

## Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen **52**  
Volume

Número **4**  
Number

Octubre-Diciembre **2005**  
October-December

*Artículo:*

Cuando el laboratorio no concuerda  
con la clínica. Hepatitis B

Derechos reservados, Copyright © 2005:  
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)

# Cuando el laboratorio no concuerda con la clínica. Hepatitis B

**Palabras clave:** Hepatitis B, HbsAg, diagnóstico.

**Key words:** Hepatitis B, HbsAg, diagnosis.

Recibido: 12/09/2005  
Aceptado: 30/09/2005

Alberto Zamora Palma,\* Julio César Sánchez González\*\*

\* Director Médico. Bertoal Laboratorio de Análisis Clínicos e Imagenología.  
\*\* Adscrito al Banco de Sangre. Servicio de Transfusión Sanguínea Santa Fe, S.A.

Correspondencia:  
Dr. Alberto Zamora Palma  
Av. Ermita Iztapalapa 438  
Colonia Emperador Cacama 09080. México D.F.  
Teléfono 55 81 83 55  
Correo electrónico: albertoz100@hotmail.com

## Resumen

Para la mayoría de los profesionales del Laboratorio Clínico y del Banco de Sangre es común recibir comentarios, para explicar un resultado de laboratorio que parece no estar acorde con la condición clínica del paciente. Un caso frecuente, en particular, se relaciona con el perfil inmunológico para hepatitis B, donde tiene que enfatizarse que el diagnóstico debe realizarse a través del empleo de varios exámenes contributorios. En consecuencia es imposible establecer la condición clínica de un paciente de manera integral, realizando una sola determinación. En este documento se abordan consideraciones importantes relacionadas con la estructura del virus como las llamadas cepas mutantes, recientemente descritas, la historia natural de la hepatitis B aguda y crónica, la aparición secuencial de los antígenos virales de la cápsula y centro y los respectivos anticuerpos, así como la relevancia clínica de los mismos. También se analizan los criterios de confiabilidad de las pruebas inmunológicas y las causas posibles de resultados falsos positivos y falsos negativos. Finalmente se expresan algunas recomendaciones para respaldar la correlación clínica con el diagnóstico etiológico.

## Abstract

For most of the Clinical Laboratory and Blood Bank professionals it is quite common to receive comments in order to explain a lab result that seems not to be in accordance with the patient's condition. A frequent case, for instance, is related to the interpretation of Hepatitis B immunological profile, where it should be emphasized that this diagnosis must be done through the utilization of several contributory tests. In consequence, it is impossible to establish the clinical condition of the patient or the integral diagnosis with a single determination. In this document, important issues related to the viral structure of recently reported and understood mutant strains are discussed, including the natural history of acute and chronic Hepatitis B, the sequential appearance in blood of viral antigens and related capsid and core antibodies and their clinical relevance, plus the characteristics of immunological tests and possible causes for false positive and negative results. Finally, some recommendations are expressed in order to support clinical correlation with the etiological and psychopathological diagnosis of Hepatitis B.

## Consideraciones del virus

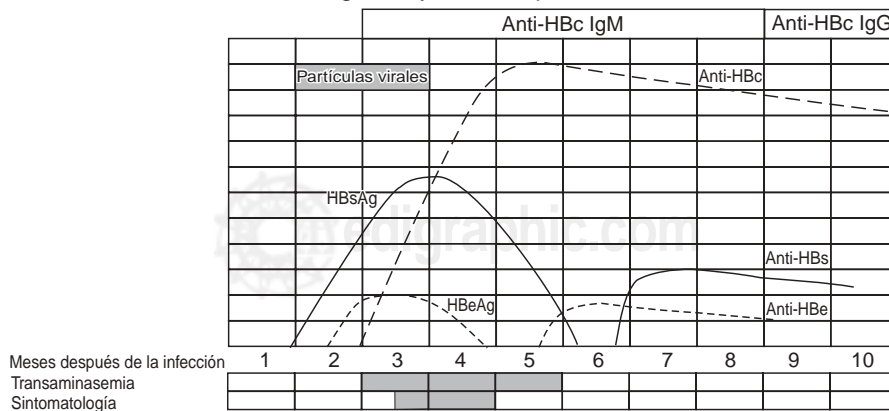
Es un hepadnavirus ADN con una estructura genómica compacta, cuenta con 3,200 pares de bases dispuestos en forma circular, que le permiten producir cuatro gamas de productos. El VHB (Virus de la hepatitis B) consigue su economía genómica gracias a una eficaz estrategia de codificación de proteínas por cuatro genes solapados; S, C, P y X. Por microscopía electrónica se pueden visualizar tres tipos de partículas virales, las más abundantes son las de 22 nm, que pueden presentar forma esférica o filamentosa. En cantidad menor se encuentran partículas de 42 nm, esféricas con doble cubierta, que son viriones íntegros del VHB. La proteína de la envoltura que se expresa en la superficie externa del virión se denomina *antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg)*.<sup>1</sup>

En este sentido, la estructura antigénica del HBsAg resulta de particular importancia por las implicaciones diagnósticas que señalaremos más adelante. Los hepatocitos infectados por el VHB producen más HBsAg del necesario para envolver las partículas víricas que se generan en cada ciclo replicativo; el HBsAg excedente, junto con algunas moléculas lipídicas del huésped, se ensambla autónomamente originando partículas no infecciosas que adoptan una conformación circular

o tubular; estas últimas pueden ser observadas fácilmente en la sangre de los pacientes infectados aguda o crónicamente por el VHB junto con los viriones infecciosos (partículas de Dane).

La estructura antigénica del HBsAg contiene un epítoto conformacional inmunodominante, denominado *a*, y otros dos de especificidades mutuamente excluyentes (*d* o *y/w* o *r*), lo que permite que haya cuatro subtipos de HBsAg: *adw*, *ayw*, *adr*, *ayr*. Existen, además, nueve serotipos conocidos del VHB en virtud de la heterogeneidad antigénica del determinante *w*. Los anticuerpos que reconocen el epítoto *a* protegen al individuo frente a la infección por el VHB al ser capaces de neutralizar el virus circulante. La mayoría de las variedades biológicas del VHB conocidas comparten la secuencia de aminoácidos del determinante antigénico *a*, por lo que los anticuerpos que reconocen este epítoto confieren inmunidad cruzada. No obstante lo anterior, se han descrito cepas portadoras de mutaciones “no conservadoras” en la secuencia del gen S, las llamadas “variantes de escape”, capaces de producir re-infecciones, pero que también se ha documentado que pueden alterar la regulación de la actividad de la respuesta de linfocitos T y de eludir la respuesta inmune humoral específica contra virus (mutantes del gen S). La trascendencia clínica potencial de estas últimas es fácilmente infecciosa: puede infectar a individuos vacunados eficaz-

Evolución de antígenos y anticuerpos durante la infección



mente o tratados con gammaglobulina específica, causar re-infecciones. Igualmente preocupante es el hecho de que la infección activa por alguna de estas cepas pase inadvertida a las pruebas comerciales que detectan el anti-HBs.<sup>2-4</sup>

## Consideraciones de la historia natural de la hepatitis B

### Conceptos básicos de marcadores virales:

**HBsAg:** Proteínas codificadas en el DNA viral, localizadas en la superficie de la envoltura del virus.

**HbcAg:** Cada una de las 180 copias de la proteína que conforma la cápside icosaédrica.

**HBeAg:** Proteína que ancla el DNA viral a la cápside. Su presencia en suero refleja existencia de replicación viral.

**HBV ADN:** Material genético específico del virus. Su detección es por PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

**anti-HBs:** Anticuerpo con especificidad contra HBsAg.

**anti-HBc:** Anticuerpo con especificidad contra HBcAg.

**IgM anti-HBc:** Anticuerpo de clase IgM con especificidad contra HBcAg

**anti-Hbe:** Anticuerpo con especificidad contra HBeAg

## Infección aguda

El perfil de los marcadores serológicos en la infección aguda permite vigilar la evolución de la infección. A las 6 semanas después de la infección viral se detectan HBsAg y marcadores de replicación viral activa (HBeAg y HBV ADN; previamente al comienzo de los síntomas o de las alteraciones bioquímicas. Estos marcadores permanecen positivos durante toda la fase prodrómica y al inicio de la sintomatología.

En una pequeña proporción de pacientes con infección aguda, menos de 5%, los niveles circulan

antes de HBsAg no exceden el umbral de detección. El diagnóstico de hepatitis B aguda puede establecerse por demostrar la presencia de IgM anti-HBc. En muchos de estos casos sí se produce HBsAg pero desaparece de la sangre antes de que comiencen los síntomas que motivan el estudio serológico. Este periodo es lo que se denomina "periodo ventana", tiempo que transcurre entre la desaparición de HBsAg y aparición de anti-HBs.

No todos los casos en los que aparece anti-HBc IgM son sinónimos de infección aguda. Aunque en 40% de los pacientes los niveles de anti-HBc IgM descienden rápidamente después de desaparecer HBsAg en el resto esta desaparición es lenta, mostrando 20% de los pacientes anticuerpos IgM después de dos años de la enfermedad hepática. Igualmente en pacientes con infección crónica se puede detectar positividad para anti-HBc IgM paralela a la exacerbación de la enfermedad hepática.

El estudio de anti-HBc IgM se debería realizar cuando ya el paciente ha pasado la fase icterica y nos encontramos en fase de convalecencia.

A los 6 meses puede ya desaparecer Hbc-anti IgM predominando una respuesta IgG anti-HBc que persiste indefinidamente. Los anticuerpos anti-HBc totales pueden detectarse tanto en infección aguda como crónica como en aquellos que ha resuelto una hepatitis B.

No menos importante es el hecho de que se han identificado casos donde al paciente se le detecta anticuerpo contra el antígeno de centro (anti-HBc) en ausencia de HBsAg o anti-HBs anticuerpo (anti-HBs), esto se observa particularmente en pacientes infectados con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y virus de la hepatitis C (HCV). La significancia de este fenómeno es desconocida, pero es un fenómeno común en el laboratorio de virología y requiere de más investigación, ya que, es claro que puede alterar los patrones clásicos de presentación de anticuerpos y antígenos.<sup>5,6</sup>

A los 4-6 meses suele desaparecer HBsAg y aparece anti-HBs. Este anticuerpo se asocia con

la recuperación de la infección por VHB y con la inmunidad a la reinfección por este virus. En 10-20% de los pacientes este marcador puede aparecer durante la antigenemia, al mismo tiempo que HBsAg, y antes del comienzo de los síntomas. Igualmente anti-HBs puede no detectarse en algunos pacientes de manera inmediata tras la desaparición de HBsAg, existiendo un intervalo de varios meses hasta la aparición de anti-HBs. En 10% de los pacientes nunca se detecta anti-HBs.

HBeAg aparece durante todo periodo de replicación activa del HBV. Se detecta simultáneamente o a los pocos días de aparecer HBsAg, en casi todos los casos de infección aguda, y declina en paralelo con HBsAg siendo reemplazado con un pico de anti-HBe al comienzo de la recuperación clínica. Este anticuerpo, anti-HBe, persiste 1-2 años tras desaparecer la infección aguda por hepatitis B.

## Infección crónica

En la mayoría de los individuos crónicamente infectados se detecta en suero HBsAg en concentraciones mayores de 1 mg/mL.

Aunque la mayoría de los portadores de HBsAg tienen títulos elevados de HBV en suero, algunos portadores parecen no tener partículas infecciosas circulantes. En estos casos la replicación del virus en el hígado ha cesado. El DNA viral se ha integrado en el cromosoma de la célula huésped durante la infección. Los genes virales, sobre todo los del core y la polimerasa pueden romperse mientras que las regiones que codifican a la proteína de la envoltura y su promotor permanecen intactos. Estos pacientes pueden aparecer como portadores de HBsAg sin detección de HBeAg y sin actividad DNA polimerasa. En la célula hepática no se detecta DNA viral libre ni HBcAg. Estos pacientes, no todos, no tienen enfermedad hepática o ésta es mínima y son considerados portadores sanos. No se conoce cuál es la fracción de estos portadores de HBsAg que no tienen virus infeccioso en sangre periférica.

Casi todos los pacientes crónicamente infectados presentan títulos elevados de anti-HBc en la sangre. Aunque la mayoría de los anticuerpos anti-HBc son de clase IgG, los anticuerpos de clase IgM se siguen produciendo y pueden detectarse en 10% de estos pacientes crónicamente infectados en los periodos de reactivación positividad en niveles muy bajos, cerca del valor de corte.

Los pacientes con infección crónica se pueden clasificar en altamente replicativos o con infección mínimamente replicativa. Éstos con HBeAg y ADN HBV detectables en suero son considerados altamente replicativos, son altamente infecciosos para sus contactos y tienden a tener un daño hepático sustancial. Aproximadamente 10% de los pacientes con infección crónica altamente replicativa presentan reversión espontánea a un estado relativamente no replicativo en el cual se pierde HBeAg y el ADN-HBV y se adquiere anti-HBe. En el estado no replicativo la infectividad y daño hepático están limitados, estos pacientes tienden a ser portadores asintomáticos de HBV.

Con el tiempo hay una pérdida espontánea de ADN HBV y HBeAg y seroconversión a positividad anti-HBe. Sin embargo, la infección prolongada parece ser la regla y la pérdida espontánea de HBsAg es muy rara, en 2% de los pacientes por año. Algunos pacientes con infección persistente por HBV pueden estar sin HBsAg circulante y detectable en suero. Esto se confirma por una pequeña fracción de donadores de sangre que son negativos para HBsAg pero que transmiten la infección por HBV a sus receptores de sangre. Aunque algunos de estos donadores pueden encontrarse en el periodo de incubación de la HBV con mayor probabilidad se encuentran infectados de manera crónica, con HBsAg por debajo del límite de detección a causa de que ellos tienen títulos elevados de anti-HBc.

## Consideraciones del método

El inmunoensayo enzimático es el método preferido de la mayoría de los laboratorios para reali-

zar la detección del virus de la hepatitis B, aquí se describen algunas consideraciones importantes del método.

## Falsos negativos

Los casos de falsos negativos pueden darse en las siguientes situaciones:

Fase aguda precoz de una hepatitis B; la confirmación de que éste es el caso se obtiene mediante el ensayo de neutralización y demostrando la presencia de anticuerpos séricos IgM anti-HBc o de ADN del VHB en el suero mediante PCR

En pacientes en los que se genera un fenómeno de inmunotolerancia contra al HBsAg; en estos pacientes, sin embargo, se detecta el HBeAg o anticuerpos contra esta especificidad antigénica (anti-HBe) y el ANA del VHB por PCR, y, por supuesto, la reactividad HBsAg es neutralizable con anticuerpos anti-HBs.

Infección aguda o crónica en pacientes extremadamente inmunodeprimidos.

Infección por variantes defectivas del VHB en el gen X, el cual codifica la proteína transactivadora X cuya intervención es necesaria para la correcta expresión de los genes virales. En estos casos, los niveles séricos del HBsAg son muy bajos (inferiores a 0.5 ng/mL), la reactividad HBsAg es neutralizable y el ADN viral se detecta en el suero mediante PCR. Un caso particular de este supuesto es la infección por las denominadas variantes VHB tipo 2.

## Falsos positivos en la detección del HBsAg

Los fabricantes de las pruebas de detección del HBsAg alertan en la leyenda que acompaña a los reactivos sobre la posibilidad de obtener resultados falsamente positivos cuando se analizan muestras que contienen fibrina, eritrocitos o un exceso de lípidos; en estos casos, la reactividad al HBsAg desaparece cuando las muestras se cen-

trifugan o se mantienen 24-48 h a 4 °C antes de ser analizadas de nuevo. Conviene mencionar que, con mayor frecuencia de la debida, se observan falsos positivos debidos a un lavado insuficiente de la fase sólida del sistema o a la existencia de una contaminación cruzada de muestras. En la mayoría de los casos, sin embargo, la causa del falso positivo se desconoce.

La especificidad del inmunoensayo, según el fabricante, es de 99.95%. No obstante la prueba HBsAg (V2) genera con cierta frecuencia resultados falsamente positivos, particularmente cuando se analizan muestras provenientes de pacientes hemodializados. También se ha observado en muestras de gestantes y de pacientes infectados por el VHC; se trata, en general, de reacciones débilmente positivas y no neutralizables con anticuerpos anti-HBs; lo habitual es que esas muestras resulten negativas cuando se analizan mediante pruebas comercializadas por otros fabricantes

Las muestras obtenidas de pacientes sometidos a hemodiálisis también generan un número elevado de falsos positivos en la prueba HBsAg (V2); algunos de esos especímenes muestran una reactividad HBeAg también falsamente positiva. En ocasiones, los positivos espurios de HBsAg y HBeAg que se observan en estos pacientes se deben a la presencia de pequeños e inaparentes coágulos de fibrina en las muestras: los pacientes hemodializados son tratados con heparina antes de cada sesión de hemodiálisis; las muestras de sangre heparinizadas pueden coagularse parcialmente durante el análisis. Esta reactividad suele ser eliminada añadiendo trombina a la muestra y centrifugando después, o simplemente manteniendo la muestra a 4 °C durante 48 h; en otros casos es necesario emplear una PCR de ADN de VHB, para resolver el problema.<sup>7-9</sup>

Por último, es importante señalar que la interpretación de los resultados siempre agrega un elemento más que puede causar confusión. Todas las pruebas que muestren reactividad inicial deben volverse a procesar por duplicado con el mismo método, de

tal manera que si una o las dos pruebas repetidas vuelven a mostrar reactividad, el resultado final debe considerarse reactivo. Los pacientes con resultados reactivos deben tener seguimiento con otros métodos diagnósticos, las pruebas cualitativas de ADN resultan de gran utilidad para confirmar el diagnóstico y las cuantitativas tienen lugar en el seguimiento de la evolución de la enfermedad. Así, una vez que se han hecho todas las consideraciones pertinentes por el profesional técnico, le corresponderá al médico tratante correlacionar los resultados con la historia clínica de los pacientes.<sup>10</sup>

## Referencias

1. Dienstag JL, Isselbacher KJ. *Hepatitis viral aguda*. En: Harrison. Tratado de Medicina Interna 14 edición. Mc Graw-Hill. 1998: 1904-1909.
2. Tenover FC, Yolken RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 7ª ed. Washington: ASM Press 1999: 1025-1042.
3. Liu Z, Luo K, He H, Hou, (2005). Hot-spot mutation in hepatitis B virus core gene: eliciting or evading immune clearance? *Journal of Viral Hepatitis* 2005; 12(2): 146-153.
4. Zuckerman JN, Zuckerman AI. Mutations of the surface protein of hepatitis B virus. *Antiviral Res* 2003; 60: 75-78.
5. Diagnóstico serológico de la hepatitis B. En: [www.microbiologiaclinica.com/diaghepb.htm](http://www.microbiologiaclinica.com/diaghepb.htm)
6. Alhababi F, Sallam TA, Tong CY. The significance of 'anti-HBc only' in clinical virology laboratory. *J Clin Virol* 2003; 27(2): 162-9.
7. Navarro OD, García DA. Diagnóstico de la infección por el virus de la hepatitis B: Reactividad aislada del antígeno de superficie. En: [http://seimc.org/control/revi\\_Serfo/HBsAg.htm](http://seimc.org/control/revi_Serfo/HBsAg.htm)
8. Cameron SO, Stewart J, Davidson M, Ho-Yen D. Problems of an automated testing system for hepatitis B. *Comm Dis Public Health* 2000; 3: 141-142.
9. Ratnam S, Stead F, Head CB. False-positive results with third-generation monoclonal hepatitis B surface antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2102-2104.
10. Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B viral infection. *Int J Med Sci* 2005; 2(1).