuerpo, implica no solamente el cese aparente de la replicación viral, sino generalmente coincide con la integración del ADN del virus en el genoma del hepatocito. Aun cuando estos conceptos siguen siendo válidos, la aparición de técnicas que permiten evidenciar el ADN viral, ha demostrado que estos marcadores no reflejan exactamente el grado de viremia de un individuo; sin embargo en todo paciente con marcadores de infección aguda o crónica por el VHB, el monitoreo del antígeno e y de su anticuerpo específico, constituyen un elemento importante para la valoración de la evolución. Existen evidencias de la presencia del VHB, con o sin alta replicación viral, en pacientes con serología negativa para el antígeno e y de superficie; las causas que pueden explicar la seronegatividad al último antígeno son:

- Presencia de complejos inmunes AgHBs – Anti HBs
- Mutaciones en la región S
- Co infección por otros virus, como el VHC

La ausencia de detección del antígeno e, a pesar de una elevada replicación viral, probablemente se debe a mutaciones en la región pre-core o en el promotor core.(12, 13)

El virus replicante produce ADN que puede ser detectado en sangre, suero o células hepáticas; existen al menos 4 ensayos comerciales distintos para detectarlo por técnicas de biología molecular, útiles en el monitoreo del tratamiento; se recomienda utilizar siempre el mismo ensayo dado que los resultados por los diferentes métodos no son intercambiables.

La utilización de técnicas muy sensibles como la reacción en cadena de polimerasa (PCR), puede detectar hasta 3 copias por 100 µL de suero con una especificidad del 100%, da resultados positivos en portadores del virus B, en los que la replicación del virus no tiene repercusión clínica. En el futuro, cuando se conozca el límite por debajo del cual la existencia de replicación víral no tiene significado clínico, se utilizarán con mayor frecuencia para el seguimiento de los pacientes con enfermedad clínica; actualmente datos preliminares sugieren que dicho límite está en el orden de 10^5 copias por ml (12, 13).

III: marcadores de resolución de la infección. La aparición del anticuerpo anti AgHBs representa la resolución de la infección, asociado a anti core IgG positivo. El anticuerpo anti AgHBe puede o no estar presente, dependiendo del tiempo transcurrido desde la infección aguda. EL ADN viral debe estar negativo (14)(Figura 3)

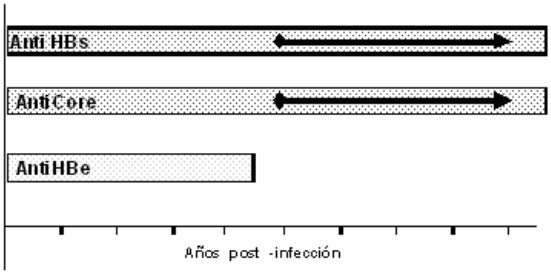

Fig. 3 Anti HBs: Anticuerpo anti Antígeno de Superficie del VHB; Anti Core: Anticuerpo total anti core del VHB; Anti HBe: Anticuerpo anti antígeno "e" del VHB.

IV.- Marcadores de cronicidad:

La infección crónica del VHB se define por la persistencia del AgHBs por un período mayor de 6 meses sin aparición del anticuerpo correspondiente. En estos pacientes el anti HBc total es positivo, el antígeno e puede o no estar presente y persistir por un período de tiempo variable. La aparición del anticuerpo anti HBe mejora el pronóstico, pero no elimina el estado de portador. Ocasionalmente, un nivel bajo de anti AgHBs puede encontrarse en individuos con infección crónica, este anticuerpo se dirige contra un subdeterminate heterotípico del AgHBs y no es de carácter protector.

Inicialmente en la infección crónica, el ADN del virus es positivo tanto en suero como en el hepatocito, donde está presente en forma libre, corresponde al período de máxima lesión hepática; posteriormente la replicación cesa, el ADN viral se integra al genoma del hepatocito, y en sangre circulante se detectan solamente formas esféricas y tubulares correspondientes al antígeno de superficie y no a viriones completos. (Figura 4) (8,10,11)

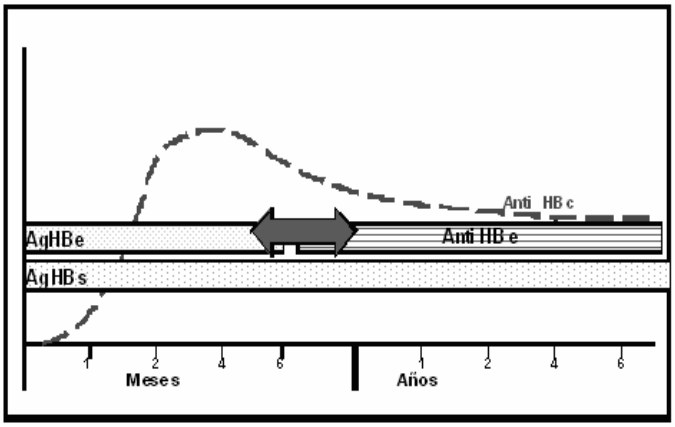

Fig 4. AgHBe: Antígeno "e" de la HVB; Anti HBe: Anticuerpo anti antígeno "e" del VHB; AgHBs: Antígeno de Superficie del VHB. * El antígeno e y su anticuerpo pueden o no estar presente

Fuente: *Dienstag J, Isselbacher K. Hepatitis Viral Aguda. Principios de Medicina Interna.(2002) Harrison. McGraw Hill Interamericana Editores, Mexico. 2011 – 2030. Modificado por los autores*

La Tabla 1 muestra las pruebas que se pueden usar oara el diagnóstico serológico de Hepatitis vira B

Tabla 1: Diagnóstico serológico de la hepatitis viral B

	Infección Aguda	Infección Crónica	Curación	Vacunación
AgHBs	+	+	-	-
Anti HBc (total)	+	+	+	-
Anti HBc (IgM)	+	-	-	-
Anti HBs	-	-	+	+

- **Virus de la hepatitis C (VHC)**

Las pruebas diagnósticas para hepatitis C pueden clasificarse según utilicen métodos inmunológicos para la detección de antígenos virales o anticuerpos dirigidos contra epitópes del mismo, y pruebas que se basan en el reconocimiento y amplificación del genoma viral. Estas pruebas diagnósticas se utilizan con tres objetivos fundamentales: diagnóstico de la infección activa, toma de decisiones para el tratamiento y evaluación de la respuesta al mismo. En todo caso siempre se debe catalogar el paciente de acuerdo a la presencia o no de factores que aumenten la posibilidad de infectarse con el virus, distinguiendo los grupos de alto o bajo riesgo, de acuerdo con la ausencia o no de estas variables (drogadicción, promiscuidad, transfusiones de sangre o derivados) (15)

Las técnicas inmunoenzimáticas utilizadas en la actualidad son pruebas de tercera generación que detectan anticuerpos contra antígenos del core y proteinas no estructurales (NS3, NS4, NS5) con una sensibilidad del 98,8 al 100% en pacientes inmunocompetentes. Su positividad indica infección actual o pasada, por lo que se utilizan como despistaje, un resultado negativo no excluye la infección, porque los niveles de anticuerpos pueden ser muy bajos en casos de infección temprana o pueden permanecer indetectables en huéspedes inmunocomprometidos. Toda prueba positiva debe ser confirmada con la técnica de inmunoblot recombinante (RIBA: recombinant immunoblot assay), con lo que se corrobora que existen anticuerpos específicos, mas no si el virus está presente o ausente en suero (viremia); los anticuerpos IgM son positivos en el 50 al 93% de los

pacientes en fase aguda y en el 50 al 70% de los que se encuentran en fase crónica, por lo que no pueden utilizarse como marcadores de infección aguda.

El método más importante para diagnosticar infección activa es la detección del genoma del virus C por técnicas de PCR. Dicha técnica puede ser cuali o cuantitativa, así como también se puede determinar el genotipo del virus infectante; el límite mas bajo de detección de ellas puede llegar a ser de 50 UI/ml. La cuantificación así como la genotipificación del virus debe hacerse previo al inicio del tratamiento y es importante señalar que los valores obtenidos por los diferentes ensayos disponibles no son intercambiables, por lo que el seguimiento a lo largo del tiempo, deberá hacerse con el mismo ensayo.(16-18)

En una infección aguda la PCR debe ser positiva, la prueba de ELISA puede ser positiva o negativa, el RIBA puede ser positiva, negativa o indeterminada. Una prueba de ELISA positiva, con RIBA positivo o negativo, y PCR negativa, indica infección por el virus C curada. En el diagnóstico de infección crónica lo recomendable es seguir el algoritmo basado en las recomendaciones del CDC de Atlanta. En resumen, la serología es una prueba de despistaje, el RIBA es útil para confirmar la presencia de anticuerpos, la PCR cualitativa confirma viremia mientras que la cuantitativa es útil para la evaluación de la respuesta terapéutica. (15,16)

La progresión de la enfermedad por el virus C está asociada con incremento de la viremia en la etapa aguda de la infección, durante este tiempo, y antes del desarrollo de anticuerpos (período de seroconversión) el virus solo se puede detectar mediante diagnóstico molecular. Los anticuerpos contra el VHC aparecen en sangre entre 40 y 80 días después de la infección aguda, y pueden permanecer entre 10 y 20 años posterior a la resolución. (17-19)

- **VIRUS DE LA HEPATITIS D (VHD)**

El prerrequisito para la definición de infección por el virus D, es el diagnóstico previo de hepatitis aguda o crónica por el VHB. Se fundamenta en la determinación de anticuerpos IgM e IgG anti VHD; generalmente la primera aparece durante la fase aguda y persiste durante 2 a 6 semanas; posteriormente aparece la IgG, que disminuye progresivamente a cifras indetectables si se resuelve la infección por el VHB. En la forma crónica, hay persistencia de la inmunoglobulina G por mas de 6 semanas, con títulos que se correlacionan con el grado de replicación viral. Las técnicas de biología molecular se encuentran en fase de investigación y su utilidad clínica es limitada, ya que un resultado positivo puede ser un marcador temprano de infección aguda y/o indicador de replicación activa en una infección crónica (11,20). (Tabla 2)

Tabla 2. Marcadores presentes en la infección por el VHD

INFECCION POR VHD	VHD	VHB
Coinfección aguda VHB VHD	IgM anti VHD	AgHBs IgM anti core VHB
Sobre infección aguda VHD	IgM anti VHD	AgHBs Anti core total VHB
Infección crónica VHD	IgG anti VHD	AgHBs Anti core total VHB

- **VIRUS DE LA HEPATITIS E (VHE):**

El inmunoensayo enzimático es el método mas conveniente y fácilmente disponible para la detección de la IgM y la IgG anti VHE. La primera es positiva en el 96% de los casos de infección aguda, siempre y cuando se obtenga en las 4 semanas iníciales de la enfermedad, desaparece en al menos el 50% de los pacientes alrededor de tres semanas más tarde. La IgG se detecta también entre 2 y 4 semanas posterior al inicio de la enfermedad y disminuye rápidamente, por lo que un título muy alto también sugiere infección reciente.

Algunos casos no muestran una respuesta serológica.. El ARN viral se puede diagnosticar en heces y sangre durante la fase aguda de la enfermedad por técnicas de PCR (21). Por técnicas de inmunoensayo enzimático se ha logrado detectar un antígeno del VHE en la fase aguda de la enfermedad, coincide con la presencia del ARN viral en heces y desaparece 4 semanas antes., puede ser útil para el diagnostico de enfermedad aguda, particularmente en el periodo de ventana previo a la seroconversión de anti VHE (22, 23).

- **VIRUS DE LA HEPATITIS G (VHG).**

Los estudios del genoma viral son los únicos métodos que han permitido la detección de este virus en individuos examinados; existen numerosas investigaciones destinadas a producir un ensayo inmunoquímico sencillo que permita su diagnóstico (24).

BIBLIOGRAFIA

1. Hawai H, Feinstone S. Acute Viral Hepatitis, en Mandel, G; Bennett, J; Dolin, R. Principles and Practices of Infectious Diseases. Churchill Livingstone. V Ed. 2000; 1279-96.

2. Demmler G. Hepatitis, en Feiging, R; Cherry, J; Kaplan, S. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Saunders, V ed. 2004; 658-67.

3.Houde A, Guevremont E, Poitras E, Leblanc D, Ward P, Simard C, Trttier YL. Comparative evaluation of new TaqMan real time assays for the detection of hepatitis A virus. J Virol Methods. 2007; 140:1-2: 80-9

4.Sanchez G, Populaire S, Butot S, Putallaz T, Joosten H. Detection and differentiation of human hepatitis A strains by commercial quantitative real time RT-PCR test. J Virol Methods. 2006; 132:160-5

5. Dienstag J, Isselbacher K. Hepatitis Viral Aguda. Principios de Medicina Interna.(2002) Harrison. McGraw Hill Interamericana Editores, Mexico. 2011 – 2030

6. CDC.MMWR. May 13. 2005; 54 Nº 18. Positive test results for acute hepatitis A virus infection among persons with no recent history of acute hepatitis- United States, 2002-2004.

7. Norman A, Jung C, Vallbracht, A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia an d viral load in the blood of human hepatitis A patients. J Med Virol 2004; 72 (1): 10-6.

8. De Paula VS, Villar LM, Morais LM. Lewis-Ximenez, LL, Niel C, Gaspar AM. Detection of hepatitis A Virus RNA in serum during the window period of infection. J Clin Virol 2004; 29(4): 254-9

9. Brunetto MR, Oliveri F, Bonino F. Hepatitis B Virus Infection. Progress in hepatitis research: hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus, Hepatitis Delta Virus. 1991. Editor: O Crivelli Sorin Biomédica, Italia

10. Giba R, Nimmo GR, O´Loughlin P, Lowe P, Drummond D. Detection of AgHBs mutants in a population with a low prevalence of hepatitis B virus infection. J Med Virol 2007; 79(4):351-57

11. Codoñer F. Hepatitis B. El virus, técnicas de diagnóstico, epidemiología, enfermedad y sus posibilidades evolutivas. An Pediatr 2003; 58 (5): 478-81

12. Sanchez Orozco L, Pandero A. Genómica y proteómica del virus de la Hepatitis B. Investigación en Salud. 2005; VII: 12-18.

13. Butti Ferret M. Hepatitis por el virus B. Medicine 2004; 9: 663-665.

14. Broderick A, Jonas M. Hepatitis B and D Viruses en Feiging, R; Cherry, J; Kaplan, S. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Saunders, V ed. 2004; 1863-83.

15. Sizmann D, Boeck C, Boelter J, Fischer D, Miethke M, Nicolaus S, Zadak M, Babiel R. Fully automated quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA in human plasma and human serum by COBAS ® AmpliPrep/COBAS(®) System. J Clin Virol 2007; 38(4):326-33.

16. Scott JD, Gretch DR. Molecular diagnosis of hepatitis C virus infection: a systematic review. JAMA 2007; 297(7): 724-32.

17 Chiquete Anava E, Sanchez O L, Panduro C A. Virus de la Hepatitis C Investigación en Salud. 2005; VII: 19-24

18. Mayer A, Jonas M. Hepatitis C Virus en Feiging, R; Cherry, J; Kaplan, S. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Saunders, V ed. 2004; 2237-2251

19. Alvarez Martinez H, Perez Campos E. Pruebas diagnósticas para hepatitis C. Med Int Mex 2004; 20:368-72.

20. Jiang YZ, Zhang MC, Tian RG, Lu J, Zhang WY, Bi SL. Expression of the hepatitis delta antigen in prokaryotic cell and evaluation of its application as an EIA diagnostic reagent. Chinese Journal of esperimental and clinical virology. 2006; 20(2):38-41

21.Qintana González A. Virus de la Hepatitis E. Rev Biomed 2003;14:165-89

22. El-Sayed Kaki M, El-Deen Zaghloul MH, El Sabed O. Acute sporadic hepatitis E in children: diagnostic relevante of specific immunoglobulin M and immunoglobulin G compared with nested reverse transcriptase PCR. FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 48(1): 16-20

23. Zhang F, Li X, Li Z, Harrison TJ, Chong H, Qiao S, Huang W, Zhuang H, Wang Y. Detection of HEV antigen as a novel marker for the diagnosis of hepatitis E. J Med Virol 2006; 78(11): 1441-8

24. Ruiz Alvarez V, Benitez Perez C. Algunas consideraciones sobre la Hepatitis G Rev Cubana Med Gen Integr 1999; 15: 328-33.