

● **Expertos Invitados**

EVALUACION DEL EXITO DE LA TERAPIA ANTIBIOTICA PARA LA ERRADICACION DE *HELICOBACTER PYLORI* MEDIANTE SEROLOGIA EN PACIENTES CON ULCERA DUODENAL

Columnista Experto de SIC

Dr. Guillermo Figueroa Gronemeyer



Tecnólogo Médico, Especialista en Microbiología Clínica, Veterinaria y de Alimentos; Jefe del Laboratorio de Microbiología del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile

en colaboración con

Miriam Troncoso Herrera (Tecnóloga Médica), **Raúl Acuña** (Médico Gastroenterólogo) y **Angélica Reyes Jara** (Bioquímica), del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile

Otro trabajo publicado: Figueroa G, Troncoso M, Toledo MS, Faúndez G, Acuña R: «Prevalence of serum antibodies to *Helicobacter pylori* VacA and CagA and gastric diseases in Chile», *Journal of Medical Microbiology*, 51:300-304, 2002

Santiago, Chile (**especial para SIC**)

La serología cuantitativa para *Helicobacter pylori* es una herramienta útil para monitorear el éxito de una terapia antibiótica en pacientes con úlcera duodenal. La reducción del 45% de los niveles de anticuerpos al 4to. mes postratamiento se correlacionó con el éxito terapéutico.

RESUMEN

El frecuente uso de terapias antibióticas para erradicar el *Helicobacter pylori* (*Hp*) en pacientes con úlcera duodenal (UD) hace necesario contar con sistemas para confirmar el éxito terapéutico. En este estudio se diseñó y aplicó ELISA a fin de evaluar la erradicación de *Hp* después del tratamiento antibiótico. Para ello se monitorearon los títulos de anticuerpos IgG contra *Hp* en 107 pacientes con UD. Del total, 61 recibieron amoxicilina, metronidazol, subsalicilato de bismuto y omeprazol, y 46 sólo omeprazol. Luego del tratamiento, 49 pacientes bajo terapia antibiótica lograron erradicar el *Hp* y 58 persistieron colonizados (12 en quienes la terapia antibiótica fracasó y todos los tratados con omeprazol). De acuerdo con los resultados, los pacientes que alcanzaron la erradicación del *Hp* exhibieron una caída sostenida de los títulos de anticuerpos; y en aquellos que no lograron erradicar el organismo, la caída de los títulos fue significativamente menor, incluso registrándose incrementos en algunos casos. En conclusión, la serología cuantitativa para *Hp* resultó ser una herramienta útil para monitorear el éxito de una terapia antibiótica en pacientes con UD. La reducción del 45% de los niveles de anticuerpos al 4to. mes postratamiento se correlacionó con el éxito terapéutico.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, úlcera duodenal, ELISA, anticuerpos, terapia antibiótica, erradicación de *Helicobacter pylori*.

SUMMARY

To assess the effectiveness of the increasing use of antibiotic therapy to treat *Helicobacter pylori* (*Hp*) in duodenal ulcer (DU) patients or other gastric pathologies the clinician should have diagnostic tools able to determine treatment success or failures. In the present study an ELISA was applied to evaluate the eradication status after antibiotic treatment. The levels of IgG antibodies to *Hp* were determined in 107 DU patients, from these, 61 received quadruple therapy, amoxicillin, metronidazole,

bismuth- subsalicylate plus omeprazole and 46 a monotherapy with omeprazole. After the antibiotic treatment 49 patients eradicated *Hp* and 58 persisted colonized, 12 in whom antibiotic therapy failed and 46 that received omeprazole alone. The serologic follow-up revealed that patients that eradicated *Hp* maintained a consistent drop in serum antibody titers. DU patients who failed to eradicate *Hp* had a discrete antibody titer reduction, moreover, in some of them their antibody titers increased. In conclusion, the quantitative serology for *Hp* was useful to confirm therapy success in patients with DU. The follow up study revealed that if by month four the antibody drop was 45% or more the treatment would be considered a success.

Keywords: *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, ELISA, antibodies, antibiotic therapy *Helicobacter pylori* eradication.

La infección con *Helicobacter pylori* (*Hp*) es probablemente una de las más frecuentes en el mundo. Se estima que gran parte de la población mundial se encuentra colonizada por este agente que causa úlcera péptica, gastritis y algunos tipos de cáncer gástrico.¹⁻³ La epidemiología de las enfermedades causadas por *Hp* muestra que la infección ocurre a edades más tempranas y es más prevalente (90% o más) en las áreas de mayor pobreza. En cambio, en las regiones industrializadas la prevalencia es menor (30%) y la primoinfección ocurre en los adultos jóvenes.³⁻⁵ De acuerdo con un consenso, se ha establecido que los pacientes con úlcera duodenal colonizados por *Hp* deben recibir tratamiento antibiótico.⁶ Actualmente están disponibles numerosos esquemas terapéuticos altamente efectivos. Los llamados de primera línea combinan el uso de un inhibidor de la bomba de protones con dos antibióticos (amoxicilina, claritromicina o metronidazol) y sales de bismuto.^{7,8} En particular, se ha definido que con esta terapia se logran altas tasas de erradicación, entre 80% y 100%.

La segunda línea de tratamiento es escogida en forma empírica y consiste en cambiar uno de los antibióticos administrados inicialmente por metronidazol o claritromicina según sea el caso. La tercera línea de tratamiento se basa exclusivamente en estudios previos de resistencia a los antibióticos de la cepa infectante.⁹ El tratamiento antibiótico erradica al agente, conduce a la cicatrización de la úlcera duodenal e induce mejoría clínica y disminución significativa de las tasas de recidiva.¹⁰ El éxito de la terapia basada en las combinaciones de primera y segunda línea se ha visto comprometido por la aparición de cepas resistentes.^{11,12} Con el incremento de la resistencia informado recientemente, se ha hecho necesario desarrollar herramientas para confirmar sin lugar a dudas la erradicación del agente. En esta circunstancia, la clínica no es de utilidad puesto que con cualquier terapia antibiótica asociada a omeprazol se consigue rápidamente la mejoría clínica, lo cual no necesariamente implica erradicación del agente. Los métodos actualmente disponibles para evidenciar la erradicación de *Hp* del estómago tienen el inconveniente de ser invasivos, es decir necesitan una endoscopia para obtener las biopsias de antro y cuerpo. Con las biopsias se realizan los ensayos de la ureasa, la microscopia y los cultivos.¹³ Existen algunas alternativas no invasivas para confirmar el éxito terapéutico. El test de la urea espirada es el mejor, pero el equipamiento para su realización es caro y por ello no siempre está disponible en áreas subdesarrolladas.¹⁴ La serología es la otra alternativa. Tiene menor costo y es mejor tolerada por el paciente, pero requiere cuidadosa estandarización para obtener resultados confiables.¹⁵⁻¹⁸ A través de este ensayo se puede evidenciar la caída de los títulos de anticuerpos específicos para *Hp* que se produce luego de una terapia exitosa (erradicación del agente). La aplicación de esta metodología, sin embargo, tiene limitaciones tales como el empleo de preparaciones antigénicas locales, la necesidad de una cuidadosa validación del método a nivel local y, en particular, la adecuada selección del antígeno capturador usado en los ensayos. Es decir, presupone un importante esfuerzo de investigación a nivel de distintas localidades y no basta con adquirir productos provenientes de empresas transnacionales.

Considerando que Chile presenta alta prevalencia de infección por *Hp*¹⁹ y en consecuencia altas tasas de enfermedades gástricas, úlceras, gastritis y cáncer, en nuestro laboratorio se realizó un estudio prospectivo destinado a evaluar la utilidad diagnóstica del monitoreo de los anticuerpos IgG para *Hp*. El estudio se centró en la aplicación de ELISA para *Hp* como herramienta confirmatoria de la erradicación del agente en pacientes con úlcera duodenal tratados con terapia antibiótica. El ELISA fue previamente estandarizado en nuestro laboratorio.²⁰ El protocolo incluyó un panel de sueros de individuos no colonizados, necesario para definir el valor de corte (infección, título < 1:600).

En el estudio fueron analizados 107 pacientes (entre 20 y 60 años, promedio 42 años), colonizados por *Hp*, que presentaban úlcera duodenal confirmada mediante el estudio de biopsia gástrica (cultivo, ureasa y microscopia positiva). La presencia y título de anticuerpos séricos para *Hp* se evaluó prospectivamente mediante ELISA en el ingreso al estudio, a los 28 días, y a los 4, 8 y 12 meses postratamiento. El título correspondió a aquella dilución del suero que dio una lectura de densidad óptica (DO) de 0.15 ± 0.05 . Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a dos grupos. El grupo experimental quedó compuesto por 61 pacientes que recibieron terapia antibiótica específica: amoxicilina (500 mg po q8h), metronidazol (250 mg po q8h), subsalicilato de bismuto (525 mg po q6h por 4 semanas) y omeprazol (20 mg po q24h).

De éstos, en 49 se erradicó el *Hp* y en 12 no se observó respuesta a la terapia. El grupo control, compuesto por 46 pacientes, recibió monoterapia sólo con omeprazol.

Se consideró que el agente había sido erradicado cuando el test de ureasa, microscopia y el cultivo de biopsias gástricas fueron negativos. Si bien el objetivo del presente estudio no fue evaluar la eficacia del tratamiento, se obtuvo una tasa de erradicación del 78%.¹⁰ Además de los ELISA, en 14 pacientes con erradicación del organismo se efectuaron estudios de Western blot con el objetivo de comprobar si la presencia o ausencia de bandas se correlacionaba con los cambios en la respuesta inmune detectada por ELISA.

Los resultados del ELISA obtenidos al analizar los sueros al ingreso del estudio no mostraron diferencias en los promedios de títulos de anticuerpos entre los grupos. Al ingreso, 105/107 (98%) pacientes con úlcera duodenal resultaron seropositivos para *Hp*. Los títulos de anticuerpos IgG específicos oscilaron entre 1:600 y 1:25.000; sin embargo, la gran mayoría (79/107, 74%) mostró títulos superiores a 1:3.000. Sólo 2 individuos no presentaron respuesta ya que pese a estar colonizados carecían de anticuerpos para *Hp* (seronegativos, títulos < 1:600).

Los pacientes tratados y que erradicaron el *Hp* (n = 49) presentaron una caída sostenida de sus títulos de IgG específicas. A los 28 días, y a los 4, 8 y 12 meses de seguimiento, los anticuerpos cayeron en promedio 15%, 62%, 74%, y 76%, respectivamente, resultados que coinciden con los observados en países desarrollados.^{15-17,21} Esta caída alcanzó significación ($p < 0,0005$) al cuarto mes postratamiento (disminución de 45% de los títulos iniciales), con sensibilidad del 86% y especificidad del 90%; ello es indicativo del éxito de la terapia.

Los pacientes en quienes la terapia antibiótica fracasó mostraron disminución significativamente menor de los títulos de anticuerpos; en promedio, la caída fue del 6%, 15%, 25% y 31% a los 28 días, y a los 4, 8 y 12 meses postratamiento. El fenómeno probablemente refleja disminución temporal de la densidad bacteriana en el epitelio gástrico como respuesta al tratamiento aplicado.

Por otro lado, en el grupo tratado con omeprazol, sólo 4 de 46 pacientes mostraron leve caída en los títulos de IgG al 4to. mes de seguimiento, pero esta nunca fue superior al 20% de su nivel basal. En alguno de ellos, por el contrario, los títulos aumentaron.

A los doce meses de seguimiento, se observó que el 46% (22/48) de los pacientes que erradicaron *Hp* se hicieron seronegativos, es decir sus títulos estaban por debajo del nivel de corte para sueros de individuos chilenos. Esta situación fue más frecuente en pacientes con niveles séricos basales más bajos en el ingreso al protocolo. Por el contrario, ninguno de los pacientes en que la terapia anti-*Hp* fracasó se hizo seronegativo luego de un año.

Un aspecto importante a considerar en los ensayos serológicos es la variación de los niveles de anticuerpos para *Hp* entre los distintos pacientes de un mismo grupo. A ello contribuyen factores muy diversos, tales como la cepa infectante, la edad, la densidad de la colonización, la severidad de la patología, etc. Un análisis en que se agrupó a los pacientes de acuerdo con sus títulos al inicio del estudio reveló que la disminución en el título de anticuerpos en los pacientes que lograban erradicar el organismo no era dependiente de su título al ingreso.

Los ensayos de Western blot permitieron identificar al menos 8 epítopes, que fueron siempre reconocidos por anticuerpos. Sus masas moleculares fueron calculadas aproximadamente en 128, 83, 72, 66, 58, 38, 31 y 22 kDa. El estudio prospectivo de sueros mediante inmunoblot mostró que la caída del título coincidió con una clara pérdida de la reactividad al blot, aunque muchas de las bandas persistían, con menor intensidad, hasta los doce meses. En particular, el estudio demostró que anticuerpos para dos proteínas asociadas a la virulencia de *Hp*, CagA y VacA, estaban presentes al ingreso en el 98% (88/90) y 94% (85/90) de los sueros analizados. Así como ha sido descrito por otros investigadores,^{22,23} los ensayos de Western blot demostraron utilidad para diagnosticar infección por *Hp*. Sin embargo, en las condiciones realizadas, el ensayo no permitió definir erradicación de *Hp*; aunque hubo disminución de la reactividad de las bandas, no se observó la desaparición de alguna de ellas que pudiera ser indicadora de erradicación del germen. Si se quisiera usar esta herramienta como base de diagnóstico para evaluar el tratamiento, sería necesario establecer condiciones experimentales de acuerdo con el título de cada suero.²⁴ Con respecto a la serología como método para definir la erradicación de *Hp*, parece adecuada pero presenta ciertas limitaciones. Una de ellas está relacionada con el tiempo: aunque algunos pacientes tienen una caída cercana al 45% en el 4to. mes, se debe esperar hasta a los 8 meses para confirmar la ausencia de *Hp*, lo que disminuye su aplicación práctica. Otra es que las muestras al ingreso y de seguimiento deben ser analizadas concomitantemente para minimizar la variabilidad de los ensayos.

Estudios recientes realizados en nuestro laboratorio, en los que se compararon las respuestas inmunes frente a antígenos de los estados morfológicos bacilar y cocoide de *Hp* mediante inmunoensayos, revelaron similar comportamiento entre las respuestas a ambos preparados antigénicos, sin diferencias significativas.²⁵ En resumen, la serología cuantitativa (determinación de títulos) para *Hp* aquí presentada fue una herramienta útil para monitorear el éxito de una terapia antibiótica en pacientes ulcerosos, en un área geográfica con alta prevalencia de infección por este agente.

La reducción del 45% de los niveles de anticuerpos al 4to. mes postratamiento se correlacionó con el éxito terapéutico.

BIBLIOGRAFIA

1. Foreman, D. and Eurogast Study Group. 1993. An International association between *Helicobacter pylori* infection and gastric ulcer. *Lancet*. 341: 359-362.
2. Parsonnet, J., Hansen S., Rodríguez, L., et al. 1994. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med*. 330: 1267-1271.
3. Feldman, RA, Eccersley, AJ. and Hardie JM. 1998. Epidemiology of *Helicobacter pylori*: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. *Br Med Bull*. 54: 39-53.
4. Hopkins, R., Ferrecio, C., Ovalle, J., et al. 1993. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables may serve as one route of transmission. *J. Infect Dis*. 168: 222-226.
5. Everhart, J., Kruszon-Moran, D., Perez-Perez, G., et al. 2000. Seroprevalence and ethnic differences in *Helicobacter pylori* infection among adults in the United States. *J. Infect Dis*. 181: 1359-1363.
6. Passaro, DJ., Chosy, EJ., Parsonnet, J. 2002 *Helicobacter pylori*: Consensus and Controversy. *Clin Infect Dis*. 35: 298-304.
7. Dore MP, Graham DY, Mele R, et al. 2002 Colloidal bismuth subcitrate-based twice-a-day quadruple therapy as primary or salvage therapy for *Helicobacter pylori* infection *Am J Gastroenterol*. 97:857-860.
8. de Boer, WA. And Tytgat, GN. 2000. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ*. 320: 31-4.
9. Beales, I. 2001. Efficacy of *Helicobacter pylori* eradication therapies: a single center observational study. *BMC Gastroenterology*. 1:7.
10. Figueroa, G., Acuña, R., Troncoso, M., et al. 1996. Low *H. pylori* re-infection rate after triple therapy in Chilean duodenal ulcer healing. *Ann. Intern Med*. 91: 1395-1399.
11. Mendz, G. and Mégraud F. 2002. Is the molecular basis of metronidazole resistance in microaerophilic organisms understood?. *Trends Microbiol*. En prensa.
12. Alarcon, T. Alarcon T, Domingo D, Lopez-Brea M. 1999. Antibiotic resistance problems with *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents*. 12:19-26.
13. Portell, P., Figueroa, G., Toledo, MS., y cols. 1996. Estudio prospectivo de erradicación de *Helicobacter pylori* en ulcerosos duodenales: análisis de biopsias de antro y cuerpo gástrico. *Rev Med Chile*. 124: 21-25.
14. Rauws, EA., Royen, EA., Langerberg, W., et al. 1989. 14C Urea breath test for non-invasive detection of *C. pylori* gastritis. *GUT*. 30: 798-803.
15. Pérez-Pérez, GI., Cutler, AF., Blazer, MJ., et al. 1997. Value of serology as a non-invasive method for evaluating the efficacy of treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Infect Dis*. 25: 1038-1043.
16. Hirchl, AM., Brandstätter, G., Dragosics, B., et al. 1993. Kinetics of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti-*Helicobacter pylori* chemotherapy. *J Infect Dis*. 168: 763-768.
17. Ho, B., Marshall, BJ. 2000. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Serologic testing. *Gastroenterol Clin North Am*. 29: 853-862.
18. Crabtree, J., Shallcross, H., Wyatt, J. 1991. Evaluation of a commercial ELISA for serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Pathol*. 44: 326-328.
19. Figueroa, G., Acuña, R., Troncoso, M., et al. 1997. *Helicobacter pylori* infection in Chile. *Clin Infect Dis*. 25: 983-989.
20. Figueroa, G., Troncoso, M., Portell, P., et al. 1993. Prevalence of immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in Chilean individuals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 12: 795-797.
21. Cutler, A., Schubert, A. and Schubert, T. 1993. Role of *Helicobacter pylori* serology in evaluating treatment success. *Dig Dis Sciences*. 12: 2262-2266.

22. Aucher, P., Petit, ML., Mannant, PR., et al. 1998. Use of immunoblot assay to define serum antibody patterns associated with *Helicobacter pylori* infection and with H. pylori-related ulcers. *J Clin Microbiol.* 36: 931-936.
23. Rocha, G., Oliveira, A., Queiroz, D., et al. 2000. Immunoblot analysis of humoral immune response to *Helicobacter pylori* in children with and without duodenal ulcer. *J Clin Microbiol.* 38: 1777-1781.
24. Voland, P., Weeks, DL., Vaira, D., et al. 2002. Specific identification of three low molecular weight membrane-associated antigens of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther.* 16: 533-544.
25. Figueroa, G., Faúndez, G., Troncoso, M., et al. 2002. Immunoglobulin G antibody response against coccoid *Helicobacter pylori* forms. *Clin Diagn Lab Immunol.* En prensa

TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE: REVISIÓN DE ESTUDIOS ALEATORIZADOS CONTROLADOS



Columnista Experto SIIC
Dr. Ron Akehurst, BSc

Otro trabajo publicado: Health-Related Quality of Life and Cost Impact of Irritable Bowel Syndrome in a U.K. Primary Care Setting *Pharmacoeconomics* 20(7):455-462, 2002

Sheffield, Reino Unido (*especial para SIIC*)

Es bajo el porcentaje de estudios aleatorizados controlados sobre la eficacia de las terapias del síndrome de intestino irritable que cumplen con los criterios de calidad.

Resumen: El síndrome de intestino irritable (SII) es un trastorno crónico frecuente asociado con discapacidad y consumo de recursos médicos significativos. El propósito del presente artículo comprende la revisión y análisis de trabajos aleatorizados y controlados ya publicados que evalúan la eficacia clínica de las intervenciones en el SII entre 1997 y 1998. Con tal objetivo se efectuó una búsqueda bibliográfica para identificar tales estudios. En total se identificaron 45 ensayos que describieron estudios de esas características y, de éstos, 6 cumplieron con los 3 criterios utilizados para evaluar la calidad de trabajos aleatorizados controlados descritos por Jadad y colaboradores [1].

Estos criterios comprenden descripción adecuada de la aleatorización, doble ciego y definición de las suspensiones y deserciones. Llegamos a la conclusión de que existen pocos ensayos que ofrezcan evidencia convincente de eficacia en el tratamiento del complejo sintomatológico del SII. La presente reseña destaca que las futuras investigaciones deberán incluir estudios bien diseñados que describan el método de aleatorización, empleen criterios diagnósticos internacionalmente aprobados y que sean a doble ciego controlados con placebo. También son necesarias medidas de resultados claras y bien definidas. La inclusión de criterios de calidad de vida permite la comparación entre trabajos en áreas terapéuticas diferentes. El desarrollo de tales estudios ayudará a superar algunas de las dificultades identificadas en la presente reseña.

Palabras claves: síndrome de intestino irritable, ensayos aleatorizados controlados, criterio de Jadad, eficacia clínica

Abstract: Irritable bowel syndrome (IBS) is a common chronic disorder that is associated with significant disability and health care costs. The purpose of this paper is to review and assess published randomised controlled trials examining the clinical effectiveness of interventions for IBS for 1987-1998. A literature search was conducted to identify randomised controlled trials of IBS treatments. 45 studies were identified that described randomised controlled trials and, of these, 6 fulfilled all three criteria used to assess the quality of randomised controlled trials as described by Jadad et al. [1].

These criteria are: adequate description of randomisation, double blinding and description of withdrawals and drop-outs. It is concluded that there are few studies which offer convincing evidence of effectiveness in treating the IBS symptom complex.

This review strongly suggests that future work should include well-designed trials that: describe the randomisation method, use internationally approved diagnostic criteria, are double-blinded and placebo controlled studies. Clear, well defined outcome measures are necessary. The inclusion of quality of life measures allows comparison between trials in different therapeutic areas. Conducting such studies will help to overcome some of the difficulties identified in this review.

Key Words: irritable bowel syndrome, randomised controlled trials, Jadad's criteria, clinical effectiveness

EXTENSIÓN DEL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE: RESEÑA DE ESTUDIOS ALEATORIZADOS CONTROLADOS

El síndrome de intestino irritable (SII) es el trastorno intestinal funcional más frecuente y afecta a aproximadamente el 20% de la población. Es una entidad que se caracteriza por dolor abdominal asociado con defecación, o modificaciones en el hábito intestinal y con características de alteraciones de la evacuación y distensión en ausencia de anomalías demostrables. Existen 3 subgrupos: un tercio de los pacientes experimenta constipación, un tercio presenta diarrea y el resto sufre constipación y diarrea de forma alternativa. Una amplia variedad de intervenciones son utilizadas en la terapia del SII e incluyen antiespasmódicos, agentes que incrementan el volumen de la masa fecal, drogas psicotrópicas y psicoterapias. Una cantidad importante de investigaciones se llevó a cabo para determinar la eficacia de estas intervenciones. Varias reseñas sobre tratamientos del SII han sido publicadas (Pace y colaboradores [2], Pittler y Ernst [3], Poynard y colaboradores [4]) y todas destacaron las fallas en el diseño de los estudios sobre SII. Más recientemente, Jailwala y colaboradores [5] publicaron una reseña sistemática de trabajos aleatorizados controlados sobre terapias farmacológicas para el SII. Los autores informan la existencia de evidencia que sustenta la eficacia de los relajantes de del músculo liso cuando el dolor abdominal es el síntoma predominante. También comunicaron que la loperamida es eficaz en el terapia de la diarrea. Nuevamente, en esta revisión, los autores mencionan las limitaciones metodológicas de los estudios sobre SII.

El propósito de nuestro artículo fue evaluar la calidad de los trabajos aleatorizados controlados publicados que estudian la eficacia de los terapias para el SII. Nuestra intención no fue la de realizar una reseña sistemática de los estudios sobre SII, sino centrarnos en la evaluación de la calidad de los ensayos aleatorizados controlados publicados sobre las terapias del SII. La búsqueda bibliográfica se realizó en la Biblioteca Cochrane, Base de Datos de Resúmenes de Reseñas sobre Eficacia (DARE), Medline y Embase.

Sólo fueron incluidos los ensayos considerados realmente aleatorizados y publicados en revistas evaluadas por pares. Los publicados en inglés, francés, alemán, italiano y castellano formaron parte del análisis. En total identificamos 45 estudios sobre terapias del SII que describieron ensayos aleatorizados controlados (EAC). Las medidas de resultados utilizados en los trabajos incluyeron la evaluación global de los síntomas por parte del paciente o el médico, dolor abdominal, constipación, diarrea y distensión abdominal.

Los criterios de Jadad [1] fueron aplicados para evaluar la calidad de estos estudios. Los criterios incluyen descripción adecuada de la aleatorización, doble ciego y descripción de las suspensiones y deserciones. Los criterios de Jadad conforman una lista de valoración reconocida y ampliamente aceptada utilizada en la evaluación de la calidad de vida de los EAC. También están disponibles otras listas de valoración más complicadas. Sin embargo, parece que muy pocos trabajos pudieran responder a una lista de criterios más rigurosa. De los 45 EAC identificados, sólo 6 alcanzaron los 3 criterios definidos por Jadad y colaboradores. Respecto a la aleatorización, sólo 6 de los 45 estudios describieron el método utilizado.

Aunque no fue informado, los otros ensayos probablemente hayan utilizado un método apropiado de aleatorización y simplemente no lo describieron. El método de aleatorización es el componente de los criterios de Jadad que la mayoría de los estudios no cumple. El empleo de métodos de aleatorización inapropiados pueden introducir una fuente de distorsión. Por lo tanto, es importante que los trabajos informen el método empleado en la distribución aleatoria de los pacientes.

Sólo 4 de los 45 estudios no se efectuaron a doble ciego. El doble ciego, donde tanto el investigador como el paciente desconocen el tratamiento recibido, es particularmente importante en los ensayos sobre SII debido a que la respuesta al placebo es muy elevada. En las intervenciones con administración de comprimidos, el doble ciego presenta pocas dificultades dado que el placebo puede tener la misma apariencia que la droga en estudio. Las intervenciones psicoterapéuticas implicarían mayores dificultades respecto al doble ciego. Aunque los pacientes y terapeutas no podrían desconocer el tipo tratamiento, el empleo de un asesor que sólo ignorara podría ser incorporado en el diseño del trabajo.

La descripción de suspensiones y deserciones comprenden el tercer componente de los criterios de Jadad. Sólo 1 de los 45 estudios no ofreció información respecto de lo anterior. Los pacientes suspenden o abandonan los ensayos por diversos motivos. Por ejemplo, la terapia puede producir efectos adversos desagradables que inducen al paciente a suspender el terapia. Los pacientes

también pueden desilusionarse del tratamiento cuando consideran que no se producen mejorías en su patología. En contraste, si los síntomas desaparecen, la terapia puede ser interrumpida debido a que se considera que ya no es necesaria. Los pacientes con SII frecuentemente experimentan síntomas cíclicos; por lo tanto, pueden estimar que el tratamiento no es necesario durante los períodos en que se encuentran asintomáticos.

En nuestra revisión, sólo 6 de los 45 EAC identificados alcanzaron los 3 componentes de los criterios de Jadad. De estos 6 estudios, 2 trataron sobre agentes que incrementan el volumen de la masa fecal, 2 sobre drogas antiespasmódicas o anticolinérgicas y 2 sobre agentes antidepresivos o psicotrópicos. El hecho de que sólo 6 trabajos hayan cumplido con un conjunto relativamente mínimo de criterios indica que la calidad de la evidencia actual es pobre.

Desde nuestra reseña, varios EAC sobre terapias del SII han sido publicados. Por ejemplo, Camilleri y colaboradores [6] informaron sobre un importante EAC a doble ciego con alosteron. Este estudio comprendió los 3 componentes de los criterios de Jadad ya que informó un método de aleatorización apropiado, utilizó doble ciego y ofreció una descripción adecuada de interrupciones y abandonos. Otro trabajo reciente realizado por Müller-Lissner y colaboradores [7] investigó la eficacia del tegaserod para la terapia del SII. El estudio también cumplió con los 3 componentes de los criterios de Jadad. Ambos ensayos comunican resultados prometedores para el alivio de los síntomas del SII.

Aparte de los componentes de los criterios de Jadad, es importante que los estudios sobre SII también incorporen otros aspectos importantes del diseño de trabajos. Los estudios sobre SII deben durar un mínimo de 12 semanas para que permita tomar en cuenta la naturaleza cíclica del SII. Todos los pacientes de un ensayo sobre SII deben provenir del mismo ámbito y ser agrupados de acuerdo con la intensidad y duración de los síntomas. También son necesarias medidas de resultados claras y bien definidas.

Por último, todos los pacientes deben ser sometidos a vigilancia activa durante la extensión del estudio.

En el presente, existen pocos trabajos que ofrezcan evidencia convincente acerca de la eficacia en el tratamiento del complejo sintomatológico del SII. En nuestro estudio, aunque 45 EAC sobre SII fueron identificados, pocos fueron de buena calidad. Los criterios de Jadad proveen una herramienta simple para valorar de manera crítica la calidad de trabajos sobre SII, aunque los investigadores deben considerar cuidadosamente diversos aspectos del diseño del estudio cuando investigan terapias para el SII.

Referencias bibliográficas

1. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJM, Gavaghan DJ, McQuay HG. Assessing the quality of reports of randomised clinical trials: is blinding necessary? *Controlled Clinical Trials* 1996;17:1-12.
2. Pace F, Coremans G, Dapoigny M, Muller-Lissner SA, Smout A, Stockbruegger RW, Whorwell PJ. Therapy of irritable bowel syndrome. An overview. *Digestion* 1995;56:433-442.
3. Pittler MH, Ernst E. Peppermint oil for irritable bowel syndrome: A critical review and metaanalysis. *American Journal of Gastroenterology* 1998;93:1131-1135.
4. Poynard T, Naveau S, Mory B, Chaput JC. Metaanalysis of smooth muscle relaxants in the treatment of irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 1994;8:499-510.
5. Jailwala J, Imperiale TF, Kroenke K. Pharmacologic treatment of the irritable bowel syndrome: a systematic review of randomised controlled trials. *Annals of Internal Medicine* 2000; 133(2): 136-147.
6. Camilleri M, Chey WY, Mayer EA, Northcutt AR, Heath A, Dukas GE, Mccorley D, Mangel AM. A randomised controlled clinical trial of the serotonin type 3 receptor antagonist alosteron in women with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Archives of Internal Medicine* 2001; 161 (14): 1733-1740.
7. Müller-Lissner SA, Fumagalli I, Bardhan KD, Pace F, Pecher E, Nault B, Rüegg P. Tegaserod, a 5HT₄ receptor partial agonist, relieves symptoms in irritable bowel syndrome patients with abdominal pain, bloating and constipation. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2001; 15 (10): 1655-1666

DOSIS DE REFUERZO Y MONITORIZACIÓN SEROLOGICA TRAS LA VACUNACIÓN DE LA HEPATITIS B.

Columnista Experto de SIIC

Dr. José Ramón Pallás Álvarez



Colaborador Honorífico del Area de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria. Subdirector Médico Centro Penitenciario de Burgos, España
en colaboración con el doctor

Javier Llorca Díaz, Profesor Titular del Area de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria

Otro trabajo publicado: Pallás JR, Gómez Holgado MS, Llorca J, Delgado M: «Vacunación de la hepatitis B. Indicaciones del test serológico postvacunal y de la dosis de refuerzo », Revista Española de Salud Pública 74:475-482, 2000

Santander, España. **(especial para SIIC)**

En individuos inmunocompetentes no parece necesario el control serológico para aplicar dosis de refuerzo de la vacunación de la hepatitis B, al menos en los primeros 5-10 años. El seguimiento posvacunación sólo es necesario en inmunodeprimidos y en pacientes con hepatitis crónica por virus C.

RESUMEN

La vacunación estándar (con 3 o 4 dosis) de la hepatitis B es efectiva en individuos inmunocompetentes, ya que permite en la gran mayoría de los casos un título de antiHBs protector (>10 UI/l). Sin embargo, existen diversos grupos de riesgo en los que las tasas de seroconversión son menores (fundamentalmente en inmunodeprimidos). Pautas de vacunación con el doble de dosis y la administración intradérmica de la vacuna recombinante se han postulado como alternativas para asegurar una seroprotección vacunal. En todo caso, parece necesario realizar un seguimiento serológico posvacunación en grupos de riesgo, donde la dosis de refuerzo está indicada y generalmente es efectiva. Así, en los pacientes en hemodiálisis, HIV positivos y hepatitis crónica por virus C existen intentos de protocolización de la dosis de refuerzo, debido al alto riesgo de infección por HBV. No obstante, hacen falta estudios adicionales ya que no existe consenso unánime sobre el momento y la periodicidad para utilizarla.

Palabras clave: vacuna de hepatitis B, hepatitis B/serología, hepatitis B/inmunología, dosis de refuerzo.

ABSTRACT

The standard hepatitis B vaccination (with 3 or 4 doses) is effective among immune-competent subjects, since elicit protective anti-HBs levels (above 10 UI/l) in most people. Nevertheless, there are various high-risk groups whose seroconversion status is lower (especially to subjects with immunodeficiency).

Schedule vaccination with double doses and intradermal administration of recombinant hepatitis B vaccine has been postulate as alternatives to make sure seroprotective vaccination. In any case, postvaccination antibody testing seems necessary among high-risk groups, in which the booster dose has been recommended and is generally effective. Like this, in patients receiving hemodialysis, anti-HIV-1 seropositives, and chronic hepatitis C there are purposes of planning booster doses, due to high risk to HBV infection.

Additional studies are necessary and unanimous consensus does not exist about to the appropriate timing and periodicity for administration.

Key words: hepatitis B vaccine, hepatitis B/serology, hepatitis B/immunology, booster dose.

INTRODUCCION

La efectividad de la vacuna de la hepatitis B ha sido ampliamente demostrada, en base a la respuesta inmune tras la administración del antígeno de superficie de la hepatitis B (HbsAg).¹ Aunque la política de vacunación más extendida está basada en el uso de tres dosis (0, 1, y 6 meses), existen países que aplican una pauta con 4 dosis (0, 1, 2, 12 meses), lo que confiere una inmunidad más duradera.²

El título de anticuerpos tras la administración de las tres dosis oscila entre 0 Unidades Internacionales/litro (UI/l) y más de 10 000 UI/l, siendo considerados (salvo en el Reino Unido) como títulos protectores los superiores a 10 UI/l.³⁻⁵ Tras la vacunación primaria con 3 o 4 dosis existen individuos cuyo grado de protección inmunológica no es la adecuada. Esta situación plantea muchos interrogantes en la comunidad científica: ¿Es necesaria la monitorización serológica? ¿Si es así, cuándo realizarla? ¿Cuándo y en qué casos se debe aplicar dosis de refuerzo? Estas y otras cuestiones tratan de ser abordadas en este artículo.

FUNDAMENTOS INMUNOLOGICOS

Tras la vacunación primaria se produce una proliferación clonal con elevación de los linfocitos B memoria (fundamentalmente a expensas de la tercera dosis, la cual actúa inmunológicamente como una dosis de refuerzo), que pueden diferenciarse y producir anticuerpos antiHBs en pocos días.^{6,7} La cinética de la respuesta humoral a la estimulación antigénica está fuertemente correlacionada con la respuesta celular tipo T.⁸ Los linfocitos T precursores se incrementan en mayor medida en aquellos individuos que reciben dosis suplementaria de vacuna.⁹ Cuanto mayor inicialmente es el nivel de antiHBs obtenido, mayor es la duración de la protección serológica.^{10,11} La duración de la protección de la vacuna puede influenciarse también por repetidas exposiciones al HBV.¹² La memoria inmunológica de respuesta puede mantenerse a pesar de existir niveles indetectables de antiHBs.¹³ Por consiguiente, la duración real y efectiva de la memoria inmunológica es todavía una incógnita.^{14,15}

SEGUIMIENTO POSVACUNACION

El título de antiHBs desciende progresivamente tras la vacunación primaria.¹⁶ El test serológico posvacunación no suele realizarse en las campañas de vacunación infantil. Cuando se realiza el test se pretende mantener los niveles de antiHBs por encima de 10 UI/l, y por tanto administrar dosis de refuerzo.¹⁷ El interrogante está en discernir cuál es la protocolización más idónea de los test serológicos y la dosis de refuerzo, tal como han realizado algunos autores^{18,19} [tabla 1].

TABLA 1. Guías para la dosis de refuerzo según los títulos de anti-HBs alcanzados.

REFERENCIA	TÍTULOS	DOSIS DE REFUERZO
Iwarson (1993)	anti-HBs < 10 UI/l	inmediatamente
	anti-HBs 10-100 UI/l	a los 6-12 meses
	anti-HBs 101-1000 UI/l	después de 1 año
	anti-HBs 1000-10 000 UI/l	después los 3,5 años
	anti-HBs >10 000 UI/l	después de 7-10 años
Tilzey et al (1994)	anti-HBs 10-500 UI/l	inmediatamente
	anti-HBs 500-4000 UI/l	después de 5 años
	anti-HBs >4000 UI/l	después de 10 años

1. Dosis de refuerzo en los no respondedores

Se consideran que no responden aquellos individuos que tras la vacunación primaria presentan niveles de antiHBs por debajo de 10 UI/l,²⁰ y de baja respuesta a aquellos vacunados con niveles entre 10-100 UI/l. Se postula como causa fundamental de esta situación inmunológica la ausencia de respuesta humoral durante la vacunación primaria. Los defensores de la dosis de refuerzo se apoyan en diversos argumentos. Por un lado, consideran que ésta puede actuar como estímulo de la respuesta humoral,²¹ con un rápido aumento de los niveles de anticuerpos desde el 4º día.⁷ También argumentan el riesgo de desarrollar la hepatitis B en los no que responden.²² La mayoría de los estudios ha demostrado la eficacia de la dosis de refuerzo, siendo ésta mayor en los más jóvenes.^{21,23} Los detractores, sin embargo, se basan en la retención de la memoria inmunológica con la vacunación primaria.²⁴ Tras realizar el seguimiento posvacunación en individuos inmunocompetentes varios años después (6.5 años), se ha observado que el 85% de los analizados tenían niveles de antiHBs seroprotectores.²⁵

2. Recomendaciones sobre la aplicación de la dosis de refuerzo

Aunque pueden ser necesarias hasta 3 dosis de refuerzo para obtener inmunoprotección,²³ no es preciso realizar un nuevo plan de revacunación con tres dosis. Por otro lado, la mayoría de los autores consideran más importante todavía el riesgo individual de infección por el HBV que la inmunidad protectora alcanzada en un momento puntual.⁷ Así, se propone administrar únicamente las dosis adicionales de refuerzo que sean necesarias en función del grupo de riesgo.^{26,27} El Grupo de Consenso Europeo sobre Inmunidad frente a la Hepatitis B ha elaborado una serie de recomendaciones prácticas sobre la dosis de refuerzo por grupos de población o grupos de riesgo.²⁸ Vamos a exponer los grupos de población más importantes.

○ Niños y adolescentes

No existe evidencia de que sea necesaria la dosis de refuerzo en este colectivo,²⁶ por lo que no se recomienda en principio. La vacunación puede realizarse incluso desde la primera semana de vida, aunque en el caso de recién nacidos pretérmino la protección conferida con 3 dosis parece ser menor.²⁹ En la pauta 0-1-6 meses de vida, se estima que la protección dura al menos 4-6 años³⁰ y puede además utilizarse combinada con otras (como la pentavalente difteria-tétanos-tosferina- HB-polio inactivada). Realizada antes de los 5 años de edad confiere una consistente protección, al menos durante 12 años.³¹ El tipo de vacuna recombinante utilizada influye en el título de antiHBs obtenido.³² Pero aunque presenten niveles indetectables de antiHBs tras la vacunación primaria, la memoria inmunológica conferida puede durar al menos 8 años.³³ Recientemente se han notificado buenos resultados con la administración intradérmica de la vacuna en edad preescolar.³⁴

○ Riesgo ocupacional y trabajadores sanitarios

La mayoría de los autores no consideran necesaria la dosis de refuerzo en este colectivo. Así, tras analizar el título de a los 3 y 13 meses de la dosis de refuerzo, se argumenta que la monitorización serológica y la dosis de refuerzo no es precisa,³⁵ en consonancia con estudios previos.^{16,36} Incluso tras analizar el título de antiHBs tras 6 o más años, se observa inmunoprotección en alto porcentaje sin necesidad de dosis de refuerzo.³⁷ No obstante, en los casos en que se realice el test serológico posvacunación y éste sea menor de 10 UI/l, se recomienda dar la dosis de refuerzo.²⁸ En estos casos, se han comunicado resultados satisfactorios utilizando la administración intradérmica de la vacuna recombinante.³⁸

○ Uso de drogas intravenosas (UDI)

La respuesta a la vacuna en este colectivo suele ser satisfactoria,³⁹ por lo que no se recomienda en principio la dosis de refuerzo. Sin embargo, en el caso de UDI con hepatitis crónica por virus C o con infección por el HIV, el número de los que no responden aumenta significativamente.^{27,28}

○ Hepatitis crónica por virus C

En este colectivo, la dosis de refuerzo permite una seroconversión entre el 74% y el 88%. Además, se postula que la administración de doble dosis de vacuna en pauta corta (0-1-2 meses) puede ser segura y efectiva, con la salvedad de los cirróticos.⁴⁰ En pacientes transplantados de hígado con cirrosis y seropositividad al HBsAg previa al trasplante, se ha investigado la eficacia de la vacunación con una pauta de refuerzo en tres ciclos de vacunación, con hasta 12 dosis (6 intramuscular y 6 intradérmica) siendo los resultados desalentadores.⁴¹

○ Inmunodeprimidos

Dado que los inmunodeprimidos responden peor a la vacunación primaria,^{42,43} se recomienda la dosis de refuerzo y test posvacunación cada 6-12 meses en HIV positivos y pacientes en hemodiálisis.²⁸ Diversos estudios sugieren dar en los infectados por el HIV el doble de la dosis vacunal habitual (40 microgramos) o regímenes con más de 3 dosis que permitan obtener mejores tasas de seroconversión.^{43,44} Se ha comunicado seroconversión transitoria al AgHBs en pacientes en hemodiálisis crónica durante las 4 primeras semanas tras la vacunación, lo que indica el alto riesgo de infección.⁴⁵ Se estima que es efectiva la dosis de refuerzo en alrededor del 50% de los pacientes.⁴⁶

○ Otros grupos de riesgo

La vacunación primaria es suficiente y efectiva para otros grupos, como los viajeros ocasionales a zonas endémicas, residentes de instituciones mentales, inmigrantes y contactos de portadores del HBsAg. Por tanto, no se recomienda la dosis de refuerzo.²⁸

A modo de conclusión, podemos decir que en individuos inmunocompetentes no parece necesaria la monitorización serológica para aplicar dosis de refuerzo, al menos en los primeros 5-10 años. El seguimiento posvacunación sólo es necesario en inmunodeprimidos con o sin infección por el HIV y en pacientes con hepatitis crónica por virus C. Aunque no existe consenso entre la comunidad científica, cada vez son mayores los intentos de protocolizar la dosis de refuerzo en estos grupos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Szmunness W, Stevens CE, Zang EA, Harley EJ, Kellner A A controlled clinical trial of the efficacy of the hepatitis B vaccine (Heptavax B): a final report. *Hepatology* 1981; 1:377-85.
2. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Immune responses to late booster doses of hepatitis B vaccine. *J Med Virol* 1985; 17: 249-254.
3. Salisbury DM, Begg NT, editores. *Immunisation against infectious disease*. London: HM Stationery Office: 1996; p. 95-108.
4. Centers for Disease Control. Recommendations of the Immunisation Practices Advisory Committee. Recommendations for protection against viral hepatitis. *MMWR* 1985; 34: 329-35.
5. World Health Organization. Informal consultation on quadrivalent diphtheria-tetanus-pertussis-hepatitis B vaccine: final report. Geneva: WHO, 1992.
6. Davidson M, Krugman S. Recombinant yeast hepatitis B vaccine compared with plasma-derived vaccine: immunogenicity and effect of a booster dose. *J Infect* 1986; 13 (suppl A): 31-8.
7. Wismans PJ, Van Hattum J, Mudde GC, Enderman HJ, Poel J, De Gast GC. Is booster injection with hepatitis B vaccine necessary in healthy responders? A study of the immune response. *J Hepatol* 1989; 8: 236-40.
8. Leroux-Roels G, Van Hecke E, Michielson W, Voet P, Hauser P, Petre J. Correlation between in vivo humoral and in vitro cellular immune responses following immunisation with hepatitis B surface antigen (HbsAg) vaccines. *Vaccine* 1994; 12: 812-18.
9. Avanzini MA, Belloni C, Soncini R, Ciardelli L, de Silvestri A, Pistorio A, Tinelli C, Maccario R, Rondini G. Increment of recombinant hepatitis B surface antigen-specific T-cell precursors after revaccination of slow responder children. *Vaccine* 2001; 19: 2819-24
10. Jilg W, Schmidt M, Zachoval R, Deinhardt F. Hepatitis B vaccination: how long does protection last? *Lancet* 1994; 2: 458.
11. Hadler SC, Francis DP, Maynard JE, Thompson SE, Judson FN, Echemberg DF, et al. Long-term immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. *N Engl J Med* 1986; 315: 209-14.
12. Bulkow LR, Wainwright RB, McMahon BJ, Parkinson AJ. Increases in levels of antibody to hepatitis B surface antigen in a immunized population. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 933-7.
13. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Immune response to hepatitis B revaccination. *J Med Virol* 1988; 24: 377-84.
14. Krugman S, Davidson M. Hepatitis B vaccine: prospects for duration of immunity. *Yale J Biol Med* 1987; 60: 333-8.
15. Stevens CE, Toy PT, Taylor PE, Lee T, Yip HY. Prospects for control of hepatitis B virus infection: implications of childhood vaccination and long-term protection. *Pediatrics* 1992; 91: 170-3.
16. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Persistence of specific antibodies after hepatitis B vaccination. *J Hepatol* 1988; 1: 201-7.
17. Zuckerman JN, Zuckerman AJ. Is there a need for boosters of hepatitis B vaccine. *Viral Hepatitis Rev* 1998; 4: 43-46.
18. Iwarson S: Strategies for immunisation against hepatitis B in western Europe. *Vaccine* 1993; 11 (suppl 1): S 18-20.
19. Tilzey AJ, Palmer SJ, Banatvala JE, Vines SK, Gilks WR. Hepatitis B vaccine boosting among young healthy adults. *Lancet* 1994; 344: 1438-40.
20. Zuckerman JN, Zuckerman AJ. Acute hepatitis B after vaccination. *Lancet* 1995; 345: 261-2.
21. Chiaromonte M, Ngatchu T, Majori S, Baldo V, Moschen ME, Renzulli G et al. Response to an extra dose of hepatitis B vaccine and specific antibody persistence in nonresponders to primary immunisation. *Scan J Gastroenterol* 1995; 30: 601-3.
22. Bortolotti F, Crivellaro C, Pornaro E, Realdi G. hepatitis B in nonresponder to hepatitis B vaccine. *Infection* 1988; 16: 119-20.
23. Clemens R, Sanger R, Kruppenbacher J, Hobel W, Stanbury W, Bock HL, et al. Booster immunization of low- and non-responders after a standard three dose after hepatitis B vaccine schedule. Results of a post-marketing surveillance. *Vaccine* 1997; 15: 349-52.
24. West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination. *Vaccine* 1996; 14: 1019-27.

25. Ayerbe MC, Perez-Rivilla A and ICOVAHB group. Assessment of long-term efficacy of hepatitis B vaccine. *Eur J Epidemiol* 2001; 17:150-6
26. Belloni C, Pistorio A, Tinelli C, Komakec J, Chirico G, Rovelli D, et al. Early immunisation with hepatitis B vaccine: a five-year study. *Vaccine* 2000; 18: 1307-11.
27. Wiedmann M, Liebert UG, Oesen U, Porst H, Wiese M, Schroeder S, et al. Decreased immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000; 31: 230-4.
28. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity?. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. *Lancet* 2000; 355:561-5.
29. Freitas da Motta MS, Mussi-Pinhata MM, Jorge SM, Tachibana Yoshida CF, Sandoval de Souza CB. Immunogenicity of Hepatitis B vaccine in preterm and full term infants vaccinated within the first week of life. *Vaccine* 2002; 20:1557- 1562.
30. Kato H, Nakata K, Hamasaki K, Hida D, Ishikawa H, Aritomi T, et al. Long- term efficacy of immunization against hepatitis B virus in infants at high-risk analyzed by polymerase chain reaction. *Vaccine* 1999; 18: 581-7.
31. Gregorek H, Madalinski K, Woynarowski M, Mikolajewicz J, Syczewska M, Socha J. The IgG subclass profile of anti-HBs response in vaccinated children and children seroconverted after natural infection. *Vaccine* 2000; 18: 1210-7.
32. Duval B, Boulianne N, De Serres G, Laflamme N, De Wals P, Masse R, et al. Comparative immunogenicity under field conditions of two recombinant hepatitis B vaccines in 8-10-year-old children. *Vaccine* 2000; 18: 1467-72.
33. Cassidy WM, Watson B, Ioli VA, Williams K, Bird S, West DJ. A randomized trial of alternative two- and three-dose hepatitis B vaccination regimens in adolescents: antibody responses, safety, and immunologic memory. *Pediatrics* 2001; 107:626-31.
34. Kurugol Z, Erensoy S, Aksit S, Egemen A, Bilgic A. Low-dose intradermal administration of recombinant hepatitis B vaccine in children: 5-year follow-up study. *Vaccine* 2001; 19:3936-9.
35. Williams JL, Christensen CJ, McMahon BJ, Bulkow LR, Cagle HH, Mayers JS, Zanis CL, Parkinson AJ, Margolis HS. Evaluation of the response to a booster dose of hepatitis B vaccine in previously immunized healthcare workers. *Vaccine* 2001; 19:4081-5.
36. Westmoreland D, Player V, Heap DC, Hammond A. Immunisation against hepatitis B-what can we expect? Results of a survey of antibody response to immunisation in persons 'at risk' of occupational exposure to hepatitis B. *Epidemiol Infect* 1990; 104: 499-509.
37. Trivello R, Chiamonte M, Ngatchu T, Baldo V, Majori S, Moschen ME, et al. persistence of anti-HBs antibodies in health care personnel vaccinated with plasma-derived Hepatitis B vaccine and response to recombinant DNA HB booster vaccine. *Vaccine* 1995; 13: 138-41.
38. Playford EG, Hogan PG, Bansal AS, Harrison K, Drummond D, Looke DF, Whitby M. Intradermal recombinant hepatitis B vaccine for healthcare workers who fail to respond to intramuscular vaccine. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23:87-90.
39. Borg L, Khuri E, Wells A, Melia D, Bregaza NV, Ho A, Kreek MJ. Methadone-maintained former heroin addicts, including those who are anti-HIV-1 Seropositive, comply with and respond to hepatitis B vaccination. *Addiction* 1999; 94: 489-493.
40. Idilman R, De MN, Colantoni A, Nadir A, Van T. The effect of high dose and short interval HBV vaccination in individuals with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:435-9.
41. Angelico M, Di Paolo D, Trinito MO, Petrolati A, Araco A, Zazza S, Lionetti R, Casciani CU, Tisone G. Failure of a reinforced triple course of hepatitis B vaccination in patients transplanted for HBV-related cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35:176-81.
42. Seaworth B, Drucker J, Starling J, Drucker R, Stevens C, Hamilton J. Hepatitis B vaccines in patients with chronic renal failure. *J Infect Dis* 1988; 157: 332-7.
43. Rey D, Krantz V, Partisani M, Schmitt MP, Meyer P, Libbrecht E, et al. Increasing the number of hepatitis B vaccine injections augments anti-HBs response rate in HIV-infected patients. Effects on HIV-1 viral load. *Vaccine* 2000; 18: 1161-5.
44. Tayal SC, Sankar KN. Impaired response to recombinant hepatitis B vaccine in asymptomatic HIV-infected individuals. *AIDS* 1994; 8: 558-9.
45. Ly D, Yee HF Jr, Brezina M, Martin P, Gitnick G, Saab S. Hepatitis B surface antigenemia in chronic hemodialysis patients: effect of hepatitis B immunization. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:138-41.
46. Peces R, Lares AS. Persistence of immunologic memory in long-term hemodialysis patients and healthcare workers given hepatitis B vaccine: role of a booster dose on antibody response. *Nephron* 2001; 89:172-6.

EVALUACION DE LA CAUSALIDAD EN EL DAÑO HEPATICO INDUCIDO POR FARMACOS, MEDIANTE DOS ESCALAS DIAGNOSTICAS: CIOMS Y MARÍA & VICTORINO (M&V)

Columnista Experta de SIIC
María Isabel Lucena, MD, PhD

Profesora Titular de Farmacología, Facultativo Especialista en Farmacología Clínica. Servicio de Farmacología Clínica, Hospital Universitario «Virgen de la Victoria», Facultad de Medicina, Universidad de Málaga, Málaga, España.



en colaboración con

Raquel Camargo (MD, PhD) y **Raúl Jesús Andrade (MD, PhD)**, de la Unidad de Hepatología, Grupo de Estudio para las Hepatopatías Asociadas a Medicamentos, Hospital Universitario «Virgen de la Victoria», **Carlos Javier Pérez-Sánchez (Estadístico)**, Departamento de Matemáticas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura, Cáceres, España, y **Felipe Sánchez De La Cuesta (MD)**, Servicio de Farmacología Clínica, Hospital Universitario «Virgen de la Victoria».

Otro trabajo publicado: Lucena MI, Andrade RJ, De la Cruz JP, Rodríguez-Mendizábal M, Blanco E, Sánchez de la Cuesta F: «Effects of silymarin MZ80 on oxidative stress in patients with alcoholic cirrhosis. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical pilot trial», *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 40(1):2-8, Ene 2002.

Málaga, España (**especial para SIIC**)

La escala estándar (CIOMS) correlaciona mejor con el diagnóstico clínico realizado por expertos en hepatotoxicidad que la escala de M&V, que discrimina mal en situaciones de daño hepático con periodo ventana prolongado, en lesión crónica o exitus.

RESUMEN

La hepatotoxicidad es un diagnóstico infrecuente dada la inexistencia de un marcador específico. Se han desarrollado diferentes escalas para aumentar el grado de certeza en la imputabilidad de una lesión hepática a un fármaco (RAH). *Objetivo.* Analizar la concordancia existente entre un método estándar (CIOMS, 1990) y otro recientemente validado (M&V, *Hepatology*, 1997) aplicados a casos de RAH remitidos a un registro. *Material y método.* De las 215 RAH idiosincrásicas remitidas siguiendo un protocolo estructurado de recolección de datos y evaluadas por tres expertos de manera independiente, se generaron 228 puntuaciones debido al uso de múltiples fármacos. Los componentes que incluyen ambas escalas son: criterios cronológicos, exclusión de causas alternativas, readministración, y conocimiento previo de la RAH en la literatura. En CIOMS se diferencia según el tipo de daño e incluye factores de riesgo, mientras que en M&V se ponderan las manifestaciones extrahepáticas. La probabilidad de un diagnóstico de RAH se expresa en una puntuación final, clasificándose la RAH en definida, probable, posible, dudosa y excluida. Para la evaluación del grado de acuerdo entre ambas escalas se utilizó el test estadístico kappa ponderada. *Resultados.* Hubo acuerdo entre ambas escalas en 42 casos (18%), correspondiente a una kappa ponderada de 0.28. Existían discrepancias de un nivel en 110 casos (48.2%) y de dos niveles en 70 casos (30.7%). Hubo ligero incremento de correlación entre ambas escalas en los casos de RAH por hipersensibilidad, con diferencia de menos de un nivel en el 72% (34 de 48 casos); la diferencia del 60% en los casos obedeció a idiosincrasia metabólica. La menor concordancia se obtuvo en los casos de colestasis. *Conclusiones.* La escala de CIOMS correlaciona mejor con el diagnóstico clínico realizado por expertos en hepatotoxicidad que la escala de M&V, que discrimina mal en situaciones de RAH con periodo ventana prolongado (por ejemplo, amoxicilina-clavulánico), en lesión crónica (colestásicas), o exitus, incrementando ligeramente su precisión para reacciones por hipersensibilidad.

Palabras clave: hepatotoxicidad, evaluación diagnóstica, escalas clínicas

SUMMARY

To compare the assessments of drug-induced liver injury obtained with two methods, the CIOMS scale and the recently validated Maria & Victorino (M&V) clinical scale, in cases submitted to a registry of hepatotoxicity. Two hundred and fifteen cases of hepatotoxicity reported with a structured reporting form were evaluated by three independent experts. Because of the use of multiple drugs 228 ratings were generated. The probability of the diagnosis was classified as definitive, probable, possible, unlikely or excluded, and evaluated for consistency with a weighted kappa statistical test. Absolute agreement between the two scales was observed in 42 cases (18%, weighted κ 0.28) with disagreement of one level in 110 cases (48.2%) and of two levels in 70 cases (30.7%). The best correlation between the two scales was obtained for drug-induced liver injury involving a suggested immuno-allergic mechanism: the disagreement was one level or less in 72% of the cases (34/48), compared with 60% of the cases (85/141) that involved a presumed idiosyncratic metabolic mechanism. The lowest agreement (6%) was observed in cases with evidence of cholestasis. No agreement was found in cases of fulminant hepatitis or death. The CIOMS scale showed better discriminative power and produced assessments closer to those of specialists. The performance of the M&V scale was poor in reactions with long latency periods (i.e., amoxicillin/clavulanic acid), evolution to chronicity after withdrawal (cholestatic pattern), or death.

Para expresar en valores cuantitativos la probabilidad de que una reacción sea debida a un medicamento, se idearon diversas escalas diagnósticas. Nuestro estudio se planteó con el objetivo de comparar dos métodos diagnósticos cuantitativos, la escala de CIOMS¹ (1993, anexo I) y la escala de María&Victorino² (M&V, 1997, anexo II). Ambas escalas fueron aplicadas a 215 casos de hepatotoxicidad remitidos a un registro y posteriormente evaluados consecutivamente por tres expertos.³ Sólo existió acuerdo absoluto entre ambas escalas en el 18% de los casos, con desacuerdo hasta de dos niveles de probabilidad en el 31% (tabla 1).

TABLA 1. Comparación de las escalas diagnósticas CIOMS y M&V.

	M&V	Excluida	Dudosa	Posible	Probable	Definida	Total
CIOMS							
Excluida		21	2				23
Dudosa		4	3				7
Posible			8	1			9
Probable		1	30	43	16		90
Definida			5	40	53	1	99
Total		26	48	83	69	1	228

La mejor correlación entre ambas escalas se obtuvo en casos de mecanismo inmunoalérgico, y la peor en casos de colestasis, sin encontrar ningún grado de acuerdo en casos de fallecimiento o de hepatitis fulminante. En todos los casos en los que existió desacuerdo, la escala CIOMS atribuyó mayor nivel de certeza que la de M&V. Ya que los casos fueron sometidos a revisión por tres expertos, se puede deducir que la escala de CIOMS se acercaría más al criterio clínico (en ausencia de un *gold standard* en diagnóstico de hepatotoxicidad). Debido al propio diseño de la escala de M&V, que incluye cuestiones sólo aplicables a hepatitis inmunoalérgicas, es difícil que su aplicación genere puntuaciones altas en aquellas reacciones con mecanismo metabólico, que, por otra parte, suelen ser las más frecuentes (no olvidemos que la escala de M&V fue validada utilizando casos reales de hepatitis inmunoalérgica y ficticios²).

Otro problema que presenta la escala de M&V es la valoración de los casos con largo período de latencia (mayor de 15 días). Así, pueden ser considerados no relacionados con el fármaco los casos de hepatotoxicidad secundaria a ciertos antibióticos (por ejemplo, amoxicilina-clavulánico). Igualmente, el período hasta la normalización de las alteraciones hepáticas tras la retirada del fármaco (hepatitis fulminante, muerte o cronicidad) aumenta la dificultad de evaluación por ambas escalas, pero de forma más acentuada en la escala de M&V. Además, la escala de M&V exculpa a un fármaco que lleve más de 5 años en el mercado sin que se haya asociado o relacionado con hepatotoxicidad.

El editorial de Kaplowitz a propósito de la publicación de nuestro trabajo es una reflexión acerca del problema del diagnóstico de hepatotoxicidad.⁴ Tras analizar nuestro trabajo concluye que la escala de CIOMS presenta una estimación de probabilidad de causalidad más alta que la de M&V, que subestima dicha probabilidad en un porcentaje importante de casos. Sugiere además la modificación del apartado de factores de riesgo de la escala de CIOMS, buscando una mayor flexibilidad y su adaptación a contextos concretos (SIDA y sulfonamidas, ácido valproico en edad joven), así como la posibilidad de una versión modificada que permita una evaluación inicial sin la limitación que supone la falta de datos sobre la evolución. Finalmente, recomienda el uso de la escala de CIOMS como guía estructurada de los elementos esenciales para realizar el diagnóstico de exclusión, tanto para los clínicos como para las agencias de farmacovigilancia.

De forma paralela a la publicación de nuestro trabajo, Aithal et al evaluaron el uso de la escala de M&V (Clinical Diagnostic Scale, CDS) aplicada a 135 reacciones hepatotóxicas.⁵ Estos casos fueron inicialmente clasificados utilizando los criterios del consenso internacional⁶ (1990), pero no la escala diagnóstica basada en dichos criterios¹ (1993), clasificando los casos como “relacionados con fármacos”, “no relacionados con fármacos” e “indeterminados”. Por tanto, la evaluación según el consenso internacional no generó una clasificación cuantitativa sino cualitativa. Los casos que fueron relacionados con el fármaco recibieron una puntuación más alta según la CDS (M&V), con un rango entre 8-15 y una puntuación media de 12, es decir, dentro de la categoría de “posible”; ninguno obtuvo la máxima puntuación o categoría “definitiva”. Los casos indeterminados fueron considerados como media “improbables” y alguno “excluido”. Afirman que con una puntuación mayor de 9 se identifica el 88% de los casos de lesión hepática relacionados con fármacos según los criterios de consenso. Es decir, la categoría de “posible” puede asumirse como diagnóstica de hepatotoxicidad a menos que exista una causa alternativa. Concluyen que la escala CDS (M&V) se correlaciona bien con los criterios de consenso.

Sin embargo Aithal et al no comparan, o al menos no lo hacen en profundidad, la escala de CIOMS y la de M&V. Los casos de nuestra serie (casos reales) fueron clasificados por la escala de CIOMS como probables o definidos, excepto 8 casos que fueron clasificados como posibles. Si tuviéramos que elegir un punto de corte para clasificar los casos de lesión hepática como secundarios a un fármaco podríamos considerar las categorías de probable o definida, mientras que dicho corte en la escala de M&V debería situarse en la categoría de posible (para poder incluir la mayoría de nuestros casos reales).

Posteriormente, en un editorial sobre este trabajo, Lee concluye que los autores no han realizado una comparación con detalle de ambos métodos diagnósticos, y que la escala de M&V (CDS) no parece aportar ningún valor adicional al método del grupo de consenso internacional.⁷ Larrey también realiza una revisión acerca del tema.⁸ Hace mención a ambos trabajos, aunque creemos que, erróneamente, plantea que el trabajo de Aithal compara las escalas CDS y CIOMS, y concluye que en ausencia de un *gold standard*, y ante las discordancias entre ambos estudios, continúa la dificultad diagnóstica.

Sin embargo, en ausencia de datos que demuestren ventajas adicionales del método CDS (M&V) frente a la escala de CIOMS, ésta debería seguir siendo utilizada.

La escala de CIOMS parece el instrumento más compatible con el juicio clínico y además ayuda a incorporar los elementos esenciales que deben ser evaluados ante la sospecha de una reacción adversa por fármacos y así mejorar la consistencia de dicho juicio.

ANEXO 1. Escala diagnóstica de CIOMS.

	TIPO HEPATOCELULAR		TIPO COLESTASICO O MIXTO		EVALUACION
TIEMPO DESDE INICIO RA					
Incompatible	Reacción ocurre antes de la ingesta del fármaco, o más de días después de finalizar (excepto para fármacos de metabolismo lento)		Reacción ocurre antes de la ingesta del fármaco, o más de 30 días después de finalizar (excepto para fármacos de metabolismo lento)		Sin relación
Desconocido	Cuando la información no está disponible para calcular el tiempo desde el inicio				Insuficiente documentación
	Tratamiento inicial	Tratamiento subsig.	Tratamiento inicial	Tratamiento subsig.	PUNTUACION
CON INICIO DEL TRATAMIENTO					
• Sugestivo	5-90 días	1-15 días	5-90 días	1-90 días	+ 2
• Compatible	< 5 o > 90 días	> 25 días	< 5 o > 90 días	> 90 días	+ 1
CON FINAL DEL TRATAMIENTO					
• Compatible	≤ 15 días	≤ 15 días	≤ 30 días	≤ 30 días	+ 1
EVOLUCION	Diferencia entre el pico de ALT (SGPT) y el límite superior de valores normales		Diferencia entre el pico de FA (o TB) y el límite superior de valores normales		
DESPUES DE CESAR LA INGESTA					
• Altamente sugestivo	Disminución ≥ 50% en 8 días		No aplicable		+3
• Sugestivo	Disminución ≥ 50% en 30 días		Disminución ≥ 50% en 180 días		+2
• Compatible	No aplicable		Disminución < 50% en 180 días		+1
• Inconclusivo	No información o disminución ≥ 50% después del día 30		Persistencia o aumento o no información		0
• En contra tipología del fármaco	Disminución ≤ 50% después del día 30 o incremento recurrente		No situación. No aplicable		-2
SI LO CONTINÚA TOMANDO					
Inconclusivo	En todas las situaciones		En todas las situaciones		0
FACTORES DE RIESGO	Etanol		Etanol o embarazo		
Presencia					+1
Ausencia					0.
Edad 50 años					+1
Edad 60 años					0
TRATAMIENTO CONCOMITANTE					
• No o no información o tratamiento concomitante con incompatibilidad desde inicio del tratamiento					0
• Tratamiento concomitante compatible o sugestiva con el inicio de tratamiento					-1
• Tratamiento concomitante conocido como hepatotóxico y con compatibilidad o sugestivo con el inicio del tratamiento					-2
• Tratamiento concomitante con evidencia para este efecto (positivo "rechallenge" o test validado)					-3
BUSQUEDA DE CAUSAS NO RELACIONADAS CON FARMACOS					
GRUPO I (6 CAUSAS)					
Reciente infección viral con VHA (IgM antiVHA) o VHB (IgM antiVHB) o VHC (antiVHC y test no A no B); obstrucción biliar (ultrasonografía); alcoholismo (AST/ALT ># 2); historia reciente de hipotensión aguda (particularmente si hay enfermedad cardíaca).		• Todas las causas (grupo I y II) razonablemente descartadas			+2
		• Las 6 causas del grupo I razonablemente descartadas			+1
		• 4 o 5 causas del grupo I razonablemente descartadas			0
		• Menos de 4 causas del grupo I razonablemente descartadas			-2
		• Causas no farmacológicas altamente probable			-3
GRUPO II					
Complicaciones de enfermedad subyacente; Clínica y/o biológico. Contexto sugerente de infección por CMV, EBV o Herpes virus.					
INFORMACION PREVIA DE HEPATOTOXICIDAD DEL FARMACO					
• Reacción identificada en la ficha técnica del producto					+2
• Reacción publicada pero no identificada en la ficha técnica					+1
• Reacción desconocida					0
RESPUESTA A LA ADMINISTRACION					
• Positiva	Duplica ALT con el fármaco a solas		Duplica FA (o TB) con el fármaco a solas		+3
• Compatible	Duplica ALT con los fármacos juntos dados al mismo tiempo en la primera introducción		Duplica FA (o TB) con los fármacos juntos dados al mismo tiempo en la primera introducción		+1
• Negativa	Incremento de ALT pero menor que en las mismas condiciones para la primera administración		Incremento de FA (o TB) pero menor que en las mismas condiciones para la primera administración		-2
• No dada o no interpretable	Otras situaciones		Otras situaciones		0
TOTAL (suma de las puntuaciones marcadas). La puntuación puede ser clasificada en 5 categorías: total ≤ 0, excluido. 1-2, improbable. 3-5, posible. 6-8, probable. > 8, altamente probable					

ANEXO II. Escala diagnóstica de hepatotoxicidad de María y Victorino.

I. Relación temporal entre la ingesta del fármaco y el inicio del cuadro clínico.

A. Tiempo desde ingesta hasta inicio de primera manifestación clínica o de laboratorio:	
4 días a 8 semanas (o menos de 4 días en reexposición)	3
Menos de 4 días o más de 8 semanas	1
B. Tiempo desde la retirada del fármaco hasta el inicio de manifestación	
0 a 7 días	3
8 a 15 días	0
más de 15 días	-3
C. Tiempo desde la retirada del fármaco hasta la normalización de los valores de laboratorio (por debajo de dos veces el límite superior normal)	
Menos de 6 meses (patrón mixto-colestásico) o < 2 meses (hepatocelular)	3
Más de 6 ó 2 meses	0

II. Exclusión de causas alternativas.

Hepatitis viral (HAV, HBV, HCV, CNV, EBV), enfermedad alcohólica, obstrucción biliar, enfermedad hepática preexistente, otras. (según cada caso).	
Exclusión completa	3
Exclusión parcial	0
Causa alternativa posible detectada	-1
Causa alternativa probable detectada	-3

III. Manifestaciones extrahepáticas.

Rash, fiebre, artralgias, eosinofilia (>6%), citopenia.	
4 o más	3
2 ó 3	2
1	1
Ninguna	0

IV. Reexposición intencionada o accidental al fármaco.

Test de reexposición positivo	3
Test de reexposición negativo o ausente	0

V. Casos de reacción adversa hepática con el fármaco publicados previamente

Sí	2
No (comercializada en los 5 años previos)	0
No (comercializada más de 5 años previos)	-3

Categorías de probabilidad: Definitiva: > 17; Probable: 14-17; Posible: 10-13; Dudosa: 6-9; Excluida: <6.

BIBLIOGRAFIA

1. Danan G, Bénichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993; 46: 1323-1330.
2. María VAJ, Victorino RMM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 664-669.
3. Lucena MI, Camargo R, Andrade RJ, Pérez-Sánchez CJ, Sánchez De la Cuesta F. Comparison of two clinical scales for causality assessment in hepatotoxicity. *Hepatology* 2001; 33: 123-130.
4. Kaplowitz N. Causality assessment versus guilt-by-association in drug hepatotoxicity. *Hepatology* 2001; 33: 308.
5. Aithal GP, Rawlins MD, Day CP. Clinical diagnostic scale: a useful tool in the evaluation of suspected hepatotoxic adverse drug reactions. *J Hepatol* 2000; 33: 949-952.
6. Benichou C. Criteria of drug-induced liver disorders: report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990; 11: 272-276.
7. Lee WM. Assessing causality in drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2000; 33: 1003-1005.
8. Larrey D. Epidemiology and individual susceptibility to adverse drug reactions affecting the liver. *Semin Liver Dis* 2002; 22: 145-155.