

# Diagnóstico de la hepatitis B

Luis Gonzalo Guevara C., MD,<sup>1</sup> Fernando Peñaloza Cruz, MD,<sup>2</sup> Oscar Páez Rodríguez, MD,<sup>3</sup>  
Emiro Meisel Chinchilla, MD.<sup>4</sup>

La clínica de la infección por virus B no es patognomónica y admite gran variabilidad, por lo tanto el diagnóstico y estadiaje, así como la evaluación y seguimiento de la respuesta al tratamiento deben apoyarse en el uso de marcadores serológicos, bioquímicos, virológicos, pruebas de función hepática y reportes de anatomía patológica en algunos casos.

## MARCADORES SEROLÓGICOS

### Antígenos virales

El antígeno de superficie (HBsAg) es el marcador de laboratorio más importante en el diagnóstico de la hepatitis B, tanto aguda como crónica; es un marcador indirecto de infección y en combinación con otros marcadores permite determinar si el paciente cursa con una infección aguda, crónica, resuelta o ha sido satisfactoriamente vacunado o tratado.

El HBsAg es el primer marcador serológico que aparece después de la infección y su persistencia por más de 6 meses indica una hepatitis B crónica.

La presencia de antígeno “e” (HBeAg) indica replicación activa del virus. Su ausencia no descarta la presencia del virus ya que pueden encontrarse formas de hepatitis B crónica HBeAg-negativo (mutantes del core-precure). Los pacientes que son seropositivos para antígeno “e”, generalmente tienen replica-

ción viral activa con riesgo elevado de enfermedad hepática. Se ha postulado que una de las funciones del antígeno “e” es inducir inmunotolerancia, particularmente en útero, ya que el antígeno puede atravesar la placenta.

La seroconversión del antígeno “e” ha sido considerada como el punto principal en la evaluación de la respuesta al tratamiento de pacientes antígeno “e” positivos y ha mostrado asociación con un menor riesgo de progresión de la enfermedad aunque no protege el desarrollo posterior de hepatocarcinoma.

### Anticuerpos virales

Algunas personas pueden aparecer positivas para el anticuerpo contra el core como hallazgo aislado y puede ocurrir en una variedad de casos.

1. Indicador de infección crónica por el virus B: en estas personas, el antígeno de superficie ha disminuido a valores indetectables, pero el DNA persiste detectable. Esta situación no es rara en personas de áreas de alta prevalencia de infección por virus B, pacientes con virus de inmunodeficiencia humana o infección por virus C.
2. Marcador de inmunidad posterior a la recuperación de una infección previa.
3. Falso positivo en personas de baja prevalencia sin factores de riesgo para el virus B. Estos individuos

<sup>1</sup> Internista, Gastroenterólogo, Hepatólogo Clínico. Unidad de Hepatología y trasplantes. Hospital San Vicente de Paúl. Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Internista, Gastroenterólogo. Servicio de Gastroenterología, Hospital Occidente de Kennedy. Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup> Internista, Gastroenterólogo. Universidad del Norte. Barranquilla, Colombia.

<sup>4</sup> Internista, Gastroenterólogo clínico. Gastrocoop. Pereira, Colombia.

responden a la vacuna de forma similar a personas sin marcadores serológicos para el virus B.

- c. Único marcador de infección por virus B en la fase de ventana, en hepatitis B aguda.

Durante la infección, los antígenos virales están expuestos al sistema inmune, el cual responde produciendo su respectivo anticuerpo (anti HBs, anti HBc y antiHBe).

El anticuerpo contra HBsAg (anti HBs) indica que el paciente se ha recuperado de la infección o inmunidad al virus; también es detectable después de la inmunidad que entrega la vacunación.

La presencia de anticuerpo contra el antígeno e (anti HBe) indica seroconversión de antígeno “e” positivo a negativo. Esta seroconversión (pérdida del antígeno “e” para la detección del anticuerpo) es el punto principal en el tratamiento para el grupo de pacientes HBeAg-positivos y se ha visto asociado a menor riesgo de progresión de la enfermedad.

### INFECCIÓN AGUDA

La mayoría de los adultos infectados con el virus tienen un curso asintomático y únicamente el 20 al 35% tienen síntomas como fiebre, fatiga, anorexia y náuseas, antes de la aparición de ictericia. Más del 95% de los pacientes tienen enfermedad autolimitada que los lleva a una inmunidad durante toda su vida. Un pequeño subgrupo puede desarrollar hepatitis fulminante asociada a una alta mortalidad.

El antígeno de superficie aparece temprano y se detecta 6 a 10 semanas después de la exposición y está presente antes de la aparición de los síntomas. El antígeno “e” aparece posterior al antígeno superficie y es útil como marcador de replicación. Cuando los antígenos aparecen en sangre, las aminotransferasas usualmente se elevan.

El período de incubación y el desarrollo de síntomas dependen de algunos factores como son la edad, modo de transmisión, tamaño de inóculo y se establece que es de 2 a 4 meses.

El primer anticuerpo que se eleva es dirigido contra el antígeno core y se denomina anticore IgM; este, en combinación con el antígeno en superficie son el mejor indicador de infección aguda.

En la fase sintomática el anticuerpo IgM tiene un pico y declina entre 3 y 12 meses después de la exposición. Esta disminución del anticore IgM se complementa con la producción y el aumento progresivo del anticore IgG, que puede permanecer detectable durante toda la vida.

El anticuerpo contra el antígeno V (antiHB e) está asociado con un rápido aclaramiento del antígeno “e”, y la seroconversión coincide con un dramático aumento de aminotransferasas probablemente porque los anticuerpos causan una lisis de células infectadas (figura 1).

### INFECCIÓN CRÓNICA

Los individuos infectados con hepatitis aguda que persisten por más de 6 meses con niveles de antígeno superficie o aquellos que mantiene positivos para antígeno “e” después de que los síntomas se resuelven pueden desarrollar infección crónica, y usualmente son asintomáticos. En los estados tempranos de infección crónica, la replicación puede identificarse por la presencia de antígeno de superficie, antígeno “e” y el DNA del virus. El anticuerpo que encontramos será el anticore IgG.

El curso clínico de la infección puede ser variable con una actividad fluctuante de la enfermedad y una proporción de pacientes puede presentar formas rápidamente progresivas.

Pacientes con infección muy larga pueden tener una fase replicativa baja, caracterizada por la seroconversión del antígeno “e” al anticuerpo anti HBe. Esta seroconversión ocurre entre el 5 al 20% por año y en la mayoría de los casos la pérdida del antígeno “e” se asocia a una mejoría y normalización de aminotransferasas.

Los pacientes que fallan en depurar el virus y continúan con hepatitis activa tienen un riesgo elevado de cirrosis y carcinoma hepatocelular (figura 2).

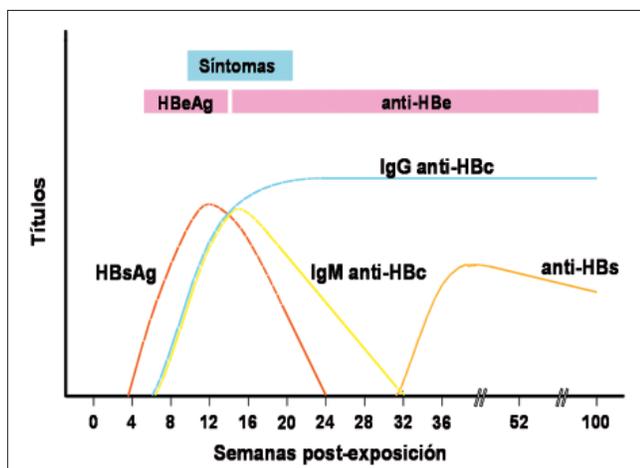


Figura 1. Serología de hepatitis B aguda.

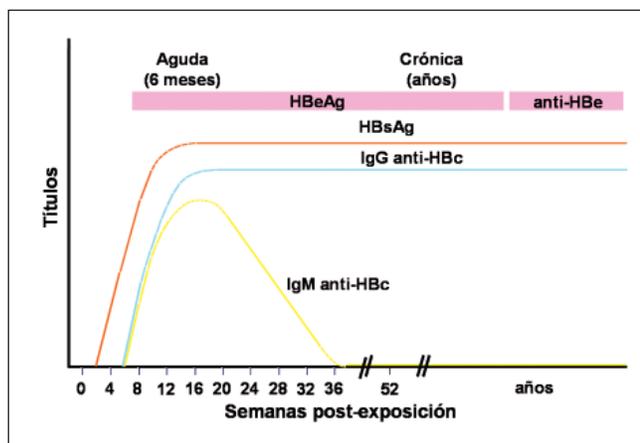


Figura 2. Serología de hepatitis B crónica.

## CARGA VIRAL (DNA)

La carga viral es determinante en el estudio del paciente HBV crónico y en la evaluación de la eficacia del tratamiento. La mayoría de los estudios de DNA se basan en técnicas de reacción en cadena de polimerasa PCR, que permiten determinar desde 50 UI/mL (250 copias) y más recientemente, con técnicas de PCR en tiempo real se han logrado detectar desde 5 UI/mL.

A pesar del desarrollo de técnicas de PCR que permiten determinar niveles muy bajos de DNA, arbitrariamente se ha aceptado un nivel de  $10^5$  copias/mL (20000 UI/mL) como criterio diagnóstico en HBV crónica.

La determinación del virus por técnicas de biología molecular también es utilizada para establecer criterio de respuesta virológica al tratamiento RV (carga viral indetectable o niveles inferiores a  $10^4$  copias/mL) y permite complementar el estudio de un paciente en asocio de los criterios de respuesta histológica RH y respuesta bioquímica RB. Niveles bajos o detectables de DNA en pacientes con depuración serológica no son sinónimo de progresión de la enfermedad, ya que la depuración total del DNA es un objetivo inviable en el tratamiento del virus B.

La medición del nivel de DNA, también presta utilidad para evaluar la reaparición de cepas resistentes en pacientes tratados con LMV y en quienes después de una desaparición inicial, se detecta nuevamente el virus en niveles ascendentes. El nivel de DNA es, así mismo, la manera de determinar la respuesta virológica al tratamiento en pacientes HBeAg negativo.

Después de la seroconversión espontánea del HBeAg (67-80 %) el nivel de carga viral disminuye y se hace indetectable; sin embargo, algunos de estos pacientes pueden persistir con niveles DNA detectables e incluso en aumento; reflejo de la presencia de mutantes y actividad inflamatoria.

Aproximadamente 0,5%/año de los pacientes portadores HBV depuran el HBsAg, pero cerca de la mitad pueden mantener niveles detectables de DNA.

En general, su utilidad diagnóstica se ve reflejada en:

Paciente con HBV crónica:

HBeAg +: DNA > 20000 UI/mL o  $10^5$  copias/mL  
 HBeAg -: DNA 2000 - 20000 UI/ml y  $10^4$  -  $10^5$  copias/mL

Paciente portador inactivo: DNA < 2000 UI/mL o bajo el nivel inferior de detección de la prueba. Más del 30% de estos pacientes depurara el HBsAg durante su seguimiento.

HBV resuelta: DNA indetectable.

HBV crónica oculta: HBsAg (-) clínica de hepatitis B crónica y DNA detectable en suero y tejido hepático (se deben descartar otras causas de lesión hepática).

## BIOPSIA HEPÁTICA EN HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS B

Los hallazgos histológicos serán similares en los pacientes con hepatitis crónica. Antes de recomendar la práctica de esta, el médico debe evaluar la forma de presentación y los hallazgos de laboratorio que sugieren el diagnóstico; por lo tanto, la biopsia no está indicada para confirmar el diagnóstico.

La toma de la muestra puede hacerse vía percutánea bien sea a ciegas o bajo guía imagenológica (ultrasonografía o TAC); si existe contraindicación para esta vía se puede obtener vía transyugular. El procedimiento no está exento de riesgos, los cuales se deben plantear previamente al paciente.

No hay ninguna característica que diferencie de otras causas de hepatitis crónica excepto por la presencia de células en “vidrio esmerilado”, por HBsAg y HBeAg los cuales se pueden apreciar con métodos de orceína e inmunohistoquímica.

Las principales razones para practicarla en los pacientes están en excluir otras causas de enfermedad hepática, evaluar el grado de daño hepático y aportar información relacionada con la progresión de la enfermedad.

Tiene limitado valor en predecir la respuesta al tratamiento con interferón convencional y pegilado, aunque en pacientes cirróticos el interferón alfa puede llevar a insuficiencia hepática grave, situación que no se ha documentado con el interferón pegilado; los datos son restringidos para predecir la respuesta a agentes antivirales orales, en este caso los mejores indicadores de predicción de respuesta los aportan los test bioquímicos (altos niveles de ALT), HBVDNA (bajos), y el estudio serológico. Se ha encontrado que la carga viral no guarda correlación con el grado de actividad histológica.

Con fines prácticos, la decisión de iniciar tratamiento no depende de los hallazgos histológicos como el grado de inflamación; en condiciones habituales, el paciente con niveles de ALT y HBVDNA elevados, por sobradas razones, es candidato al inicio de tratamiento, caso contrario, el tener niveles bajos de estos

no los hace candidatos a tratamiento médico; pero las dificultades se presentan en los pacientes que no reúnen criterios claros como aquellos con niveles altos de HBVDNA y niveles de ALT normales en especial aquellos con antígeno “e” negativo; la práctica de la biopsia hepática nos puede orientar, en caso de presentar lesiones histológicas mínimas no se sugiere dar tratamiento, puesto que no se modifica el pronóstico a mediano plazo, distinto al caso de presentar enfermedad histológica moderada a severa que los hace candidatos a dicho tratamiento; situación similar se puede aplicar a los portadores inactivos que en el seguimiento muestren aumentos intermitentes de transaminasas, de viremia o ambos.

Existen múltiples clasificaciones histológicas de actividad y grado de fibrosis, las más conocidas son las de Knodell, Metavir, la de la Asociación de patología de Korea modificada por Batts y Ludwig, entre otras, que se basan en diferentes estadios de acuerdo al grado de fibrosis y de actividad necroinflamatoria. En el caso de Metavir se clasifica de F0 sin fibrosis, F1 fibrosis portal sin septos, F2 fibrosis portal con pocos septos, F3 numerosos septos sin fibrosis, F4 cirrosis. La actividad necroinflamatoria de A0 sin actividad, A1 actividad leve, A2 actividad moderada, A3 actividad severa. Desarrollo de la cirrosis se relaciona con el grado de actividad portoperiportal y el estado de fibrosis.

Niveles altos de ALT como medida de hepatitis bioquímica aumenta significativamente con el grado de actividad lobular y periportal, pero la actividad lobular no refleja el pronóstico de los pacientes con hepatitis crónica, por ende, la actividad portoperiportal expresará mejor la actividad de la hepatitis, y puede ser usada como factor predictivo de progresión a cirrosis. Por otro lado, el grado de fibrosis no se asocia con actividad de la hepatitis, pero sí representa la progresión de fibrosis a cirrosis.

La actividad inflamatoria lobular es más de las formas agudas, representando daño hepatocelular; mientras que la actividad inflamatoria portoperiportal es más de las formas crónicas. La necrosis en sacabocados es un factor importante en la progresión de hepati-

tis crónica a cirrosis, siendo entonces un indicador importante en el pronóstico.

Estudios recientes encontraron similar actividad (A) entre los positivos y negativos para el antígeno “e”, pero más alta fibrosis (F) en los negativos. Dentro de los factores de asociación con fibrosis también se cuentan: recuento de plaquetas menor de 150.000/mm, y actividad inflamatoria A2 ó mayor. Otros trabajos también lo han asociado a coinfección viral y al género masculino. En el caso de coinfecciones B y C, se ha encontrado más alta prevalencia de cirrosis y descompensación hepática, aunque otros estudios no lo han podido confirmar, lo cual amerita estudios a gran escala, e incluso biopsias secuenciales de seguimiento de las tasas de progresión de fibrosis de coinfectados. Se estima que la incidencia anual de cirrosis en hepatitis B crónica es del 0,7 a 5,9%, siendo factor de riesgo la edad del paciente (mayores de 40 años), a más larga duración y con la afección de carácter progresivo, no es sorpresa que los más viejos se presenten ya con cirrosis.

Un factor importante es el de determinar la presencia de cirrosis hepática lo cual aumenta el riesgo de carcinoma hepatocelular (CHC), sugiriendo que debe hacerse vigilancia periódica aun en ausencia de la misma, pero se considera que la gran mayoría de las neoplasias se presentan en pacientes cirróticos; factores de riesgo asociados a CHC son el género masculino, mayor de 40 años, con antecedentes familiares de CHC, antígeno “e” positivo y el uso concomitante de alcohol.

El riesgo de desarrollar CHC en pacientes con hepatitis B es del 2%/año, para la hepatitis C es del 3,7%/año, y del 6,4%/año en coinfectados, con un riesgo acumulativo a 10 años de 16%, 28% y 45% respectivamente. Este sinergismo amerita que se le haga seguimiento con alfafetoproteína e imagenología periódica en los coinfectados, al igual que en aquellos que reúnen los criterios de alto riesgo antes descritos.

En los casos de coexistir con virus D la inflamación es generalmente leve, mostrando hepatocitos en “vidrio esmerilado” con tinción a orceína e inmuno-

histoquímica para HBs Ag y HBcAg, y antígeno D en sus núcleos.

Puede haber dificultades de interpretación, debido a que la lesión puede variar en severidad y gravedad de un lugar a otro llevando a errores en su representatividad, en especial si esta es pequeña; el tamaño ideal de la muestra debe ser de 15 mm o más, y no es recomendable la biopsia en cuña; teniendo en cuenta que debe ser leída idealmente por un histopatólogo calificado y con experiencia.

### **Genotipos del virus de la hepatitis B (HBV)**

Con base en los determinantes antigénicos del HBsAg, el HBV ha sido tradicionalmente clasificado en cuatro subtipos denominados adr, adw, ayr y ayw. Estos subtipos, a su vez, se han clasificado en nueve serotipos llamados ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+ y adrq-. Se sabe que estos serotipos se encuentran diseminados de una manera variable en el mundo y los anticuerpos contra el determinante común “a” confieren protección contra todos los serotipos del HBV, lo cual es la base para la vacuna contra el HBV. Sin embargo, hasta ahora existen muy pocos datos acerca del significado clínico de estos serotipos.

Por otro lado, los estudios realizados sobre la secuencia del genoma del HBV y los basados en el uso de anticuerpos serológicos han demostrado la existencia, por el momento, de ocho genotipos con diferente distribución geográfica, denominados A, B, C, D, E, F, G y H (tabla 1).

El genoma del HBV evoluciona espontáneamente debido a errores en la transcriptasa reversa, los cuales producen sustitución de nucleótidos a un ritmo estimado de  $1,4$  a  $3,2 \times 10^{-5}$  por sitio por año. Cada genotipo, en relación con los otros, tiene una divergencia mayor del 8% en la secuencia de nucleótidos del genoma completo, el cual comprende alrededor de 3.200 nucleótidos. Adicionalmente, han sido descritos subgenotipos para los genotipos A, B y C, denominados respectivamente Aa/A1 (tipo asiático/africano), Ae/A2 (tipo europeo); Bj/B1 (tipo japonés), Ba/B2 (tipo asiático); Ce/C1 (tipo este asiático) y Cs/C2 (tipo sudeste asiático) (tabla 2).

Tabla 1. Distribución de los genotipos.

Genotipo	Distribución geográfica
A	Brasil, África Central, India, Noroeste de Europa, Polonia, España, Túnez, USA.
B	China, Hong Kong, Indonesia, Japón, Filipinas, Sudeste de Asia, Taiwán, Tailandia, Vietnam.
C	Australia, Brasil, China, Lejano Oriente, Hong Kong, Indonesia, India, Japón, Corea, Polinesia, Islas Salomón, Tailandia, Taiwan, USA, Vietnam.
D	Afganistán, Albania, Brasil, República Checa, Irán, India, Mediterráneo, Oriente Medio, Rusia, España, Islas Salomón, Túnez, Turquía, USA.
E	Túnez, África Occidental.
F	América Central, Argentina, Alaska, Bolivia, Brasil, Polinesia, Suramérica, Venezuela.
G	Francia, Alemania, USA.
H	América Central, México, Suramérica

Tabla 2. Distribución de los subgenotipos.

Subgenotipo	Distribución geográfica
A1 (Aa)	Asia y África: India, Japón, Nepal, Filipinas, Sudáfrica
A2 (Ae)	Europa y Norteamérica: Francia, Alemania, Polonia, Reino Unido, USA
B1 (Bj)	Japón
B2 (Ba)	China, Taiwán, Vietnam
B3	Indonesia
B4	Vietnam
B5	Filipinas
C1 (Ce)	Este de Asia: China, Japón, Corea, Taiwán
C2 (Cs)	Sudeste Asiático: Bangladesh, China, Hong Kong, Malasia, Tailandia, Vietnam
C3	Polinesia
C4	Noreste de Australia

Aunque aún no se ha establecido plenamente el significado clínico de los genotipos del HBV, sí han podido establecerse diferencias entre algunos de ellos en relación con la evolución de la enfermedad y la respuesta a algunos fármacos. Es de anotar que, en muchas regiones, se encuentran infecciones con mezclas de genotipos. La mayoría de los estudios que han comparado los genotipos B y C han encontrado que el C se asocia a mayor gravedad de la enfermedad y a la presencia de hepatocarcinoma, mientras el genotipo B está más relacionado con el desarrollo de carcinoma hepatocelular en personas jóvenes. El genotipo A se ha encontrado más relacionado con pacientes asintomáticos y las infecciones por mezclas genotípicas se aso-

cian a mayor carga viral que las infecciones por un solo genotipo. Adicionalmente ha sido informado que en los pacientes con enfermedad hepática crónica, la tasa de negativización del HBeAg es mayor en la infección por el genotipo B que por el C y al comparar casos de infección por A, B, C, D o F se encuentra que el HBeAg se negativiza más tardíamente en el C, y en este genotipo, es más frecuente la reversión a HBeAg después de haberse negativizado.

Otros hallazgos muestran que el genotipo C aumenta el riesgo de recurrencia después de resección curativa de un hepatocarcinoma (HCC) comparado con el genotipo B. De igual manera, es más frecuente el desarrollo de cirrosis en las infecciones por genotipo C.

En relación con la respuesta al tratamiento antiviral, se ha encontrado que el genotipo B responde mejor al interferón alfa que el C y el D y mejor que el C a la lamivudina, aunque otros estudios no encuentran relación entre genotipo y respuesta al tratamiento.

El impacto del genotipo del HBV sobre el resultado pre y postrasplante hepático, no se ha definido, pero se han producido informes que señalan algunos hallazgos. El genotipo C es el más relacionado con la presencia de HCC en pacientes en lista de espera; el genotipo D con la mortalidad más alta entre los sujetos enlistados, el C con mayor mortalidad postrasplante y el D con mayor sobrevida postrasplante.

Los pacientes coinfectados crónicamente con HBV y virus D (HDV), al parecer tienen evolución más tórpida, si el HDV es genotipo I o el HBV es genotipo C.

Finalmente, se han descrito algunas relaciones entre los genotipos y las mutaciones del HBV. Parece ser que el subgenotipo Bj está relacionado con la ocurrencia de mutación precore 1896, mientras que los resultados relacionados con la mutación promotor básico del core son contradictorios, al igual que los relacionados con la mutación pre S.

En conclusión, los genotipos, subgenotipos e infecciones genotípicas mixtas requieren un mayor número de estudios en el futuro, que permitan reconocer su verdadero significado clínico en el contexto de la hepatitis B.

## LECTURAS RECOMENDADAS

1. Aguilar J. Consenso español para el tratamiento de la hepatitis B y C: Hepatitis crónica B, candidatos al tratamiento y necesidad de biopsia. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29(supl 2): 20-22.
2. Akuta N, Kumada H. Influence of Hepatitis B Virus Genotypes on the Response to Antiviral Therapies. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 139-142.
3. Bowden Scott. Serological and Molecular Diagnosis. *Seminars in Liver Disease* 2006; 26(2).
4. Byung KP, et al. Long term outcome of chronic Hepatitis B based on histological grade and stage. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(3): 383-388.
5. Cadranet JF, et al. Epidemiology of chronic Hepatitis B infection in France: risk factors for significant fibrosis, Results of Nationwide survey; *Aliment Pharmacol and Ther* 2007; 26(4): 565-576.
6. Chen J, Liu C, Lee P, Chen P, Lai M, Kao J, Chen D. Hepatitis B Genotypes Correlate with Tumor Recurrence after Curative Resection of Hepatocellular Carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 64-71.
7. Chu Ch, Lok A. Clinical Significance of Hepatitis B Virus Genotypes. *Hepatology* 2002; 35: 1274-1276.
8. Daruich J, et al. Guía latinoamericana de tratamiento de la hepatitis crónica B. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2007; 37(3): 168-177.
9. Emmet B, Keffe, Douglas T, Dieterich. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: Up date clinical gastroenterology and hepatology 2006; 4: 936-962.
10. Fattovich G, et al. Hepatitis C virus infection in chronic hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis* 1991; 163: 400-402.
11. Gaglio P, Sing S, Degertekin B, Ishitani M, Hussain M, et al. Impact of the Hepatitis B Virus Genotype on Pre and Post Liver Transplantation Outcomes. *Liver Transpl* 2008; 14: 1420-1427.
12. Kao J, Chen P, Lai M, Chen D. Hepatitis B Genotypes Correlate with Clinical Outcomes in Patients with Chronic Hepatitis B. *Gastroenterology* 2000; 118: 554-559.
13. Kramvis A, Kew M. Relationship of Genotypes of Hepatitis B Virus to Mutations, Disease Progression and Response to Antiviral Therapy. *J Viral Hepat* 2005; 12: 456-464.
14. Liu Ch, Kao J. Hepatitis B Virus Genotypes: Epidemiology and therapeutic implications. *Kalinga Gastroenterol* 2008; 3: 54-75.
15. Livingston S, Simonetti J, Bulkow L, Homan C, Snowball M, et al. Clearance of Hepatitis B e Antigen in Patients with Chronic Hepatitis B and Genotypes A, B, C, D and F. *Gastroenterology* 2007; 133: 1452-1457.
16. Lok Anna FS, Brian J McMahan. AASLD Practice Guidelines. *Hepatology* 2006
17. Ma J, Wang L, Li X, Liao Y, Hu X, Gong Z. Relationship between HBV Genotypes and Antiviral Therapeutic Efficacy of Interferon Alfa. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 166-171.
18. Marcellin P, et al. Peginterferon alfa 2 a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg negative chronic hepatitis. *N Engl J Med* 2004; 351: 1206-1217.
19. Marín-López ER, et al. Primer consenso nacional de Hepatitis B crónica. *Rev Gastroenterol Mex* 2005; 70(4): 490-503.
20. Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying Hepatitis B Virus Genotypes. *Intervirology* 2003; 46: 329-338.
21. Orito E, Mizokami M, Ina Y, Moriyama E, Kameshima N, Yamamoto M, et al. Host-independent Evolution and a Genetic Classification of the Hepadnavirus Family Based on Nucleotide Sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7059-7062.
22. Pawlosky JM. Molecular diagnosis of viral Hepatitis. *Gastroenterology* 2002; 122: 1554-1568.
23. Shiratori Y, et al. Does dual infection by hepatitis B and C viruses play an important role in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer* 1997; 80: 2060-2067.
24. Su C, Huang Y, Huo T, Shih H, Sheen I, et al. Genotypes and Viremia of Hepatitis B and D Viruses Are Associated with Outcomes of Chronic Hepatitis D Patients. *Gastroenterology* 2006; 130: 1625-1635.
25. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, et al. Influence of Hepatitis B Virus Genotypes on the Progression of Chronic Type B Liver Disease. *Hepatology* 2003; 37: 19-26.

26. Toan N, Song L, Kreamsner P, Duy D, Binh V, Koeberlein B, et al. Impact of the Hepatitis B Virus Genotype and Genotype Mixtures on the Course of Liver Disease in Vietnam. *Hepatology* 2006; 43: 1375-1384.
27. Westland C, Delaney W, Yang H, Chen S, Marcellin P, Hadziyannis S, Gish R, Fry J, et al. Hepatitis B Virus Genotypes and Virologic Response in 694 Patients in Phase III Studies of Adefovir Dipivoxil. *Gastroenterology* 2003; 125: 107-116.
28. Zacharakis GH, et al. Natural history of chronic HBV infection: a cohort study with up to 12 years follow up in north Greece; *J Med Virol* 2005; 77: 173-179.