

Reactividad para antígeno de superficie del virus de la hepatitis B en ausencia de anticuerpos frente al antígeno de la cápside del virus de la hepatitis B: un patrón serológico atípico de significado diverso

José María Echevarría, Pilar León y Francisco Pozo

Servicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. España.

ANTECEDENTES. La reactividad para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HB_sAg, VHB) en ausencia de anticuerpos frente al antígeno de la cápside del virus de la hepatitis B (HB_cAg) puede responder a reacciones inespecíficas en las pruebas de laboratorio o a la simple contaminación de la muestra, pero puede ser también reflejo de otras situaciones que presentan una mayor o menor trascendencia clínica. En España, se han descrito para este patrón frecuencias que oscilan entre el 0,05 y el 1,3% sobre distintas series de pacientes, por lo que cabe considerarlo como moderadamente frecuente.

MÉTODOS. Con el objeto de conocer las causas más frecuentes para este patrón atípico en nuestro medio, se realizaron estudios de confirmación de HB_sAg y se investigó la presencia de anti-HB_c total e IgM, antígeno "e" del VHB y genoma viral en muestras tomadas de 96 pacientes que fueron remitidas para estudio desde distintos centros sanitarios, entre enero de 2001 y mayo de 2002, por presentar en origen reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c total.

RESULTADOS. Se excluyó la presencia de HB_sAg en 70 casos (72,9%) y se detectó anti-HB_c total en otros 2 casos más (2,1%), confirmando los resultados obtenidos en origen en 24 pacientes (25,0%). Entre ellos, se identificaron 2 casos en los que el patrón reflejaba una fase precoz del período de ventana de la primoinfección aguda por VHB y otro en que correspondía a una infección crónica en ausencia de respuesta inmunitaria humoral en un paciente sin déficit inmunitario conocido. En un caso, se pudo detectar una contaminación en la muestra, y en otros ocho el patrón de marcadores y su evolución en el tiempo fueron los característicos del fenómeno conocido como "infección por VHB de tipo 2". En los 12 restantes, no se llegó a una conclusión definitiva al no haberse dispuesto de muestras ni datos de seguimiento.

CONCLUSIONES. Aun cuando la mayoría de los casos responden a reacciones inespecíficas o a situaciones de

dudosa trascendencia clínica, los resultados obtenidos ponen de manifiesto la conveniencia de investigar adecuadamente las muestras que presenten reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c total, toda vez que este patrón puede corresponder, también, a circunstancias inusuales, pero trascendentes, de la infección por VHB.

Palabras clave: Virus de la hepatitis B. HB_sAg. Virus de la hepatitis B de tipo 2. Variantes del virus de la hepatitis B. Hepatitis B aguda.

Hepatitis B virus surface antigen reactivity in the absence of antibodies to core antigen: An atypical serological pattern having diverse significance

BACKGROUND. Reactivity for hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HB_sAg) in samples lacking antibody to the HBV core antigen (anti-HB_c) may be due to either non-specific reactions or sample contamination, but it can also reflect other situations that may present clinical relevance. In Spain, the frequency described for this atypical pattern of HBV markers ranged from 0.05 to 1.3% in different series, so that it can be considered as moderately frequent.

METHODS. Confirmatory assays for HB_sAg and tests for detecting total and IgM anti-HB_c, HBV "e" antigen and viral DNA were performed on serum samples taken from 96 patients who showed reactivity for HB_sAg in absence of total anti-HB_c on routine studies. These samples were collected between January, 2001 and May, 2002 and were sent for study from different Spanish laboratories.

Follow-up samples were also studied from selected cases.

RESULTS. Presence of HB_sAg was excluded in 70 cases (72.9%) and total anti-HB_c was detected in two additional patients, so that the original results were confirmed in 24 patients (25.0%). After further investigations, two early phases of the window period of the acute HBV infection were identified, as well as a further case of chronic HBV carriage in absence of antibody response. A single case could be confirmed as due to a contamination of the aliquot of sample studied. The pattern of HBV markers and its evolution on the follow-up were the characteristic of the phenomenon known as "hepatitis B virus type

Correspondencia: Dr. J.M.^a Echevarría.
Servicio de Microbiología Diagnóstica. Centro Nacional de Microbiología.
Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. Madrid. España.
Correo electrónico: jmecheva@isciii.es

Manuscrito recibido el 29-8-2002; aceptado el 1-4-2003.

2 infection" in eight patients. No conclusions could be drawn from the remainder 12 cases, since no follow-up samples were available for study.

CONCLUSIONS. Besides most cases respond to non-specific reactions or reflect situations of low clinical relevance, the reactivity for HB_sAg in samples lacking anti-HB_c should be taken into consideration and routinely investigated, since this atypical pattern can also reflect unusual, but clinically relevant facts of the HBV infection that must be noticed.

Key words: Hepatitis B virus. HB_sAg. Hepatitis B virus type 2. Hepatitis B virus variants. Acute hepatitis B.

Introducción

El hallazgo de reactividad para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HB_sAg, VHB) en ausencia de anticuerpos frente al antígeno de la cápside del virus de la hepatitis B (anti-HB_c) es moderadamente frecuente en los laboratorios de diagnóstico microbiológico. En un estudio poblacional realizado en 702 niños cameruneses en 1990¹, la frecuencia de este patrón atípico fue del 4,1% (29 casos), que constituían el 18% de los 163 casos positivos para HB_sAg detectados en el estudio. En España, se han comunicado frecuencias menores, desde el 1,3% (25/1.879) en mujeres embarazadas sanas² hasta el 0,05-0,6% en pacientes no seleccionados y remitidos para estudios rutinarios (0,9 y 10% del total de positivos para HB_sAg, respectivamente)^{3,4}. Las observaciones realizadas en Francia⁵ y algunas de las descritas en España⁶ sugieren una variación anual y estacional en su frecuencia, con años de mayor incidencia y tendencia a la acumulación de casos en primavera, si bien faltan estudios prospectivos de suficiente duración que puedan confirmar estos extremos.

Aun cuando se haya acostumbrado a atribuir este patrón a reacciones inespecíficas en las pruebas sistemáticas de detección de HB_sAg⁷, lo cierto es que muchos casos pueden ser confirmados mediante ensayos de neutralización con anticuerpos policlonales y/o monoclonales específicos frente al antígeno (anti-HB_s), lo cual viene a demostrar su presencia real en la muestra⁶. En ocasiones, el hallazgo se acompaña de la detección de concentraciones elevadas de antígeno e del VHB (HBeAg) circulante y de ADN viral, lo que responde a una inmunotolerancia extrema frente al virus que no es rara en individuos infectados por la vía vertical^{8,9} o en pacientes que sufren inmunodepresión debida a coinfección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹⁰ o a otras causas¹¹. En general, cabe afirmar que el hallazgo de viremia elevada en ausencia de anti-HB_c debe hacer pensar en una infección adquirida por vía vertical, siempre que no haya otros datos que justifiquen una inmunodepresión profunda en el paciente.

Al margen de los estudios que puedan realizarse sobre la muestra en la que se produce el hallazgo, el estudio de una muestra de seguimiento es esencial para poder interpretar el significado de este patrón serológico. Así, los casos con viremia detectable en la muestra inicial pueden corresponder a pacientes que se hallan en el período de ventana de la infección aguda, lo cual suele acompañarse de presencia de IgM anti-HB_c y permitirá siempre

detectar seroconversión para anti-HB_c total en el seguimiento. Cuando las pruebas de detección de HBeAg y ADN viral son también negativas, lo habitual es que la reactividad para HB_sAg se aclare en pocos días y que no se observe esta seroconversión. Este patrón de evolución fue descrito por primera vez en Senegal e interpretado como signo de infección por una hipotética variante del VHB, bautizada como VHB de tipo 2 (VHB-2)^{12,13}, aunque otros estudios anteriores habían puesto ya de manifiesto su existencia¹⁴. Los intentos de caracterizar molecularmente las cepas de VHB involucradas en estos casos se han centrado en el estudio de las regiones C y X del genoma viral. Así, se han descrito mutaciones y deleciones en la región C que, sin embargo, no afectaban a la región antigénica principal del HB_sAg y no eran suficientes para explicar la ausencia de respuesta de anti-HB_c¹⁵. Por el contrario, se ha demostrado que ciertas deleciones en la región X se asocian a infecciones con baja expresión de HB_sAg y ausencia de respuesta de anti-HB_c^{16,17}, si bien ninguno de los casos comunicados presentaba el patrón de evolución de marcadores característico de la infección por VHB-2. Por último, se sabe también que la vacunación frente al VHB induce una antigenemia HB_sAg transitoria, cuya duración puede extenderse hasta por 21 días. Este fenómeno se ha encontrado tanto en recién nacidos^{18,19} como en adultos normales²⁰ y en pacientes hemodializados²¹⁻²³ receptores de vacuna recombinante.

Con el objeto de conocer las causas más frecuentes de la detección de reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c en nuestro medio, se han revisado los resultados obtenidos sobre las muestras que, por este motivo, se enviaron para estudio al Centro Nacional de Microbiología a lo largo de un período de 18 meses.

Métodos

Pacientes y muestras

En el período comprendido entre enero de 2001 y mayo de 2002, se recibieron para estudio muestras de suero procedentes de 103 pacientes que mostraron en origen reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c total detectable. En 7 casos, el volumen de muestra resultó insuficiente para realizar las pruebas mínimas necesarias para su investigación, por lo que, finalmente, pudieron considerarse las recibidas de 96 pacientes, que constituyen la base del presente estudio. En algunos casos seleccionados se estudiaron también muestras de seguimiento tomadas con posterioridad a mayo de 2002.

Pruebas de laboratorio

En todas las muestras recibidas se estudió la presencia de HB_sAg según un procedimiento de neutralización con anticuerpos policlonales anti-HB_s⁶ cuyo umbral de sensibilidad se estima en, aproximadamente, 0,08 ng de HB_sAg/ml. En esta prueba, la presencia del HB_sAg se consideró confirmada cuando se obtuvo una lectura base mayor o igual a 0,025A, acompañada del 50% o más de neutralización. Asimismo, se investigó la presencia de HBeAg y anti-HB_c total e inmunoglobulina M (IgM) mediante métodos automatizados de enzoinmunoanálisis (ELFIA) (Vitros ECI, Ortho Clinical Diagnostics, Raritan, NJ, Estados Unidos). La presencia de viremia se estudió en todas las muestras mediante una prueba de hibridación molecular para cuantificación del ADN del VHB (Digene Hybrid Capture II, HBV DNA Test, Digene Corp., Gaithersburg, MD, Estados Unidos) y por amplificación genómica mediante un procedimiento cualitativo de reacción en cadena de la polimerasa doble anidada (nPCR) desarrollado en el propio laboratorio, utilizando unos iniciadores externos e internos

complementarios de secuencias conservadas en la región P del genoma del VHB que rinden un fragmento final de 341 pares de bases²⁴. Las sensibilidades analíticas de estas técnicas se estiman en 1 pg/ml (equivalente a, aproximadamente, 300.000 copias/ml) y 1.000 copias/ml, respectivamente.

Resultados

De las 96 muestras iniciales estudiadas, 68 (70,8%) mostraron una lectura base inferior a 0,025A en la prueba de neutralización de HB_sAg, lo que descartó la presencia del antígeno en la muestra. Además, la reducción de la señal por incubación previa con anti-HB_s fue inferior al 50% en 2 de las 28 muestras reactivas (2,1%), lo que se tomó como prueba de la existencia de una reactividad inespecífica. En las 26 muestras restantes (27,1%), la prueba de neutralización confirmó la presencia del HB_sAg, aunque en dos de ellas pudo detectarse, también, reactividad para anti-HB_e total. Finalmente, se confirmó la presencia de HB_sAg en ausencia de anti-HB_e total en 24 casos (25%). Todas las muestras iniciales de estos 24 pacientes fueron negativas para anti-HB_e IgM. Una de ellas mostró una reactividad intensa para HBeAg que se acompañó de presencia de ADN viral, detectable tanto por nPCR como por hibridación molecular (cuantificación: > 6.000 pg/ml), en tanto que otra presentó reactividad reproducible en la prueba de amplificación genómica y valores bajos (2 pg/ml) de ADN viral por hibridación, siendo negativa para HBeAg.

En los 24 casos confirmados, se solicitó al centro remitente el envío de una muestra de seguimiento, tomada al menos 15 días después de la muestra inicial. Dicha muestra se recibió de tan sólo 9 pacientes. Posteriormente, se solicitó información sobre los resultados de seguimiento que pudieran haberse obtenido en los centros de origen en otras muestras tomadas de los 15 pacientes de quienes no se recibió muestra de seguimiento, obteniéndose información de interés en 3 casos. En total, se dispuso de resultados de seguimiento en 12 de los 24 casos confirmados (50%).

Dos de estos 11 pacientes mostraron resultados compatibles con infección primaria aguda por VHB (tabla 1), lo que puso de manifiesto que la muestra inicial había sido tomada en un momento muy precoz del período ventana de la infección. El primer caso (paciente 1) correspondió a un varón de 33 años de edad que presentaba un cuadro clínico de hepatitis aguda en el momento en que fue obtenida la primera muestra. La detección de IgM

específica frente al VHA fue negativa en las dos muestras tomadas del paciente. El segundo (paciente 2) era un donante de sangre que acudió a su médico con los síntomas característicos de una hepatitis aguda 7 semanas después de haber realizado una donación. En el momento de la consulta, el donante presentaba una marcada elevación de las transaminasas glutámicoalacética y glutamicopirúvica (GOT, 1.285 U/l; GPT, 3.404 U/l), acompañada de concentraciones elevadas de gammaglutamiltranspeptidasa (181 U/l), bilirrubina total (12,1 mg/dl), fosfatasa alcalina (402 U/l) y lactato deshidrogenasa (577 U/l), siendo comunicadas estas circunstancias por el propio donante al banco de sangre que recibió su donación, lo que motivó el estudio retrospectivo de la muestra correspondiente a aquel momento. Dicha muestra, tomada 7 semanas antes, fue negativa para HB_sAg en la prueba de cribado realizada en el banco (Hepanostika UNIFORM II, Organon Teknika; índice respecto del valor de corte: 0,48) y lo fue también en otra prueba de cribado diferente (Vitros ECI) realizada en el laboratorio de los autores (índice, 0,57). Sin embargo, mostró reactividad en la prueba de neutralización (valor de absorbancia basal: 0,053A, concentración de HB_sAg estimada: 0,15 ng/ml), así como una inhibición de señal por anti-HB_s (94%) que confirmó la presencia del HB_sAg. El concentrado de hematíes procedente de la donación fue transfundido a una paciente que, 4 meses después de la transfusión, no mostró marcadores compatibles con infección aguda reciente por VHB. La investigación realizada por el banco de sangre no pudo identificar ningún episodio de riesgo que pudiese orientar sobre el momento en el que el donante adquirió la infección. Cuatro meses después de la donación positiva para HB_sAg, el donante había aclarado el HBeAg y la viremia y había seroconvertido para anti-HBe, aunque continuaba mostrando concentraciones elevadas de HB_sAg en suero.

En el paciente cuya muestra inicial fue positiva para HBeAg y ADN viral, la muestra de seguimiento, tomada 2 meses más tarde, rindió resultados similares, persistiendo la negatividad para anti-HB_e total e IgM (tabla 2). El caso correspondía a un inmigrante de 35 años de edad que procedía del este de Europa y que fue estudiado por presentar una elevación discreta y persistente de las concentraciones séricas de transaminasas (GOT, 55 U/l) en ausencia de síntomas clínicos y de otros signos de hepatopatía. En el momento de solicitar información adicional sobre el caso, el paciente había abandonado ya la zona y no fue posible localizar su

TABLA 1. Pacientes con reactividad aislada para HB_sAg detectada durante una fase precoz del período de ventana de la primoinfección aguda por VHB

Paciente	Fecha de la extracción	HB _s Ag (A base)	Porcentaje neutralización	Anti-HB _e		HBeAg	ADN (pg/ml)	PCR	Procedencia
				Total	IgM				
1	4/02	0,081	98	3,13	0,07	0,00	—	—	Pontevedra
	5/02	> 2.000	98	2,09	0,09	1.250	500	+	
2	2/02	0,053	94	3,43	0,01	0,34	—	—	Madrid
	4/02	> 2.000	95	0,02	3,90	2.040	60	+	
	6/02	> 2.000	ND	0,26	3,35	0,25	—	—	

HB_sAg: antígeno de superficie de la hepatitis B; VHB: virus de la hepatitis B; HB_e: hepatitis B del núcleo; HBeAg: antígeno e de la hepatitis B; IgM: inmunoglobulina M; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; ND: no determinado.
En cursiva se destacan los resultados positivos obtenidos en cada prueba.

paradero, por lo que no pudieron obtenerse otros datos. Por su parte, el que mostró valores bajos de ADN viral en ausencia de HBeAg aclaró totalmente las reactividades para HB_sAg y ADN viral en una muestra tomada 11 meses más tarde. Al tratarse de un donante de sangre, pudo obtenerse una nueva alícuota de la muestra inicial, que había sido conservada en la seroteca del banco de

sangre desde el momento de la donación y que nunca había sido manipulada. Todas las pruebas fueron negativas en esa nueva alícuota.

En los 8 pacientes restantes (tabla 3), el HB_sAg confirmado en la muestra inicial se aclaró en la de seguimiento, sin que se produjera en ningún caso seroconversión para anti-HB_e total. En las cinco muestras

TABLA 2. Pacientes con reactividad para HB_sAg y ADN viral en ausencia de anti-HB_e

Paciente	Fecha de la extracción	HB _s Ag (A base)	Porcentaje neutralización	Anti-HB _e		HBeAg	ADN (pg/ml)	PCR	Procedencia
				Total	IgM				
1	7/01	0,742	90	4,40	0,59	> 48	> 6.000	+	Castellón
	9/01	> 2.000	ND	3,97	0,13	39	> 6.000	+	
2	7/01	> 2.000	95	3,18	0,10	0,10	2,0	+	Madrid
	7/01*	0,008		3,20	0,10	0,11	—	—	
	5/02	0,014		3,77	0,13	0,15	—	—	

*Nueva alícuota procedente de la misma extracción (v. Resultados). Para siglas véase la tabla 1.

En cursiva se destacan los resultados positivos obtenidos en cada prueba.

El primero sufría una infección crónica por VHB en ausencia de respuesta inmunitaria humoral. En el segundo, se interpretó que los resultados obtenidos en la muestra inicial respondían a una contaminación de la alícuota original enviada para estudio.

TABLA 3. Pacientes con reactividad aislada para HB_sAg que mostraron los resultados característicos de las infecciones VHB-2 en el seguimiento

Paciente	Fecha de la extracción	HB _s Ag (A base)	Porcentaje neutralización	Anti-HB _e		HBeAg	ADN (pg/ml)	PCR	Procedencia
				Total	IgM				
1	5/01	0,048	96	3,33	0,04	0,10	—	—	Pontevedra
	8/01	—*		—*	ND	ND	ND	ND	
2	7/01	0,067	96	2,47	0,08	0,13	—	—	Madrid
	11/01	—*		—*	ND	ND	ND	ND	
3	8/01	0,092	90	3,40	0,04	0,10	—	—	Cáceres
	10/01	0,005		3,05	0,08	0,12	—	—	
4	12/01	0,134	73	3,73	0,01	0,15	—	—	Madrid
	1/02	—*		—*	ND	ND	ND	ND	
5	1/02	0,084	96	2,85	0,03	0,20	—	—	Ceuta
	7/02	0,008		3,40	0,02	0,17	—	—	
6	3/02	0,026	92	2,74	0,03	0,10	—	—	Guadalajara
	4/02	0,009		3,43	0,03	0,12	—	—	
7	4/02	0,057	89	4,01	0,12	0,20	—	—	Guadalajara
	5/02	0,002		3,99	0,07	0,29	—	—	
8	4/02	> 2.000	99	3,73	0,02	0,18	—	—	Guadalajara
	6/02	0,004		3,41	0,01	0,22	—	—	

*Datos aportados por los centros remitentes.

Para siglas véase la tabla 1.

En cursiva se destacan los resultados positivos obtenidos en cada prueba.

TABLA 4. Pacientes con reactividad aislada para HB_sAg en los que no pudieron obtenerse muestras de seguimiento

Paciente	Fecha de la extracción	HB _s Ag (A base)	Porcentaje neutralización	Anti-HB _e		HBeAg	ADN (pg/ml)	PCR	Procedencia
				Total	IgM				
1	4/01	0,173	98	2,28	0,08	0,10	—	—	Madrid
2	5/01	0,996	98	3,04	0,04	0,10	—	—	Alicante
3	5/01	0,078	96	1,63	0,06	0,10	—	—	Pontevedra
4	9/01	0,650	96	1,60	0,07	0,10	—	—	Pontevedra
5	11/01	0,088	95	3,44	0,05	0,12	—	—	Madrid
6	2/02	0,025	92	3,44	0,07	0,10	—	—	Madrid
7	4/02	0,025	75	3,63	0,04	0,15	—	—	Granada
8	4/02	0,054	93	3,33	0,01	0,20	—	—	Pontevedra
9	4/02	0,116	87	3,25	0,04	0,10	—	—	Lugo
10	4/02	0,071	90	3,11	0,02	0,11	—	—	Guadalajara
11	5/02	0,057	94	3,25	0,03	0,16	—	—	Cáceres
12	5/02	0,144	97	3,16	0,04	0,30	—	—	Lugo

En cursiva se destacan los resultados positivos obtenidos en cada prueba. Para siglas véase la tabla 1.

de seguimiento que se remitieron al laboratorio de referencia, no se detectó, tampoco, presencia de anti-HB_c IgM y las pruebas de detección de HBeAg y ADN viral fueron siempre negativas. Tres pacientes (pacientes 6-8) eran donantes de sangre que resultaron positivos para HB_sAg en el cribado sistemático de hemodonaciones, en tanto que una (paciente 2) era una mujer embarazada asintomática que fue, también, detectada en las pruebas habituales de cribado. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos sobre las muestras de los 12 pacientes en los que se confirmó la presencia de HB_sAg aislado en la muestra estudiada, pero no pudieron obtenerse datos de seguimiento. Ninguno de estos 20 pacientes había sido vacunado frente al VHB en fechas cercanas a la de la toma de la muestra positiva para HB_sAg.

Discusión

La reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c total es un patrón serológico atípico que puede responder a diferentes causas. Con frecuencia, esta reactividad no resulta reproducible o no puede ser confirmada mediante pruebas de neutralización con anti-HB_s, lo que es reflejo de reacciones inespecíficas en las pruebas de detección de HB_sAg y descarta la infección por VHB⁷. Los resultados obtenidos en esta investigación, en la que la presencia del HB_sAg no pudo confirmarse en más del 70% de los casos estudiados, parecen indicar que esta es, con mucho, la explicación más frecuente para este patrón en nuestro medio. No obstante, cabe resaltar que, a excepción de 2 casos, las muestras estudiadas no mostraron reactividad alguna en la prueba de neutralización, lo que indica que las reacciones inespecíficas reproducibles en ensayos diferentes son infrecuentes. Por lo demás, no se ha podido tener constancia cierta de que las muestras recibidas se correspondiesen exactamente con las extracciones en las que los centros remitentes detectaron las reactividades declaradas. Considerando que el fenómeno conocido como "infección por VHB-2" se caracteriza por el rápido aclaramiento de la reactividad para HB_sAg^{3-6,12,14}, no puede descartarse que, en un mayor o menor número de casos, la muestra remitida para estudio correspondiese, en realidad, a una nueva extracción realizada algunos días después de la que mostró la reactividad en origen, pudiendo haberse aclarado ya, en ese momento, dicha reactividad. En consecuencia, no puede asegurarse con certeza que todos estos casos constituyan, realmente, falsos positivos en las pruebas de detección de HB_sAg realizadas en los centros de origen.

Las dinámicas de la antigenemia, la viremia y la respuesta de anticuerpos durante las fases precoces de la primoinfección aguda por VHB se conocen con cierto detalle gracias a los experimentos de transmisión a voluntarios realizados en 1978²⁵. Según esos datos, cabe prever que entre 8 y 9 semanas después de la infección se pueda producir el hallazgo del HB_sAg en suero en ausencia de concentraciones detectables de HBeAg y viremia. Entre las semanas 10 y 14 postinfección, ambos marcadores de replicación viral serían ya detectables, sin que aún lo fuera el anti-HB_c total. Los hallazgos obtenidos en los 2 casos de infección primaria aguda detectados en este estudio constituyen una confirmación práctica de que

la reactividad aislada para HB_sAg puede ser, realmente, reflejo de un momento muy temprano del período ventana de la primoinfección aguda, por más que resulte muy infrecuente que un paciente vaya a ser estudiado en un momento tan concreto y breve de la fase pre-sintomática de la infección. Además, el patrón de marcadores obtenido en la segunda muestra del primero de ellos (tabla 1, paciente 1) fue coherente con la dinámica viral descrita tras aquellos experimentos e indica que la detección de anti-HB_c IgM puede ser, también, negativa, una vez que los marcadores de replicación viral son ya perfectamente detectables. Cabe destacar que el bajo nivel de HB_sAg que puede deducirse de las lecturas de absorbancia obtenidas en la prueba de neutralización predice que esas muestras podrían no ser detectadas si se estudiaran por métodos de laboratorio cuya sensibilidad analítica no alcance los 0,1 ng/ml, según se ha descrito en un trabajo anterior realizado con muestras que presentaban patrones compatibles con infección por VHB-2²⁶. De hecho, la muestra temprana correspondiente al donante de sangre (tabla 1, paciente 2) no fue detectada por ninguno de los dos métodos de cribado de HB_sAg utilizados por el banco de sangre y por el laboratorio de referencia, respectivamente. Estos resultados destacan la importancia de seleccionar métodos de alta sensibilidad para el cribado de HB_sAg en los bancos de sangre²⁶, así como la conveniencia de investigar adecuadamente cualquier muestra que presente reactividad débil y aislada para este marcador, toda vez que puede estar reflejando una hepatitis B aguda en fase presintomática. El hecho de que la paciente transfundida con el concentrado de hematíes procedente de esa donación no resultase infectada sugiere la ausencia de viremia en ese momento o su presencia en concentraciones insuficientes para que pudiese tener lugar la transmisión del virus.

Aun cuando se hayan tratado de relacionar las infecciones crónicas negativas para anti-HB_c con la presencia de mutaciones en la región C del genoma del VHB^{10,27}, lo cierto es que, en la inmensa mayoría de los casos, esta situación responde a fenómenos de inmunotolerancia ligados a la transmisión vertical del virus⁸ o es motivada por una inmunodepresión¹¹, incluso en los casos en los que estas circunstancias no son evidentes⁹ o en los que se detectan algunas mutaciones^{10,27} que, por lo demás, no afectan a las regiones que codifican por los epítomos inmunodominantes del HB_cAg²⁸. En el caso detectado en este estudio, el mantenimiento del patrón de viremia elevada en ausencia de anti-HB_c por un período de 2 meses excluye la infección aguda e indica, con alta probabilidad, la existencia de una inmunotolerancia a la infección crónica. Las peculiaridades del paciente no permitieron confirmar plenamente el supuesto ni investigar de forma adecuada los antecedentes epidemiológicos del caso, si bien su región de procedencia hace verosímil la hipótesis de que se trate de un caso de transmisión vertical del virus con resultado de inmunotolerancia extrema. Como es habitual en estos casos⁸, el paciente no mostraba signos ni síntomas de hepatopatía crónica por VHB.

En los otros 8 pacientes en los que se dispuso de seguimiento serológico, los resultados fueron los característicos de las infecciones "VHB-2" descritas en la literatura^{5,12,14} y documentadas ya en España en varias publicaciones previas^{2-4,6,29}. Las pruebas de detección de

genoma viral realizadas en esas muestras fueron siempre negativas, lo que es habitual en estos casos y dificulta mucho la caracterización molecular del fenómeno. Aun cuando la carencia de muestras de seguimiento no permita asegurarlo, los bajos niveles de HB_sAg detectados en los 12 pacientes incluidos en la tabla 4 y la ausencia de ADN viral en todos ellos hacen suponer que estos casos responden también, muy probablemente, al mismo fenómeno. En conjunto, estos 20 pacientes fueron detectados en diferentes regiones de España (Andalucía, Castilla-La Mancha, Ceuta, Galicia, Extremadura, Madrid y Valencia), por lo que los casos no parecen responder a brotes localizados. No obstante, se observó una cierta acumulación de casos en Pontevedra-Lugo y Guadalajara (6 y 4 casos, respectivamente, en la serie completa), así como una cierta tendencia a presentarse en los meses de primavera (13 casos), destacando la presentación de 2 casos en Pontevedra durante el mes de mayo de 2001, dos en Lugo en abril-mayo de 2002 y tres en Guadalajara en el período de marzo-abril del mismo año. Los 2 casos de Lugo correspondieron a embarazadas sanas detectadas en pruebas de cribado habitual de HB_sAg, en tanto que los tres de Guadalajara fueron detectados por el banco de sangre. La ausencia de antecedente de vacunación reciente frente al VHB en estos 20 pacientes excluye, en todos ellos, que los hallazgos serológicos respondan a esa circunstancia.

Al margen de los resultados publicados con anterioridad a los que dieron lugar al término "VHB-2"¹⁴, la detección de ADN viral en algunos casos que presentaban el perfil serológico y el patrón de evolución característicos de este fenómeno^{5,6,15} apoyan que pueda responder, realmente, a la infección por variantes del VHB aún no caracterizadas en forma satisfactoria. No obstante, las bajas concentraciones de antigenemia que indican los resultados de las pruebas de detección de HB_sAg sugieren que un cierto porcentaje de los casos podría responder a la simple contaminación de la muestra con una pequeña cantidad de suero de un portador, toda vez que la concentración de HB_sAg en el suero de un portador crónico puede ser muy elevada y capaz de originar resultados positivos incluso en diluciones del orden de 10⁴ a 10⁶ veces. En uno de los casos estudiados durante esta investigación (tabla 2, paciente 2), las circunstancias permitieron concluir que las reactividades observadas inicialmente para HB_sAg y ADN viral respondían, de hecho, a una contaminación de la alícuota de muestra estudiada inicialmente, toda vez que no se reprodujeron sobre una nueva alícuota de la misma extracción que nunca había sido manipulada en el laboratorio. Estas contaminaciones pueden producirse en diferentes puntos del proceso de obtención y análisis de cualquier muestra y, una vez han sucedido, sólo podrán ser identificadas cuando concurren circunstancias excepcionales, por lo que no es posible estimar su frecuencia.

En conclusión, los datos obtenidos en la presente investigación vienen a confirmar que el hallazgo de reactividad para HB_sAg en ausencia de anti-HB_c no es raro en los laboratorios de diagnóstico y en los bancos de sangre españoles y que puede responder a causas diversas. Aún cuando las reacciones inespecíficas y las situaciones carentes, en principio, de trascendencia clínica (VHB-2, contaminación de la muestra) respondan de la

gran mayoría de los casos, la constatación de que este patrón puede ser reflejo de primoinfección aguda en fase muy precoz o de inmunotolerancia extrema a la infección crónica pone de manifiesto la necesidad de investigar de manera adecuada cada caso, realizando estudios de confirmación y esforzándose en obtener muestras de seguimiento siempre que sea posible. El hecho de que la reactividad observada sea débil no descarta que refleje una situación de infección por VHB que pueda tener significado clínico, lo que destaca la conveniencia de que los laboratorios de diagnóstico, y especialmente los bancos de sangre, trabajen con métodos de detección de HB_sAg de alta sensibilidad y dispongan de la ayuda de laboratorios de referencia con experiencia y tecnología suficientes como para resolver adecuadamente los casos. La inclusión de muestras con reactividad aislada para HB_sAg en los programas de control de calidad dirigidos a los laboratorios clínicos y a los bancos de sangre resulta, por lo tanto, muy recomendable.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a los Dres. Álvarez Cerezo (Hospital Campo Arañuelo, Cáceres), Barbolla (Hospital de Móstoles, Madrid), Casal (Hospital de la Princesa, Madrid), Casas (Hospital Fundación Alcorcón, Madrid), Gascón (Cruz Roja, Ceuta), González (Cruz Roja, Madrid), González Ponce (Hospital da Costa Burela, Lugo), Gutiérrez (Hospital de San Juan, Alicante), Hernández (Complejo Hospitalario, Pontevedra), Jurado (C.R.T.S., Madrid), Ojeda (Hospital General, Guadalajara), Pardo (Hospital General, Castellón) y Reguera (Hospital de Baza, Granada) por haber proporcionado detalles sobre los pacientes con presencia confirmada de HB_sAg en ausencia de anti-HB_c incluidos en el estudio, así como a Pilar García, José A. López e Inés Parera, por su excelente asistencia técnica en la realización de las pruebas de laboratorio.

Bibliografía

- Chiaromonte M, Stroffolini T, Ngatchu T, Rapicetta M, Lantum D, Kaptue J, et al. Hepatitis B virus infection in Cameroon. A seroepidemiological survey in city school children. *J Med Virol* 1991;33:95-9.
- Sastre A, Ariño V, Gutiérrez JL, León P, Echevarría JM. ¿Infección por VHB-2? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1991;9:581-2.
- Benito R, Bernad JM, Pérez Calvo J, Rubio MC. Perfiles compatibles con infección por el VHB-2. *Rev Esp Microbiol Clin* 1992;7:510-1.
- Santana OE, Francés A, Sierra A, Hernández J, Martín-Sánchez AM. Marcadores serológicos de hepatitis B: patrones atípicos detectados en el Hospital Insular de Gran Canaria. *Rev Clin Esp* 1995;195:674-7.
- Buisson Y, Coursaget P, Bourdil C, Schill H, Joussemet M, Molinié C. Hepatitis B virus type 2 infection in France. *Res Virol* 1990;141:365-7.
- Echevarría JM, León P, Domingo CJ, López JA, Echevarría JE, Contreras G, et al. Characterization of HBV2-like infections in Spain. *J Med Virol* 1991;33:240-7.
- Ratnam S, Stead F, Head CB. False-positive results with third generation monoclonal hepatitis B surface antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1989;27:2102-4.
- Lee S-D, Lo K-J, Tsai Y-T, Wu J-C, Wu T-C. HB_sAg carrier infants with serum anti-HB_c negativity. *Hepatology* 1989;9:102-4.
- Lee J-H, Pagliaroni T, Holland PV, Zeldis JB. Chronic hepatitis B virus infection in an anti-HB_c-nonreactive blood donor: Variant virus or defective immune response? *Hepatology* 1992;16:24-30.
- Bhat RA, Ulrich PP, Vyas GN. Molecular characterization of a new variant of hepatitis B virus in a persistently infected homosexual man. *Hepatology* 1990;11:271-6.
- Melegari M, Jung MC, Schneider R, Santantonio T, Bagnulo S, Luchena N, et al. Conserved core protein sequences in hepatitis B virus infected patients without anti-HB_c. *J Hepatol* 1991;13:187-91.
- Coursaget P, Yvonne B, Bourdil C, Mevelec MN, Adamowicz P, Barrés JL, et al. HB_sAg positive reactivity in man not due to hepatitis B virus. *Lancet* 1987;II:1354-8.

13. Coursaget P, Yvonnet B, Bourdil C, Buisson Y, Chotard J, N'Doye R, et al. Hepatitis B virus surface antigen reactivity in man due to a new variant of hepatitis B virus. *Vaccine* 1990;8:S15-7.
14. Echevarría JM. Variantes del virus de la hepatitis B. Su importancia epidemiológica y clínica. *Virología* 1993;1:131-41.
15. Valliammai T, Echevarría JM, León P, Tuset C, Harrison TJ. Amplification and sequence analysis of the precore and core region of the HBV genome from sera of Spanish patients with HBV2-like infections. *J Med Virol* 1995;46:375-9.
16. Feitelson M, Duan L-X, Horiike N, Clayton M. Hepatitis B X open reading frame deletion mutants isolated from atypical hepatitis B infections. *J Hepatol* 1991;13:S58-60.
17. Repp R, Keller C, Borkhardt A, Csecke A, Schaefer S, Gerlich WH, et al. Detection of a hepatitis B virus variant with a truncated X gene and enhancer II. *Arch Virol* 1992;125:299-304.
18. Challapalli M, Slosar M, Vasa R, Cunningham DG. Brief surface antigenemia in newborn infants vaccinated with hepatitis B vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1993;46:375-9.
19. Köksal N, Altinkaya N, Perk Y. Transient hepatitis B surface antigenemia after neonatal hepatitis B immunization. *Acta Paediatr* 1996;85:1501-2.
20. Kloster B, Kramer R, Eastlund T, Grossman B, Zarvan B. Hepatitis B surface antigenemia in blood donors following vaccination. *Transfusion* 1995;35:475-7.
21. Kear TM, Wright LS. Transient hepatitis B antigenemia in hemodialysis following hepatitis B vaccination. *Ann J* 1996;23:331.
22. Janzen L, Minuk GY, Fast M, Bernstein KN. Vaccine-induced hepatitis B surface antigen positivity in adult hemodialysis patients: Incidental and surveillance data. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:1228-34.
23. Santana OE, Morillas C, Esparza N, Toledo A, Checa MD, Martín Sánchez AM. Antigenemia transitoria de superficie de la hepatitis B en pacientes en hemodiálisis. *Rev Clin Esp* 1999;199:198-201.
24. Stuyver L, Van Geyt C, De Gendt S, Van Reybroeck G, Zoulim F, Leroux-Roels G, et al. Line probe assay for monitoring drug resistance in hepatitis B virus-infected patients during antiviral therapy. *J Clin Microbiol* 2000;38: 702-7.
25. Hoofnagle JH, Seef LB, Bales ZB, Gerety RJ, Tabor E. Serologic responses in HB. En: Vyas GN, Cohen SN, Schmid R, editors. *Viral hepatitis: A contemporary assessment of etiology, epidemiology, pathogenesis and prevention*. Philadelphia: Franklin Institute Press, 1978; p. 193-201.
26. León P, López JA, Echevarría JM. Sensitivity of seven commercial assays in the detection of hepatitis B virus type 2-like infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:639-42.
27. Fiordalisi G, Primi D, Tanzi E, Magni E, Incarboni C, Zanetti A, et al. Hepatitis B virus C gene heterogeneity in a familial cluster of anti-HBc negative chronic carriers. *J Med Virol* 1994;42:109-14.
28. Tordjeman M, Fontan G, Rabillon V, Martin J, Trepo C, Hoffenbach A, et al. Characterization of minor and major antigenic regions within the hepatitis B virus nucleocapsid. *J Med Virol* 1993;41:221-9.
29. Echevarría JM, León P, Domingo C, López JA. Atypical hepatitis B virus in Spain? *Lancet* 1988;II:1315-6.

Fe de errores

En el artículo titulado "Coma vigil tras meningitis por *Listeria monocytogenes*" (*Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20[3]:127-8) se han detectado dos errores.

– El nombre de pila del tercer autor es *José M. Mellado* y no Josep como aparecía publicado.

– La figura 2 aparece representada al revés. Debería haber salido publicada tal y como se representa a continuación.



Figura 2. La secuencia sagital spin-echo T1 tras la administración de contraste paramagnético muestra engrosamiento y captación difusa de cubiertas meníngeas a nivel espinal (cabezas de flecha), asociándose adherencias que alteran el trayecto del cordón medular y generan loculación de espacios de LCR (flecha). Hallazgos, por tanto, que sugieren la existencia de aracnoiditis espinal.