

Detección del DNA del virus de la hepatitis B en suero mediante amplificación génica en pacientes con hepatitis crónica B y en pacientes con hepatitis crónica C

J.I. Jáuregui, M.P. Civeira, M. Serrano, J. Camps, A. Castilla, J.I. Riezu-Boj y J. Prieto

Centro de Investigaciones Biomédicas. Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra

FUNDAMENTO: La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) constituye un importante progreso metodológico para detectar la presencia de ácidos nucleicos víricos cuando éstos se hallan en muy pequeña cantidad en suero o tejidos. El propósito de este trabajo ha sido la utilización de la PCR para detectar DNA del virus de la hepatitis B (VHB) en pacientes con hepatitis crónica HBsAg positiva (HC-B) y en pacientes con hepatitis crónica no A no B con anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (anti-VHC) positivos (HC-C).

MÉTODOS: Mediante la PCR se determinó el DNA del VHB en el suero de 40 pacientes con HC-B y de 15 con HC-C. Así mismo, se estudió la presencia de anti-VHC en los pacientes con HC-B.

RESULTADOS: Se detectó la presencia de DNA del VHB por PCR en el 69 % de los pacientes con HC-B que presentaban HBeAg positivo y DNA del VHB negativo por hibridación simple así como en el 50 % de los pacientes que presentaban HBeAg negativo, anti-HBe positivo y DNA del VHB negativo por hibridación simple. Además, se detectó DNA del VHB por PCR en el 27 %

(4/15) de los sujetos con HC-C, tres de los cuales poseían anticuerpos anti-HBc. Por otra parte, se observó que el 20 % de los pacientes con HC-B poseían anti VHC. La positividad anti-VHC se asoció a una mayor hipertransaminasemia en los pacientes con HC-B en fase no replicativa.

CONCLUSIONES: La PCR es un método sensible de detección de la replicación vírica. Su uso permite detectar concentraciones bajas de DNA del VHB en un porcentaje bajo pero apreciable de hepatitis crónicas HBsAg negativas. La coinfección por los virus B y C de la hepatitis no es excepcional y explica la hipertransaminasemia en algunas HC-B en fase no replicativa.

Detection of the DNA of the hepatitis B virus in serum by genic amplification in patients with chronic hepatitis B and in patients with chronic hepatitis C

BACKGROUND: The polymerase chain reaction (PCR) constitutes important methodological progress for detecting the presence of viral nucleic acids when these are found in small quantities in serum or tissues. The aim of this study was the use of PCR to detect DNA of the hepatitis B virus (HBV) in patients with chronic HBsAg positive hepatitis (HC-B) and in patients with chronic non A non B hepatitis with antibodies against the virus of hepatitis C (anti HCV) positive (HC-C).

METHODS: The DNA of the HBV was determined with PCR in the serum of 40 patients with HC-B and in 15 with HC-C. Moreover, the presence of anti-HCV was studied in the patients with HC-B.

RESULTS: The presence of DNA of the HBV was detected by PCR in 69 % of the HC-B patients presenting HBeAg positive and DNA of the HBV negative by simple hybridation as well as in 50 % of the patients with HBeAg negative, anti-HBe positive and DNA of HBV negative by simple hybridation. In addition, DNA of HBV was detected by PCR in 27 % (4/15) of the subjects with HC-C, three of whom had anti-HBc antibodies. On the other hand, 20 % of the patients with HC-B had anti-HCV. Anti-HCV positivity was associated to a greater hypertransaminasemia in patients with HC-B in a non replicative phase.

CONCLUSIONS: PCR is a sensitive method for detecting viral replication. Its use permits the detection of low DNA concentrations of the HBV in a low but appreciable percentage of chronic negative HBsAg hepatitis. Coinfection by the B and C viruses of hepatitis is not exceptional and explains hypertransaminasemia in some HC-B in a non replicative phase.

Med Clin (Barc) 1992; 98: 49-52

Correspondencia: Prof. J. Prieto. Departamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria de Navarra. Avda. Pío XII s/n. 31080 Pamplona, Navarra

Manuscrito aceptado el 16-5-1991

Este trabajo se ha realizado con una ayuda de la Fundación R. Areces y con la beca de la CICYT n.º PB 86-0425.

El desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular ha tenido gran impacto en el conocimiento de la infección por el virus de la hepatitis B (VHB). Actualmente, se acepta que la determinación del DNA del VHB como marcador de replicación supera en sensibilidad y especificidad a los marcadores convencionales, especialmente al sistema antígeno e/anticuerpo anti-e^{1,2}.

Un nuevo procedimiento de reciente aparición es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)³. Esta técnica permite amplificar específicamente una secuencia de DNA determinada, seleccionada mediante oligonucleótidos sintéticos (amplímeros) que delimitan el principio y el final del segmento de DNA que se va a amplificar. La amplificación ocurre de forma cíclica y es posible obtener más de un millón de copias del fragmento original. La PCR es muy útil en el estudio de la infección por el VHB⁴, ya que posibilita la detección de su DNA, aunque el número de moléculas presentes sea tan bajo que resulten indetectables por hibridación convencional. De este modo, es posible evidenciar la presencia de DNA del VHB cuando otros marcadores de la infección están ausentes.

Recientemente, se ha caracterizado el virus de la hepatitis C (VHC) y se ha observado la existencia de anticuerpos anti-VHC en la mayor parte (80-90 %) de los enfermos con hepatitis crónica no A no B⁵⁻⁷. El propósito de este trabajo es el estudio de la presencia del DNA del VHB por PCR en pacientes con hepatitis crónica B (HC-B) y en sujetos con hepatitis crónica C (HC-C), así como determinar si existen casos de coinfección por ambos virus.

Pacientes y métodos

Se han estudiado 40 enfermos (28 varones y 12 mujeres) que padecían HC-B y otros 15 (11 varones y 4 mujeres) con HC-C. De los 15 pacientes con HC-C, anti-VHC positivos, 8 presentaban, además, anti-HBc, mientras que los 7 restantes eran negativos para todos los marcadores del VHB. Además, como controles se estudiaron 5 personas sanas con todos los marcadores del VHB negativos, así como anti-VHC negativos.

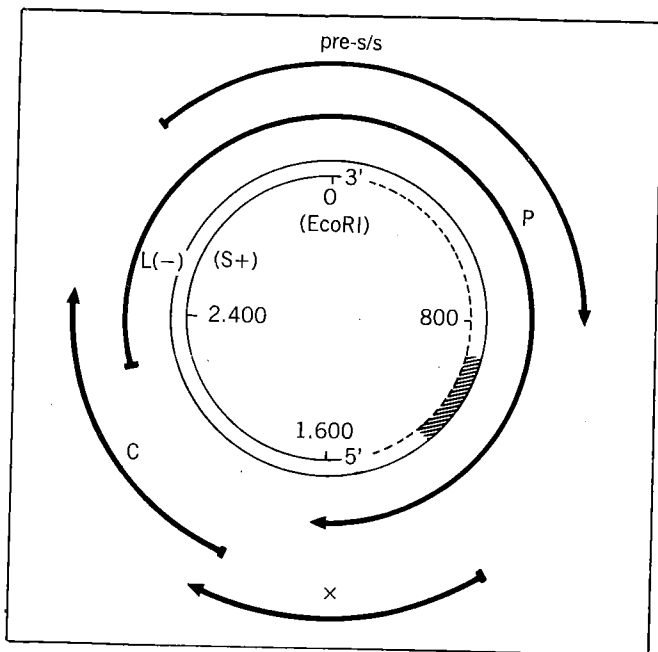


Fig. 1. Región del genoma del virus de la hepatitis B amplificada por la reacción en cadena de la polimerasa.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{10,11}. El DNA utilizado para el PCR se aisló y purificó a partir de 200 µl de suero. El procedimiento seguido fue idéntico al utilizado para la realización de la técnica de hibridación simple descrita anteriormente. Al DNA se le añadió 0,25M de cada uno de los nucleótidos dATP, dGTP, dCTP y dTTP, tampón Cetus (0,05M KCl; 0,01M Tris-HCl pH 8,3; 5 mM MgCl₂; 0,01 % gelatina), 5 % DMSO y 1 µM de cada amplímero. Como amplímeros se utilizaron dos oligonucleótidos sintéticos de 20 bases de longitud que definen una región de 330 pares de bases correspondiente a un fragmento de la región polimerasa del genoma del VHB (fig. 1).

A la mezcla de reacción se le añadieron 2,5 unidades de la enzima termorresistente Taq polimerasa y se realizaron 30 ciclos de amplificación: desnaturalización (1 min a 95 °C), alineamiento (45 seg a 43 °C) y elongación (1,5 min a 72 °C). Después de los 30 ciclos, el DNA obtenido se precipitó añadiendo 1/9 del volumen de acetato sódico y 2,5 volúmenes de etanol, tras lo cual se enfrió a -20 °C durante 3 horas. El precipitado se recogió por centrifugación del mismo modo como se describió anteriormente y se resuspendió en TE. Se practicó una electroforesis de las muestras obtenidas en gel de agarosa al 3 % a 10V/cm. Como marcador de peso molecular se utilizó el fago PhiX-174 digerido con HaeIII. Tras la electroforesis el gel se transfirió a una membrana de nylon en medio alcalino. La membrana fue hibridada del mismo modo en que se realizó en la hibridación simple, en este caso también con el genoma completo del VHB como sonda y se autorradiografió durante 8 horas.

Método estadístico. Para la comparación de las medias de ALT se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney.

Resultados

Mediante la determinación por hibridación molecular simple del DNA del VHB en el suero de enfermos con HC-B, se observó que 19 de los 40 pacientes (47,5 %) se encontraban en fase replicativa (FR) (DNA del VHB positivo en suero) mientras que en los 21 restantes (52,5 %) el DNA del VHB no era detectable por esta técnica, por lo que se consideraron en fase no replicativa (FNR). En ninguno de los enfermos con HC-C se detectó DNA del VHB en suero por hibridación simple.

De los 21 enfermos con HC-B en los que el DNA del VHB no era detectable por hibridación simple, 13 presentaban HBeAg en suero y los 8 restantes poseían anti-HBe. El PCR detectó DNA del VHB en 9 de los 13 enfermos (69 %) HBeAg positivos pero DNA del VHB negativo por hibridación simple (fig. 2). En el grupo de pacientes HBeAg negativos, anti-HBe positivos y DNA del VHB negativos se detectó DNA del VHB por PCR en 4 de 8 (50 %) (fig. 3). Así pues, en 32 de los 40 pacientes con HC-B (80 %) se detectó DNA del VHB en suero por hibridación simple o mediante PCR.

Se detectó DNA del VHB por PCR en 4 de los 15 enfermos con HC-C (27 %), de los cuales 3 poseían anti-HBc. En el cuarto paciente no se evidenció ningún marcador del VHB (fig. 3). No se observó la presencia de DNA del VHB por PCR en ninguna de las personas sanas utilizadas como controles negativos. Por consi-

Detección en suero de antígenos y anticuerpos. Para el diagnóstico de estos enfermos se emplearon técnicas de ELISA y radioinmunoanálisis (RIA) comerciales. La detección de HBsAg, HBeAg, anti-HBe y anti-HBc se realizó mediante RIA (Sorin Biomédica, Italia) y la de anti-VHC, por ELISA (Ortho Diagnostic, Estados Unidos). Los valores de las transaminasas (AST y ALT) se determinaron en el laboratorio general de bioquímica.

Detección del DNA del VHB en suero por hibridación simple². La extracción del DNA se practicó a partir de 200 µl de suero, el cual se digirió con 0,5 mg de proteinasa K, 1 % SDS a 56 °C durante toda la noche. A continuación se realizó una extracción con fenol-cloroformo, se añadió a la fase acuosa 1/9 del volumen de acetato sódico 3M y la muestra se precipitó con dos volúmenes de etanol a -20 °C durante 3 horas. Finalmente, se centrifugó a 10.000 G durante 10 min, se lavó con el 70 % de etanol y el precipitado de DNA se resuspendió en TE (10 mM Tris-

HCl pH 8; 0,1 mM EDTA). Las muestras de DNA obtenidas se depositaron sobre una membrana de nylon (BIORAD, Zeta-Probe, Estados Unidos), utilizando un sistema de microfiltración al vacío. La membrana se sometió a la acción de una solución desnaturante del DNA (0,4M de NaOH) durante 10 min y se lavó con SSC (0,03M de citrato sódico, 0,3M NaCl pH 7,4) para conseguir su neutralización. La hibridación de la membrana⁸ se realizó a continuación con una sonda radiactiva marcada con ³²P. Ésta se marcó mediante la técnica descrita por Rigby et al⁹ y se consiguió una actividad mayor de 10⁸ dpm/µg DNA. La sonda utilizada fue el genoma completo del VHB, el cual se había clonado en el plásmido pBR322 de *Escherichia coli*. Para su obtención se realizó un cultivo de la clona, a partir del cual se aisló, mediante un gradiente de CsCl, el plásmido que contenía la sonda. Este se digirió con la enzima EcoRI, se realizó una electroforesis en gel de agarosa y se purificó la banda correspondiente a la sonda por electroelución.

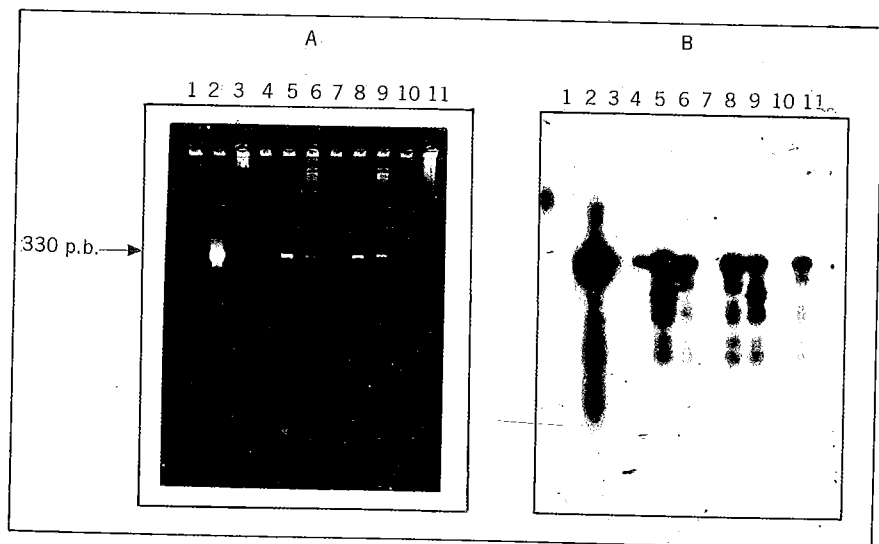


Fig. 2. Electroforesis en gel (A) e hibridación (B) de muestras amplificadas por la reacción en cadena de la polimerasa. Columna 1 = marcador de peso molecular (PhiX-174 digerido con HaeIII); columna 2 = control positivo; columna 3 = control negativo; columnas 4, 5, 6, 8, 9 y 11: casos positivos; columnas 7 y 10: casos negativos.

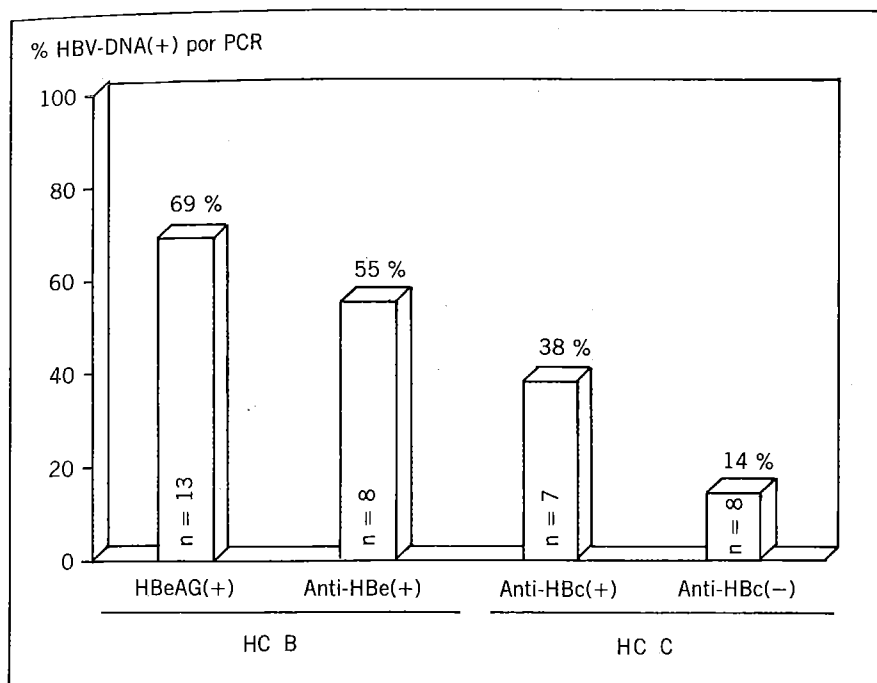


Fig. 3. Presencia de DNA del virus de la hepatitis B en una muestra de suero de enfermos con hepatitis crónica, detectado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

guiente, en relación con la posible existencia de coinfecciones por el VHB y el VHC se observó que existen enfermos con HC-C, HBsAg negativos, anti-VHC positivos en los que el DNA del VHB es detectable en suero por PCR. Del mismo modo, en algunas HC-B se detectó la presencia de anti-VHC. Ocho de las 40 HC-B (20 %) poseían anticuerpos anti-VHC. De estos 8 enfermos, 3 se encontraban en FR y los 5 restantes estaban en FNR, aunque en 4 de ellos el DNA del VHB se detectó por PCR. No se encontró, por tanto, ninguna relación entre la fase de replicación de la infección por VHB y la presencia de anticuerpos frente al VHC. Al estudiar la actividad ALT en estos pacientes, se observó que los enfermos con HC-B que presentaban DNA del VHB por hibridación simple tenían unos valores de ALT significativamente mayores que aquellos en los que el DNA no era detectable por esta técnica (UI/l; 120 ± 16 UI/l frente a 78 ± 16 UI/l, $p < 0,05$). En cambio, dentro del grupo de pacientes en los que el DNA del VHB no era detectable por hibridación simple no se observó ninguna diferencia significativa entre aquellos en los que el PCR para el DNA del VHB fue positivo y los restantes (107 ± 27 UI/l frente a 86 ± 32 UI/l, $p = NS$).

Tampoco se observaron diferencias significativas en las concentraciones de ALT en el grupo de HC-C, entre los pacientes con positividad para el DNA del VHB por PCR y los restantes. La presencia o au-

sencia de anti-VHC en el grupo de enfermos con HC-B no supuso diferencias significativas en los valores de ALT (116 ± 34 UI/l frente a 101 ± 13 UI/l, $p = NS$); sin embargo, considerando solamente el grupo de enfermos en FNR se encontró que los anti-VHC positivos poseían unos valores de ALT significativamente mayores que los anti-VHC negativos (144 ± 59 UI/l frente a 85 ± 16 UI/l, $p < 0,05$).

Discusión

La detección del DNA del VHB mediante hibridación simple ha supuesto un gran avance en el conocimiento de la infección por el VHB y permite determinar con notable sensibilidad el grado de replicación del virus, por lo que es posible dividir a los pacientes con HC-B en 2 grupos: aquellos que presentan replicación (FR) y los que no (FNR). No obstante, la actividad replicativa a bajo nivel puede ser indetectable por los métodos convencionales de hibridación molecular. Con la aplicación de la técnica del PCR se consigue una mayor sensibilidad en la detección de secuencias del DNA del VHB en suero. En el presente trabajo, se observó la presencia de DNA del VHB mediante hibridación simple en el 48 % de las HC-B; en cambio, al aplicar la técnica de amplificación por PCR la detección aumentó al 80 % de los casos. Existe, por tanto, un número significativo de enfermos en FNR en los que se sigue pro-

duciendo un escaso número de partículas víricas completas por parte de algunas células infectadas, en las que se mantendría el estado de replicación activa. La sensibilidad de la técnica de hibridación sin previa amplificación no es suficiente para detectar estas partículas¹².

Este hecho permite explicar la capacidad infectante de enfermos que se encuentran en FNR¹³ de los cuales se pensaba que no producían partículas víricas completas, puesto que sus marcadores de replicación eran negativos (DNA del VHB y HBeAg). Por tanto, la aparición de reactivaciones de la replicación vírica en algunos de estos enfermos podía derivar de la existencia en ellos de una replicación a muy bajo nivel en la fase llamada no replicativa.

Por otra parte, en este trabajo se ha comprobado que algunos casos que en principio eran considerados exclusivamente como HC-C, presentan DNA del VHB en suero. Esto ocurre con mayor frecuencia en el grupo de HC-C que presenta, además, el marcador del VHB anti-HBc. Otros autores también han encontrado DNA del VHB en enfermos con hepatitis crónica HBsAg negativa por medio del PCR^{14,15} o mediante *Southern blot*¹⁶⁻¹⁸.

Sin embargo, las proporciones observadas difieren notablemente de unos a otros estudios e incluso, en alguno no se detectó DNA del VHB en ningún caso¹⁹. Estos hallazgos sugieren diversas hipótesis; la más plausible es que puede haber infección por el VHB sin que se produzca HBsAg, lo cual puede deberse a la existencia de variantes del VHB^{20,21}, o bien, a que en determinadas condiciones el VHB no es capaz de producir HBsAg detectable, aunque siga siendo capaz de infectar a otro individuo con la consiguiente aparición de HBsAg¹⁵.

Así pues, aunque existen enfermos que padecen una coinfección por el VHC y el VHB, no se conoce el papel relativo de cada uno de los dos en la actividad de la enfermedad.

Así mismo, se han detectado anticuerpos anti-VHC en enfermos con HC-B, sin existir diferencias, en este sentido, entre el grupo de pacientes en FR y el grupo en FNR, por lo que no existe ninguna relación entre la serología positiva para el VHC y la presencia de DNA del VHB en pacientes con HC-B. En los pacientes en FNR la coexistencia de positividad anti-VHC se asocia a unos valores significativamente superiores de transaminasas séricas, lo cual concuerda con el hallazgo de otros autores, que observan que la actividad inflamatoria hepática en sujetos anti-HBe positivos puede deberse a causas ajenas al VHB²². Los resultados de este trabajo indican que la coinfección por el VHC puede ser responsable de hipertransaminasemia en pacientes con HC-B en FNR.

BIBLIOGRAFÍA

1. Liberman HM, Labrecque DR, Kew MC, Hadziyannis SJ, Shafritz DA. Detection of hepatitis B virus DNA directly in human serum by a simplified molecular hybridization test: comparison to HBeAg/anti-HBe status in HBsAg carriers. *Hepatology* 1983; 3: 285-289.
2. Scotto J, Hadchouel M, Hery C, Yvart J, Tiollais P, Brechot C. Detection of hepatitis B virus DNA in serum by a simple spot hybridization technique: comparison with results for other viral markers. *Hepatology* 1983; 3: 279-284.
3. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239: 487-494.
4. Eisenstein BI. The polymerase chain reaction: a new method of using molecular genetics for medical diagnosis. *N Engl J Med* 1990; 322: 178-183.
5. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362.
6. Kuo G, Choo QL, Alter HJ et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-364.
7. Esteban JI, Esteban R, Villadomiu L et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 2: 294-298.
8. Hadziyannis SJ, Lieberman HM, Karvountzis GC,

- Shafritz DA. Analysis of liver disease, nuclear HBcAg viral replication, and hepatitis B virus DNA in liver and serum of HBeAg vs anti-HBe positive carriers of hepatitis B virus. *Hepatology* 1983; 3: 656-662.
9. Rigby PWJ, Dieckman M, Rhodes C, Berg P. Labeling deoxyribonucleic acid to high specific activity *in vitro* by Nick Translation with DNA polymerase I. *J Mol Biol* 1977; 113: 237-251.
10. Saiki RK, Scharf S, Faloona F et al. Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of Sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1.350-1.354.
11. Larzul D, Guigue F, Sninsky JJ, Mack DH, Brechot C, Guesdon JL. Detection of hepatitis B virus sequences in serum by using *in vitro* enzymatic amplification. *J Virol Methods* 1988; 20: 227-237.
12. Kaneko S, Miller RH, Feinstone SM et al. Detection of serum hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis using the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 312-316.
13. Shafritz DA, Arias IM. The relationship between the infectivity of serum from hepatitis B virus carriers, antiviral therapy, and integrated hepatitis B virus. *Hepatology* 1982; 2: 106-107.
14. Lai ME, Farci P, Figus A, Balestrieri A, Arnone M, Vyas GN. Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinia blood donors negative for the hepatitis B surface antigen. *Blood* 1989; 73: 17-19.
15. Thiers V, Kremsdorf D, Schellekens H et al. Transmission of hepatitis B from hepatitis-B-sero-

- negative subjects. *Lancet* 1988; 8: 1.273-1.276.
16. Figus A, Blum HE, Vyas GN et al. Hepatitis B viral nucleotide sequences in non-A, non-B or hepatitis B virus related chronic liver disease. *Hepatology* 1984; 4: 364-368.
17. Degos F, Lugassay C, Degott C et al. Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. *Gastroenterology* 1988; 94: 151-156.
18. Nalpas B, Berthelot P, Thiers V et al. Hepatitis B virus multiplication in the absence of usual serological markers. *J Hepatol* 1985; 1: 89-97.
19. Slusarczyk J, Hess G, Hansson BG, Meyer-Zum-Buschenfelde KH. Lack of hepatitis B virus DNA sequences in sera from patients with acute and chronic liver diseases diagnosed as non-A, non-B hepatitis. *Liver* 1986; 6: 337-340.
20. Wands JR, Fujita YK, Isselbacher KJ et al. Identification and transmission of hepatitis B virus-related variants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 6.608-6.612.
21. Wands JR, Lieberman HM, Muchmore E, Isselbacher K, Shafritz DA. Detection and transmission in chimpanzees of hepatitis B virus-related agents formerly designated «non-A, non-B» hepatitis. *Proc Acad Sci USA* 1982; 79: 7.552-7.556.
22. Lok ASF, Hadziyannis SJ, Weller IVD et al. Contribution of low level HBV replication to continuing inflammatory activity in patients with anti-HBe positive chronic hepatitis B virus infection. *Gut* 1984; 25: 1.283-1.287.

RECENSIONES BIBLIOGRÁFICAS

Cardiomyoplasty, por A. Carpentier, J.C. Chachques y P. Grandjean. 280 páginas. Mount Kisko, Nueva York: Futura Publishing, Inc., 1991

El año pasado apareció en esta misma revista (*Medicina Clínica* 1990; 95: 758) una reseña bibliográfica de un volumen que recogía los trabajos presentados en un Simposio sobre músculo transformado como forma de asistencia cardíaca. Un año después, otro libro sobre cardiomioplastia aparece en el mercado. Esta vez lo firma el principal investigador en este campo, el profesor Alain Carpentier.

Este hecho indica que existe un verdadero interés en la utilización de músculo estriado como asistencia ventricular, lo que viene corroborado por el creciente número de reuniones científicas que se organizan anualmente sobre el tema.

El libro de Carpentier recoge las comunicaciones al primer encuentro internacional sobre cardiomioplastia dinámica, celebrado en París en 1989. Este tipo de libros, que se publican cada vez más, tiene sus ventajas e inconvenientes y el que nos ocupa no es una excepción. Entre las ventajas destaca el hacer accesible al público en general los debates que tienen lugar en las reuniones, pues se incluyen las discusiones que se generan después de cada presentación. El mayor inconveniente radica en que no existe una verdadera labor de

unificación por parte de los editores. Los autores presentan sus manuscritos, que son publicados íntegramente. Por ello existen muchas referencias repetidas y las figuras y tablas están numeradas de nuevo al comienzo de cada artículo-capítulo. El libro está escrito por 49 autores que no son más que los distintos firmantes de las ponencias presentadas.

La primera parte engloba los fundamentos de la cardiomioplastia, principalmente relacionados con la estimulación del músculo esquelético en general y del dorsal ancho en particular. La segunda parte comprende la técnica quirúrgica (lo que refleja lo poco difundida que está esta intervención) y los resultados clínicos. La tercera parte es experimental y se investigan futuras áreas de desarrollo. La cuarta y última parte recoge las conclusiones de la reunión y está firmada por el profesor Carpentier. La calidad de la impresión es muy buena, incluyendo las gráficas y figuras.

En resumen, el libro actualiza los avances que se están produciendo en este campo tan prometedor, aunque reducido, de la cirugía cardíaca. Cabe esperar futuros simposios para concretar algo más de lo que lo hace el presente libro, las indicaciones y los resultados clínicos de la cardiomioplastia.

Jefe de la Unidad de Cirugía Cardíaca.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
Barcelona

Unidades didácticas de nutrición. Organización Panamericana de Salud. WHO. Publicación científica n.º 528. 170 páginas, 63 figuras. Washington DC: Ed. Organización Panamericana de Salud, 1990

Libro editado por la Organización Mundial de la Salud (WHO) para la formación de instructores sanitarios en materias básicas de nutrición que trabajan en comunidades del tercer mundo.

En sucesivos capítulos, trata de temas como nutrición de la mujer embarazada, dieta en caso de diarreas infantiles, principios de alimentación equilibrada. Siempre dirigido a la alimentación materno-infantil.

El libro insiste en la formación del educador sanitario, el cual, a partir de pocos y sencillos conocimientos teóricos, debe saber transmitirlos y, sobre todo, debe ser capaz de cambiar hábitos de alimentación e higiene de las madres de estas comunidades.

El libro no es, pues, útil para personal sanitario de nuestro medio sino para aquellos que trabajan, o vayan a hacerlo, en zonas socio-cultural y económicamente muy deprimidas, y en las cuales van a actuar como «agentes de salud nutricional».

A. ARIS

Servicio de Dietética
Hospital General
Vall d'Hebron.
Barcelona

J. CLAPÉS