

Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.

**Director:** Gustavo A. Capriotti

**Redactor:** Cristina M. Crepaldo

**Editor Responsable:** Wiener Laboratorios S.A.I.C. - 2000 - Rosario - Argentina

http://www.wiener-lab.com.ar

**Pág. 1-4 :** Importancia del test para detección de anti-HBc (IgG) en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

## Importancia del test para detección de anti-HBc (IgG) en el tamizaje serológico de donantes de sangre

Amadeo Sáez-Alquézar <sup>1</sup>

*1 Panel, Assessoria e Controle de Qualidade, Laboratório - Consultor de La OS/OMS*

El test de anti-HBc (total o IgG) fue propuesto inicialmente en 1985, conjuntamente con la detección de los niveles séricos de actividad de la alanina aminotransferasa (ALT) para disminuir el riesgo para las hepatitis post-transfusionales No A No B (HPTNANB).

Utilizándose únicamente el test anti-HBc se conseguía prevenir cerca del 30% de las HPTNANB, con un descarte adicional del 5,1% de las bolsas colectadas mientras que cuando se utilizaban los dos tests (anti-HBc + ALT) se conseguía prevenir casi 60% de las HPTNANB, con un descarte de bolsas, por los dos tests de más de 7,0%.

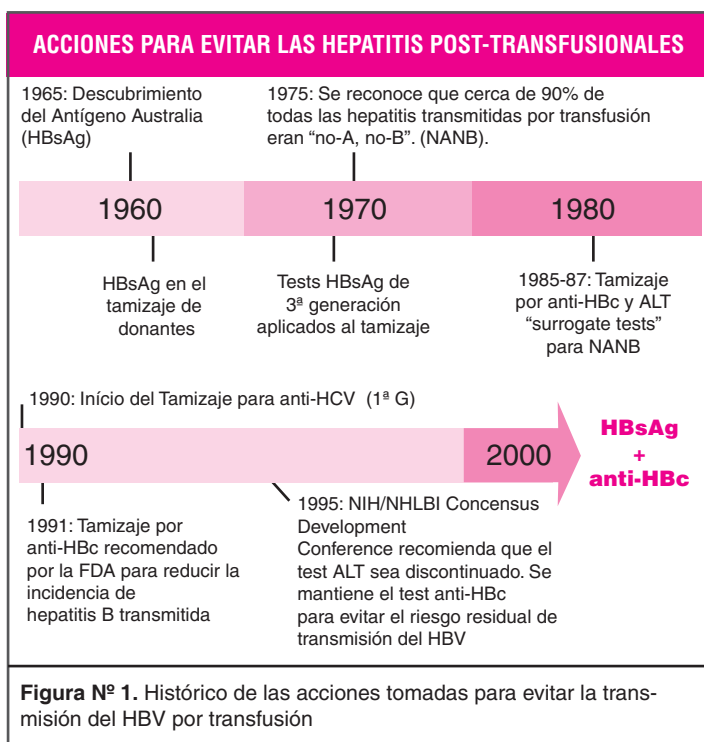
En 1989 fue descubierto el virus de la hepatitis C (HCV) y rápidamente fueron desarrollados tests diagnósticos para detectar la presencia de anticuerpos anti-HCV. Esos tests se empezaron a aplicar en el tamizaje serológico de donantes de sangre a partir de 1990/91. En poco tiempo se comprobó que más de 90% de las HPTNANB eran causadas por el virus C.

A partir de ese momento se empezó a indagar la necesidad de mantener el test anti-HBc en el tamizaje serológico. En 1991 la FDA (Food and Drug Administration) recomendó el test de anti-HBc en el tamizaje serológico de donantes de sangre para reducir la incidencia de hepatitis B transmitida por transfusión.

En 1995 una reunión de consenso realizada por el NIH en EUA, recomendó que el test de ALT fuese discontinuado, pero recomendó que se mantuviese el test anti-HBc, para evitar el riesgo residual de transmisión por el virus de la hepatitis B (HBV). (**Figura 1**)

Hasta hoy, 14 años más tarde, el concepto continúa siendo el mismo y la importancia del anti-HBc ha sido reforzada en base al análisis de los resultados obtenidos en bancos de sangre del mundo entero.

El test para la detección del HBsAg (antígeno de superficie del virus B) continúa siendo la primera opción para interrumpir la transmisión del virus B y se utiliza en el tamizaje serológico en todos los países, mientras que el test de anti-HBc se aplica solamente en algunos. En la mayoría de los casos, el test anti-HBc no se aplica por motivos económicos (costo adicional al HBsAg) o debido al mayor número de bolsas que se descartan



cuando el test es utilizado en el tamizaje. Los tests para detección de HBsAg, disponibles actualmente en el mercado internacional, presentan una sensibilidad analítica (límite mínimo de detección) que varía entre 0,06 a 0,2 ng de HBsAg/ml (**figura 2**) Algunos tests HBsAg, mejoraron mucho en los últimos años, tanto en sensibilidad como en especificidad, y cuando son utilizados en el tamizaje serológico de donantes de sangre consiguen identificar casi todos los casos de personas infectadas por el virus B, excluyéndose el período de ventana inmunológica. Aun así, existen casos de portadores de hepatitis por virus B en que el HBsAg presenta resultados negativos, debido a los bajos títulos presentes en las muestras analizadas o debida la presencia de mutantes de escape del HBV. Por esos motivos se mantiene el anti-HBc en el tamizaje se-

Sensibilidad analítica de 7 kits para detección de HBsAg	
Marca	Límite mínimo de detección
HBsAg – DADE Behring	0,07 ng/mL
Monolisa Ultra - BioRad	0,08 ng/mL
Vidas Ultra – Bio-Mérieux	0,09 ng/mL
Liaison Dia-Sorin	0,11 ng/mL
Advia Centaur - Bayer	0,12 ng/mL
Architect - Abbott	0,13 ng/mL
AxSYM V2 - Abbott	0,16 ng/mL

**Figura Nº 2.** Sensibilidad analítica de algunos kits para la detección del HBsAg.

Datos recientes de la literatura: Ly TD et al, J. Clin. Microbiol 2006; 44(7): 2321-2326

Ly TD et al. J. Med. Virol. 2007; 79:S37-S41

rológico de donantes de sangre. Además, en la “Hepatitis B oculta”, descrita en los últimos años, no se consigue detectar la presencia de HBsAg en sangre pero en general se detecta el DNA de HBV, aunque sea en baja concentración (<10<sup>3</sup> UI/ml). En esos casos el anti-HBc es positivo.

El análisis de los resultados obtenidos en diversas poblaciones de donantes de sangre, cuando son aplicados los tests de HBsAg y anti-HBc, y realizando adicionalmente el test de anti-HBs, nos permite seleccionar cinco perfiles, que pueden observarse en la **figura 3**.

El perfil **número 1** corresponde al de un individuo no infectado por el HBV. El perfil **número 2** significa que la persona está infectada por el virus B (fase aguda o crónica). El perfil **número 3**, puede corresponder a situaciones distintas:

- Resultado falso positivo para anti-HBc.
- Infección anterior por el HBV y que después de algún tiempo desapareció el anti-HBs.
- El HBsAg se encuentra en niveles muy bajos o está formando inmuno complejos con el anti-HBs, de forma que no puede ser detectado.
- Se trata de un mutante del HBV en que el HBsAg no puede ser detectado.

El perfil **número 4** corresponde a una infección anterior por el HBV donde ocurrió seroconversión y muestra inmunidad para otra infección por el HBV. Finalmente, el perfil **número 5** se observa en personas vacunadas contra el HBV.

Haciendo un análisis más detallado de estos perfiles, considerando la evaluación clínica y aplicando otros marcadores, como el AgHBe, anti-HBe y el DNA-HBV, encontramos varias posibilidades de interpretación, como pueden observarse en la **figura Nº 4**.

**Perfil 1**-Ausencia de infección por HBV

**Perfil 2**-Portador de HBV

**Perfil 3**-Portador de HBV con alta infectividad

Perfil	HBsAg	anti-HBc	Anti-HBs
1	Neg	Neg	Neg
2	Pos	Pos	Neg
3	Neg	Pos	Neg
4	Neg	Pos	Pos
5	Neg	Neg	Pos

**Figura Nº 3.** Perfiles observados en donantes de sangre, para los marcadores serológicos de la Hepatitis por virus B (HBsAg, anti-HBc y anti-HBs)

**Perfiles 4 y 5**-Hepatitis B oculta

**Perfiles 6 y 7**-Falso positivo? Exposición anterior al HBV? Inmune? Infectante?

**Perfil 8**-Recuperación serológica

De los ocho perfiles observados, a excepción del perfil Nº 1 que indica ausencia de infección por el HBV, en los siete restantes únicamente se observa el HBsAg positivo en los números 2 y 3, mientras que en los números 4 a 8, el único marcador del tamizaje que puede prevenir la transmisión del HBV es el anti-HBc positivo.

En países, como Brasil, donde se realiza el tamizaje serológico con HBsAg y anti-HBc, la mayoría de las unidades de sangre de individuos portadores del HBV, en que el HBsAg da resultado negativo, son descartadas, impidiéndose de esta manera la transmisión residual del HBV.

Para obtener la mayor eficacia en el tamizaje serológico para el HBV, es necesario considerar la sensibilidad de los tests utilizados, y en el caso del HBsAg, también la capacidad para detectar cepas mutantes.

Para el anti-HBc se debe dar preferencia a los tests con límite de detección de al rededor de 0,6 Unidades/PEI (Paul Erlich Institute). En la **figura 5**, se pueden ver las características de algunos tests para anti-HBc comercializados en Latinoamérica.

Para el HBsAg se debe dar preferencia a los tests con límite de

Perfil	HBsAg	anti-HBc	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	HBV-DNA
1	Neg	Neg				
2	Pos	Pos			Pos	Pos
3	Pos	Pos		Pos		Pos
4	Neg	Pos	Neg		Pos/Neg	Pos
5	Neg	Pos	Pos		Pos/Neg	Pos
6	Neg	Pos	Neg			Neg
7	Neg	Pos	Neg		Pos	Neg
8	Neg	Pos	Pos		Pos/Neg	Neg

**Figura Nº 4.** Perfiles observados en el tamizaje serológico de donantes de sangre para los marcadores de infección por el HBV.

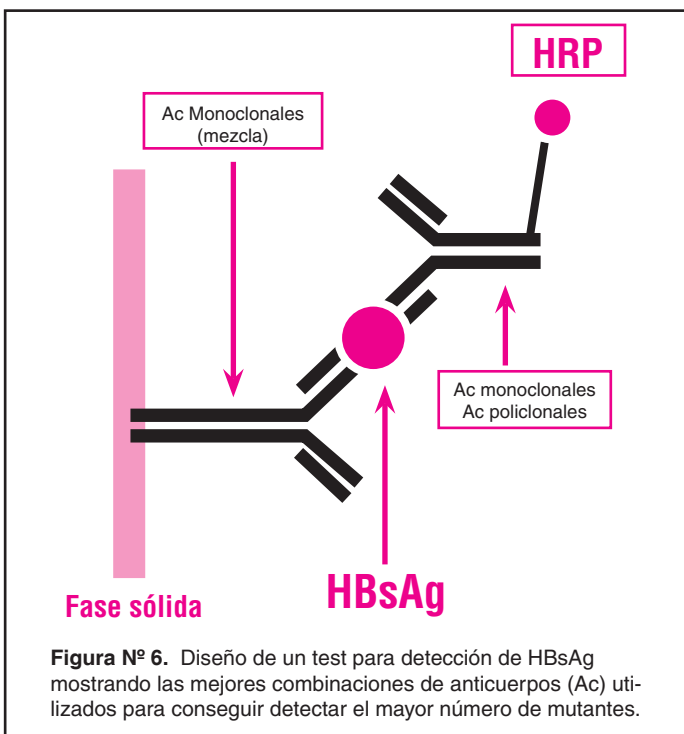
Perfil Nº 1: Ausencia de infección por el HBV; Perfil Nº 2: portador del HBV; Perfil Nº 3: portador del HBV con alta infectividad;

Perfiles Nº 4 y 5: Hepatitis B oculta; Perfiles Nº 6 y 7: Falso positivo? Expuesto al HBV? Inmune? Infectante?

Perfil Nº 8: recuperación serológica.

Kits diagnósticos para la detección del anti-HBc (total)		
Marca	Sensibilidad analítica (U PEI / mL)	Especificidad
BioMérieux	0,7	99,85
Dia Sorin	<0,5	99,83
Dade Behring	-	99,7
Wiener	-	99,4
Biokit	1,5	-
Bio Rad	0,6	99,6-100,0

**Figura N° 5.** Sensibilidad analítica y especificidad de algunos kits para la detección de anti-HBc comercializados en Latinoamérica. Los datos corresponden a las informaciones contenidas en las instrucciones técnicas de los productos



detección inferior a 0,1 ng de HBsAg/mL.

Para mejorar la capacidad de los tests de HBsAg de detectar cepas mutantes, algunas estrategias, sobre los anticuerpos usados en los tests, han mostrado mejores resultados, tales como la utilización de una mezcla de anticuerpos monoclonales para la captura del antígeno y de anticuerpos policlonales en el conjugado (Figura 6)

Datos recientes de la literatura muestran que diversos kits, comerciales para la detección del HBsAg, fallan en la detección de cepas mutantes del HBsAg (Figuras 7 y 8)

El tamizaje por el anti-HBc representa un aumento importante en el total de unidades descartadas por presentar reactividad para este parámetro. En áreas donde la prevalencia de HBsAg es inferior al 1,0%, los niveles de descarte por anti-HBc en general se encuentran entre 2,5% a 4,5%. Cabe comentar que es muy importante utilizar kits con buena especificidad, para evitar valores más altos de descarte de bolsas, en función del excesivo número de resultados falsos positivos, como fue observado en el inicio de la aplicación del test en Brasil, en los años 90.

En áreas con prevalencia de HBsAg cercana al 1,0%, pero donde ocurre intensa transmisión horizontal entre niños, los porcentajes de descarte por anti-HBc reactivo en donantes con más de 18 años, podrán ser elevados (10% o más), como consecuencia de infecciones pasadas.

En áreas con prevalencia de HBsAg de alrededor de 2% (media prevalencia), o más, el porcentaje de muestras con reactividad para el anti-HBc, en donantes de reposición puede alcanzar niveles elevados de 10-12%

La decisión de realizar el tamizaje con el anti-HBc debe llevar en consideración aspectos científicos y de costo-beneficio. Indudablemente el test anti-HBc brinda más seguridad para evitar la transmisión del HBV, tanto cuando se usa el tamizaje en conjunto con el HBsAg, como en aquellas situaciones en que adicionalmente se hace el tamizaje por el HBV-DNA.

Por ejemplo, en los casos de Hepatitis B oculta, donde no se

Performance de kits diagnósticos HBsAg - Panel de referencia: Mutantes HBsAg rec								
Mutantes HBsAg rec	Ab : MONO / POLI				Ab: MONO / MONO			
	Fluorescencia		EIA color		Quimiolum		EIA color	
	AxSYM HBsAg (V2)	VIDAS HBsAg (ultra)	Hepanostica HBsAg Uniform II	MONOLISA HBsAg (Ultra)	Elecsys HBsAg I	Vitros HBsAg	Enzygnost HBsAg	Ortho HBsAg
Thr126-Ser	7,96 (Pos)	9,7 (Pos)	1,96 (Pos)	6,19 (Pos)	9,88 (Pos)	12,9 (Pos)	9,35 (Pos)	5,33 (Pos)
Gln129-His	7,02 (Pos)	8,5 (Pos)	1,96 (Pos)	7,49 (Pos)	9,70 (Pos)	13,7 (Pos)	8,81 (Pos)	6,43 (Pos)
Met133-Leu	7,17 (Pos)	8,7 (Pos)	2,00 (Pos)	6,35 (Pos)	8,59 (Pos)	11,2 (Pos)	9,01 (Pos)	5,65 (Pos)
Asp144-Ala	5,56 (Pos)	5,4 (Pos)	1,48 (Pos)	6,33 (Pos)	7,73 (Pos)	0,15 (Neg)	7,61 (Pos)	0,71 (Neg)
Gly145-Arg	5,56 (Pos)	5,8 (Pos)	1,53 (Pos)	4,91 (Pos)	0,46 (Neg)	0,06 (Neg)	0,69 (Neg)	0,43 (Neg)
Thr126-Ser + Gly145-Arg	4,77 (Pos)	10,5 (Pos)	1,36 (Pos)	4,20 (Pos)	0,48 (Neg)	0,06 (Neg)	0,83 (Neg)	0,47 (Neg)
Pro142=Leu + Gly145-Arg	5,80 (Pos)	4,9 (Pos)	1,29 (Pos)	3,74 (Pos)	0,48 (Neg)	0,06 (Neg)	0,61 (Neg)	0,43 (Neg)
Pro142-Ser + Gly145-Arg	5,94 (Pos)	5,8 (Pos)	1,48 (Pos)	5,04 (Pos)	0,46 (Neg)	0,04 (Neg)	0,26 (Neg)	0,43 (Neg)
Asp144-Ala + Gly145-Arg	5,25 (Pos)	6,1 (Pos)	1,58 (Pos)	4,19 (Pos)	0,47 (Neg)	0,09 (Neg)	0,61 (Neg)	0,47 (Neg)
Control Negativo	1,06 (Neg)	0,08 (Neg)	0,54 (Neg)	0,57 (Neg)	0,47 (Neg)	0,08 (Neg)	0,39 (Neg)	0,45 (Neg)
Control Positivo*	8,69 (Pos)	1,3 (Pos)	2,20 (Pos)	7,53 (Pos)	10,1 (Pos)	15,6 (Pos)	9,45 (Pos)	7,35 (Pos)

(\*): recombinant Wild-type HBsAg

**Figura N° 7.** Desempeño de varios kits HBsAg frente a un panel de Mutantes rec, para el HBsAg Louisirotchanakul, S et al. HBsAg diagnostic kits in the detection of hepatitis B Virus mutation within "a" determinant. *Viral. Immunology* 2006; 19(1): 108-114.

Test	Mutantes recombinantes: PANEL ABBOTT						PANEL BIO-RAD		
	Q129H	M133L	D144A	G145R	P142L/ G145R	P142S/ G145R	T123N/ T124S	T126S	T123N
Auzyme	5,8	6,9	7,1	6,4	5,1	6,4	NT	NT	NT
GS 3.0	28	25	5	0,4	0,4	0,4	NT	NT	NT
Test System 3	15,8	12,3	0,71	0,15	0,17	0,23	NT	NT	NT
Vitros Eci	10,7	8,8	0,18	0,14	0,13	0,14	NT	NT	NT
Centaur	21,61	14,61	3,06	<0,1	<0,1	<0,1	0,3	1,73	0,56
AxSYM v 2	8,15	8,33	6,32	6,4	6,51	6,19	1,29	2,2	0,99
Architect	0,26	1,23	0,67	1,09	1,08	0,65	0,11	0,06	0,07
Immulite	7,64	7,25	5,64	6,82	6,25	5,83	0,57	0,91	7,58
Elecsys	15,06	11,66	10,69	0,37	0,33	0,35	NT	NT	NT
Liaison	17	15	6,2	4	3,7	5	5,8	4,6	6,5
Vidas ultra	1,33	1,61	1,34	1,09	1,06	1,15	0,49	0,2	1,16
Bio-Elisa	30,9	3,13	1,94	2,06	2,54	2,39	NT	NT	NT
Eti-Mak 4	15,6	13,3	5,7	7,1	6,6	5,2	3,6	21,5	3
Monalisa ultra	25,4	17,7	19,3	14,6	15,8	13	1,51	4,6	3,05
Hepanostika ultra	22	19,19	13,13	17,09	17,27	15,56	47	46	46
Dade 5.0	50,9	41,98	50	1,16	0,86	3,24	0,46	1,48	Over
Murex v 3	8,8	9,95	8,45	8,8	8,37	8,81	NT	NT	NT

Reactive S/CO: AxSYM = 2; Architect = 0,05 IU/ml; Liaison = 1,1; Vidas ultra = 0,13; los demás = 1

**Figura Nº 8.** Desempeño de diversos kits para HBsAg frente a paneles de cepas mutantes para el HBsAg (fallas en la detección sombreadas) (Ly TD. J. Med. Virol. 2007; 79:S37-S41)

detecta el HBsAg y la concentración de HBV-DNA es baja, pudiendo no ser detectada, el único marcador para excluir la bolsa de sangre será el anti-HBc.

En áreas con alta prevalencia de anti-HBc pueden ocurrir situaciones delicadas por falta de sangre para transfusión. Diversas alternativas han sido propuestas para evitar ese problema.

Una de ellas sería aprovechar donantes anti-HBc positivos. La forma sería aceptar donantes anti-HBc reactivos y con anti-HBs positivo (>100 mUI/mL) Aquellos donantes anti-HBc reactivos anti-HBs positivo, pero con títulos <100 mUI/mL, serían aceptados solamente si fuesen HBV-DNA negativos. Este procedimiento es controvertido, porque no siempre la presencia de anti-HBs es indicativa de ausencia del HBV-DNA. Lo más seguro continúa siendo descartar la bolsa si el anti-HBc es reactivo. Posteriormente, el test para HBV-DNA podrá ser usado para el seguimiento clínico del donante.

Vacunar contra el HBV a los donantes que presenten anti-HBc reactivo aislado, y verificar si ocurre seroconversión es otro procedimiento recomendado por diversos autores. Teóricamente, si ocurre la seroconversión, significaría que el resultado inicial del anti-HBc correspondía a un falso positivo, si bien también podría tratarse de un caso de infección anterior por el HBV que después de determinado tiempo, los niveles de anti-HBs se volvieron indetectables. En ese caso no sería prudente recuperar al donante.

La manera más segura continúa siendo la de seleccionar un conjunto de donantes negativos para HBsAg y para anti-HBc, y motivarlos a donar sangre regularmente (donantes de repetición).

En casos de necesidad extrema se puede pensar en importar unidades de sangre de áreas con baja prevalencia para anti-HBc y que tengan unidades disponibles.

Otro aspecto importante con respecto al anti-HBc en el tamizaje es que, dependiendo de las características de algunos kits comerciales, se han observado resultados positivos en ciertas ocasiones que no se repite en ocasiones posteriores con el

mismo kit o con kits de procedencias distintas. Esa situación es actualmente objeto de estudios, y puede significar la recuperación de donantes que presentaron solamente un test positivo que no se repite, con el mismo kit o con kits distintos.

En este texto, nuestra intención ha sido únicamente destacar los principales aspectos técnico-científicos involucrados en el tamizaje serológico para el HBV, llevando en consideración temas actualizados de la literatura internacional. La importancia de utilizar el anti-HBc junto con el HBsAg, en el tamizaje serológico de donantes de sangre continúa siendo evidente, a la luz de informaciones recientes. Sin embargo, aún persisten algunos temas controvertidos, tales como qué hacer en situaciones con porcentaje elevado de descarte de bolsas por anti-HBc y la posible falta de sangre en regiones con alta prevalencia para ese marcador, así como la tentativa de recuperar donantes con reactividad solamente por el anti-HBc.

Cada situación deberá ser tratada de acuerdo con la realidad y las posibilidades locales, llevando en consideración el costo-beneficio, pero considerando en primer lugar la seguridad transfusional y la calidad de los hemocomponentes que serán ofrecidos por los bancos de sangre.

### Bibliografía recomendada.

- 1- Avettand-Fenoel V, et al. - J. Clin. Microbiol. 2006; 44(6): 2250-2253.
- 2- Batí FA, et al. - Transfusion. 2007; 47: 74-79.
- 3- Louisiriroitchanakul S, et al. - Viral. Immunology 2006; 19(1):108-114.
- 4- Ly TD, et al. - J. Clin. Microbiol 2006; 44(7):2321-2326.
- 5- Ly TD, - J. Med. Virol. 2007; 79: S37-S41.
- 6- Martelli CMT, et al. - Rev. Panam. Salud Pública 1999; 6 (1): 69-73
- 7- O'Brien FS, et al. - Transfusion 2008; 49(2): 271-277.
- 8- Scheiblauer H, et al. - J. Med. Virol. 2006; 78:S66-S70.
- 9- Souto FJD, et al. - Rev. Pat. Trop. 2006; 35(3): 205-211.
- 10- Yotsuyanagi H et al. Transfusion. 2001; 41: 1093-1099.