

CONFERENCIA MAGISTRAL

EL ANTIGENO DE LA HEPATITIS B

BERNARDO SEPÚLVEDA *

El descubrimiento del antígeno de la hepatitis B es un buen ejemplo del célebre dicho de Pasteur: "La suerte favorece sólo a las mentes preparadas". Desde 1961, Blumberg y sus colaboradores venían estudiando las variaciones antigénicas de las proteínas del suero, como signo de diferencias genéticas entre distintas poblaciones del mundo.¹ Para tal fin, utilizaron suero de pacientes hemofílicos, con la idea de que éstos, por el hecho de recibir numerosas transfusiones, deberían tener anticuerpos contra muchas variantes antigénicas de las proteínas sanguíneas. En efecto, durante las investigaciones se encontró en el suero de un enfermo con hemofilia, un anticuerpo desconocido hasta entonces, que reaccionó con un antígeno existente en el suero de un aborigen de Australia. Por tal razón, llamaron a éste antígeno Australia y publicaron su hallazgo en 1965.²

Inicialmente, Blumberg y su grupo creyeron que el

* Académico numerario, Servicio de Gastroenterología, Hospital General, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

antígeno representaba otro caso de polimorfismo de las proteínas del suero humano, determinado genéticamente. Sin embargo, prosiguieron sus estudios sistemáticos, y en 1967 comunicaron que habían encontrado el antígeno Australia con frecuencia significativa en la hepatitis, así como en la leucemia y el síndrome de Down.³ Aquí es donde se aplica el dicho de Pasteur, pues este hallazgo, al parecer fortuito, llamó desde luego la atención de Blumberg y de otros investigadores, y bien pronto se demostró que el antígeno tenía estrecha relación con la hepatitis y que poseía una morfología particular.

En 1968, Okochi y Murakami, en Japón⁴ y Prince en los Estados Unidos⁵ comprobaron la presencia de un antígeno, cuya identidad con el Australia se demostró posteriormente, en pacientes con hepatitis del suero homólogo; y el mismo año, el grupo de Blumberg⁶ logró la purificación parcial del antígeno, demostrando por medio de microscopía electrónica la presencia en el suero de partículas esféricas de un diámetro aproximado de 200 angstroms.

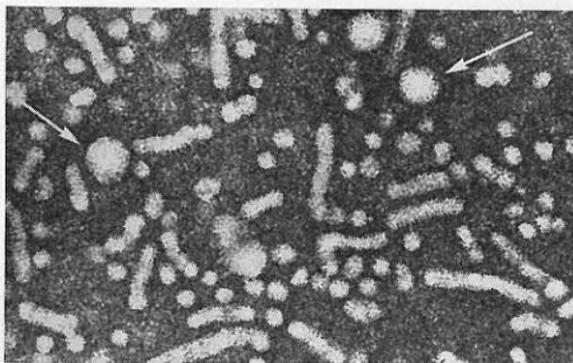
Hace apenas cinco años de estos descubrimientos y en el lapso transcurrido

hemos visto la importancia creciente que ha adquirido el estudio del antígeno, cuya identificación marca una nueva etapa en el conocimiento de las enfermedades del hígado. Al volver la mirada hacia atrás, no podemos sino recordar con admiración cómo un hallazgo aparentemente casual de un genecista, ha significado un progreso trascendental en la hepatología.

El nombre original de antígeno Australia que le dio Blumberg ha persistido a pesar de su carácter anecdótico o quizá por ello mismo; pero de manera sucesiva se han propuesto otras denominaciones: antígeno SH (serum hepatitis);⁵ antígeno asociado a la hepatitis;⁷ y recientemente, antígeno de la hepatitis B.⁸ Este último nombre parece el más apropiado en la actualidad, por indicar la relación con la hepatitis tipo B, en sus variadas manifestaciones.

Caracteres del antígeno de la hepatitis B. Propiedades físicas y químicas

El examen al microscopio electrónico de preparaciones obtenidas del suero de pacientes con antigenemia ha demostrado en numerosas investigaciones la presencia



1 Partículas semejantes a virus en el suero de un paciente con antígeno de la hepatitis B circulante. Se observan los tres tipos de partículas: las pequeñas, con diámetro aproximado de 20-24 nm, las alargadas, con el mismo diámetro y longitud variable y las partículas grandes, con diámetro de 40 nm (flechas). x 250 000 (Cortesía del doctor Norberto Treviño García Manzo.)

de tres tipos de partículas: unas, las más pequeñas y abundantes, de forma esférica, con diámetro medio de 20 nanómetros (es decir, 200 angstroms); otras, menos abundantes, de forma tubular, cuyo diámetro es aproximadamente igual, pero cuya longitud puede exceder los 200 nanómetros.⁹⁻¹² El tercer tipo de partículas es el más raro, aunque quizá el más interesante; ellas también exhiben forma esférica, pero su diámetro es de unos 42 nanómetros, o sea el doble del de la partícula pequeña. Su estructura es así mismo más compleja: tienen un cuerpo central, cápsula y cubierta exterior. Son las partículas descritas por Dane,¹³ que por sus caracteres morfológicos se asemejan mucho a un virus completo (figs. 1 y 2).

El antígeno es una lipoproteína y su movilidad electroforética es similar a la de una α_1 -globulina. La densidad boyante de las partículas en cloruro de cesio es de 1.20 a 1.21.¹⁴ La presencia o ausen-

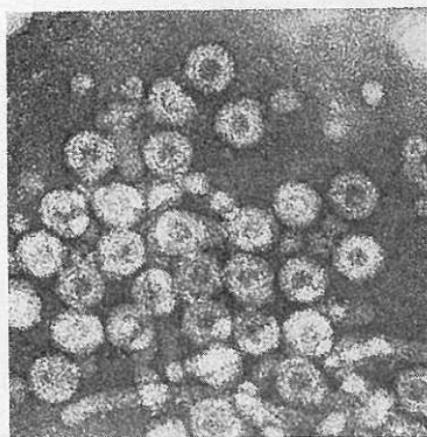
cia de ácidos nucleicos en las partículas es un punto de gran interés para definir la naturaleza viral del antígeno. Estudios iniciales¹⁵ dieron resultados negativos; sin embargo, posteriormente se comunicó el hallazgo de ácido ribonucleico en proporción de 5 por ciento, que es más bien pequeña,¹⁶ así como de una DNA polimerasa dependiente del ácido ribonucleico.¹⁷ Estos hallazgos apoyan la idea de que las partículas correspondan a verdaderos virus.

Propiedades biológicas

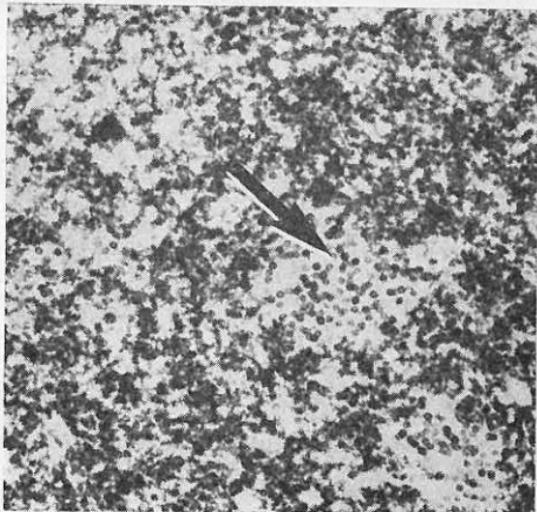
La estabilidad del antígeno en el suero es notable. Conserva su capacidad antigénica después de calentamiento a 56°C. por seis horas, después de congelación y descongelación repetidas, así como también después de tratamiento con ácidos, álcalis y enzimas catabólicas.¹⁸ En cuanto a su infectividad, si bien se pierde por ebullición del suero durante un minuto,¹⁹ se conserva a -20°C. por un periodo de quince años, cuando menos.²⁰

Como los productos obtenidos del fraccionamiento del plasma sanguíneo tienen aplicación terapéutica, es importante precisar en cuáles de ellos se ha comprobado la presencia del antígeno, por el riesgo de la transmisión. El antígeno se ha encontrado en la fracción I (fibrinógeno), en la III (trombina), y en el complejo que contiene los factores II, VII, IX y X de la coagulación. No se ha encontrado en la fracción II (globulina gamma) y sólo en pequeñas cantidades en la fracción V (albúmina).²¹

Otro punto que ha llamado la atención de los investigadores es la identificación del antígeno en secreciones y excreciones del organismo. Se ha demostrado la



2 Partículas de Dane, con 40 nanómetros de diámetro, en el suero de un paciente con antígeno de la hepatitis B. x 300 000. (Cortesía del doctor Norberto Treviño García Manzo.)



3 Partículas semejantes a virus, aglomeradas en racimo, en el núcleo de una célula hepática. Especimen obtenido por biopsia del hígado en un paciente con hepatitis crónica. x 200 000. (Cortesía del doctor Norberto Treviño García Manzo.)

presencia del mismo en la orina,²² las materias fecales,²³ la bilis²⁴ y la saliva;²⁵ y obviamente, debe estar presente así mismo en la sangre menstrual.

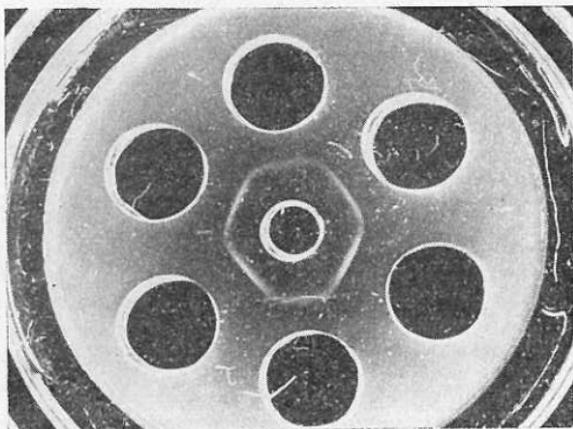
Igualmente, se ha investigado la presencia del antígeno en diversos órganos y en particular en el hígado. Por medio de la técnica de anticuerpos fluorescentes, se comprobó la presencia del antígeno en el núcleo y el citoplasma de células hepáticas de pacientes con antigenemia;^{26, 27} y por microscopía electrónica se identificaron, también en los hepatocitos, partículas iguales a las encontradas en el suero;²⁸ la identidad inmunológica de estas partículas con el antígeno de la hepatitis B, ha sido confirmada posteriormente por diversas investigaciones.²⁹⁻³¹ Además, estas investigaciones sugieren que la partícula localizada en el núcleo de los hepatocitos es el cuerpo central de la partícula esférica grande, llamada también de Dane, exis-

tente en el suero y que se mencionó anteriormente (fig. 2).

En la figura 3 se muestra una electromicrografía de células hepáticas, procedentes de biopsia del hígado de enfermos con hepatitis crónica activa y antigenemia persistente, estudiados en nuestro servicio. Se aprecian en el núcleo partículas aglomeradas, con diámetro aproximado de 23 nanómetros, formando una agrupación en racimo, y cuya morfología es idéntica a la descrita en comunicaciones anteriores por diversos autores.

Desde el punto de vista inmunológico, el antígeno de la hepatitis B no es homogéneo, sino que tiene varios determinantes antigénicos;³²⁻³⁴ hasta la fecha se han descrito cinco, que se han denominado subtipos del antígeno. De acuerdo con la nomenclatura generalmente aceptada, el subtipo *a* es común a todos los sueros con el propio antígeno. Otros dos subtipos,

4 Fotografía de una de las placas usadas en la investigación del subtipo del antígeno de la hepatitis B con la técnica de reoforesis. (Véase texto.)



que se describieron al mismo tiempo, se denominaron *d* e *y*; estos subtipos son mutuamente excluyentes, de tal manera que la inoculación del subtipo *d* produce una infección con este subtipo solamente y lo mismo ocurre en el caso de inoculación con el subtipo *y*. Por otra parte, parece que la infección con uno de los subtipos provoca inmunidad cruzada contra el otro subtipo.³⁵ Recientemente, se han encontrado otros dos determinantes antigénicos, llamados *w* y *r*,³⁶ y es posible que se identifiquen aún más en el futuro.

Aunque se ha creído encontrar relación entre el subtipo del antígeno y la forma clínica de la infección,^{37, 38} no hay demostración concluyente al respecto. En cambio, la determinación de los subtipos es de gran utilidad para estudios epidemiológicos.^{39, 40}

Nosotros hemos iniciado una investigación sobre el tema, utilizando la técnica de reoforesis.⁴¹ En la figura 4 se muestra una de las placas usadas en la prueba. En el pozo central, se colocó el anticuerpo

específico, en este caso del subtipo *d*; en los pozos opuestos superior e inferior, se depositó un suero testigo con antígeno del subtipo *d* igualmente; y en los pozos laterales, se depositaron cuatro sueros desconocidos. En el ejemplo que se presenta, los cuatro sueros desconocidos dieron reacción positiva y, además, reacción de identidad con el suero testigo; es decir, todos fueron del subtipo *d*.

En el cuadro 1 se presentan los primeros resultados. Puede verse que de un total de 125 sueros estudiados, procedentes de enfermos con distintos padecimientos y aun de portadores "sanos", 108 fueron del subtipo *d*+, y solamente uno del subtipo *y*+. Los 16 sueros restantes dieron reacción negativa.

Estos resultados corroboran la impresión de que el subtipo del antígeno carece de relación etiológica con el estado clínico; y, por otra parte, muestran que el subtipo predominante hasta ahora en México es el *d*+, lo cual es interesante desde el punto de vista epidemiológico.

Cuadro 1 Resultados preliminares de la investigación de subtipos del antígeno de la hepatitis B (técnica de reoforesis) *

Diagnóstico	Subtipos	
	d+	y+
Hepatitis crónica activa	30**	---
Cirrosis del hígado	18	---
Hepatitis aguda viral	15	---
Insuficiencia renal crónica	---	1
Portadores "sanos" de AgHB	23	---
Padecimientos diversos	22	---
	108	1

* Serotipos proporcionados por Abbott Laboratories, Radio-Pharmaceutical Products Division, North Chicago.

** Diez de estos sueros fueron enviados al laboratorio del *doc*'or Blumberg, donde se confirmó el subtipo d+; en cinco de ellos, se encontró además el subtipo w.

Dos puntos de la mayor importancia en el estudio de las propiedades biológicas del antígeno, se refieren a la propagación en cultivos de tejidos y a la inoculación en animales. Por lo que toca al primer punto, parece que se ha logrado la propagación del antígeno en cultivos de hígado de embrión humano;⁴² y por lo que respecta a la inoculación en animales, informes recientes indican la transmisión del antígeno a monos *Rhesus*⁴³ y a chimpancés.⁴⁴ En relación con este punto, conviene mencionar que el antígeno de la hepatitis B se ha encontrado en el suero de primates superiores como el chimpancé, el orangután y el gibón.²⁰ Como se comprende, las investigaciones que confirmen y extiendan los estudios sobre el cultivo y la inoculación experimental del antígeno, serán de gran interés teórico y práctico.

Naturaleza del antígeno de la hepatitis B

A pesar de las numerosas investigaciones sobre el tema, todavía no es posible pre-

cisar con exactitud la naturaleza del antígeno. Es evidente que se trata de una partícula estrechamente asociada con el virus de la hepatitis B; pero aún no puede asegurarse que sea el propio virus. Sin embargo, una serie de argumentos apoyan la naturaleza viral de las partículas del antígeno identificadas en el suero y en el hígado. Sobre la base de estos argumentos podría formularse la hipótesis siguiente: la partícula esférica grande encontrada en el suero, llamada partícula de Dane, sería el virus completo de la hepatitis B. Las otras dos partículas del suero, la esférica pequeña y la tubular, representarían material proteínico, formado en exceso por las células hepáticas como parte de la cubierta exterior del virus. Este material no habría llegado a integrarse con el cuerpo central de la partícula grande para formar el virus; pero teniendo el mismo origen que la cubierta exterior del virus, tendría las mismas determinantes antigénicas. El propio material proteínico se combinaría con lípidos del plasma para constituir los otros dos tipos de partículas ya citadas. En cuanto a las partículas identificadas en el núcleo de las células hepáticas, serían el cuerpo central del virus conteniendo ácidos nucleicos, el cual a su paso por el citoplasma recibiría la cubierta proteínica, para convertirse en el virus completo y circular así bajo la forma de la partícula de Dane.

Aunque esta hipótesis es sólo una versión simplificada de cuestiones complejas, probablemente representa una síntesis aceptable de los conceptos actuales. Desde luego, hay que reconocer que está sujeta a críticas; pero a reserva de que nuevas investigaciones resuelvan las incógnitas presentes, quizás convenga recordar que en el estudio de los virus no

pueden fijarse límites precisos; y que las peculiaridades biológicas de estos agentes infecciosos son tales, que justifican la famosa frase de Lwoff: "los virus deben ser considerados como virus, porque los virus son virus."⁴⁵

Métodos para el estudio del antígeno de la hepatitis B

La técnica primeramente utilizada para la identificación del antígeno fue la inmunodifusión en gel de agar (Ouchterlony).² Esta prueba tiene la ventaja de permitir la determinación de la especificidad inmunológica de una reacción positiva, por comparación con un suero estándar de referencia. Sin embargo, tiene el inconveniente de su poca sensibilidad y de requerir 24 a 96 horas para la lectura definitiva de los resultados.

Posteriormente se aplicó el método de la fijación del complemento,⁴⁶ cuya sensibilidad es mayor que la del anterior, pero que tiene dos inconvenientes: las dificultades técnicas para su ejecución, y la circunstancia de que cierto número de sueros tiene actividad anticomplementaria.

A continuación se describió la técnica de contraelectroforesis, llamada también inmunoelectroosmoforesis y electroinmunodifusión.⁴⁷⁻⁴⁹ Esta prueba tiene las ventajas de ser rápida, sencilla y económica y con algunas modificaciones introducidas en el método,⁵⁰ su sensibilidad se aproxima a la de la fijación del complemento. Por estas razones, es el procedimiento más generalmente usado en la actualidad, sobre todo en laboratorios y bancos de sangre que procesan gran número de muestras.

En nuestro laboratorio, después de ensayar la inmunodifusión y la fijación del

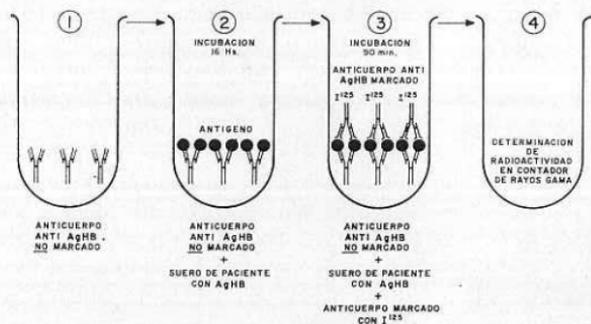
complemento, se ha adoptado desde 1970 la contraelectroforesis. En una muestra de 4 196 donadores "profesionales" de sangre, encontramos 0.66 por ciento de portadores asintomáticos del antígeno.⁵¹ A partir de ese año, la misma técnica se usa de manera sistemática en el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional, lo cual ha permitido eliminar a los donadores con reacción positiva y reducir así la frecuencia de la hepatitis post-transfusional.

Se ha descrito también otra técnica, la de inhibición de la hemaglutinación,⁵² más sensible que las anteriores, pero que no ha sido aplicada de manera general y parece más bien reservada para laboratorios de investigación.

Recientemente se introdujo el análisis o ensayo radioinmunológico, para el estudio del antígeno y del anticuerpo correspondiente.⁵³⁻⁵⁵ Las técnicas propuestas demostraron sensibilidad muy superior a la de todas las empleadas anteriormente; pero eran complicadas y exigían varios días para la lectura de los resultados. El año pasado se dio a conocer una técnica mejorada, que conservando la misma sensibilidad, tiene las ventajas de ser sencilla en su ejecución y al mismo tiempo, relativamente rápida y económica. La técnica se ha llamado ensayo radioinmunológico directo o en fase sólida.^{56, 57}

Por considerarlo de interés general, a continuación se hace una breve descripción del método, que se ha implantado en nuestro laboratorio desde noviembre de 1972, utilizando el equipo con el nombre comercial de Ausria, de los Laboratorios Abbott.*

* Ausria-125, Abbott Laboratories, Radio-Pharmaceutical Products Division, North Chicago.



5 Esquema de los pasos sucesivos del método de análisis radioinmunológico (ARI) para la identificación del antígeno de la hepatitis B (AgHB).

De manera esquemática, el método consiste en lo siguiente: se utilizan anticuerpos específicos de cobayo: unos, marcados con ^{125}I y otros sin marcar. La muestra de suero por estudiar se deposita en tubos de ensayo especiales, cubiertos con una capa de anticuerpos sin marcar. En caso de que el suero contenga antígeno, éste es fijado por los mencionados anticuerpos. Posteriormente se agregan al tubo los anticuerpos marcados; como el antígeno tiene múltiples sitios antígenicos, estos anticuerpos marcados se fijan a su vez en el antígeno. En consecuencia, se forma un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo marcado, quedando el antígeno en cierta forma emparejado entre el anticuerpo sin marcar, y el anticuerpo marcado con el radiofármaco. La radioactividad fijada en el tubo, es proporcional a la cantidad de antígeno, y su medición en contador de rayos gamma permite determinar con exactitud la presencia y la concentración del propio antígeno. El tiempo requerido para la lectura de la prueba es de 18 horas aproximadamente. En la figura 5 se presentan, también en forma esquemática, los pasos sucesivos del método.⁵⁸

Es necesario agregar una nota de cautela: la gran sensibilidad de este método

trae consigo disminución de la especificidad. Para asegurar ésta, conviene reexaminar aquellos sueros con reacción positiva, cuyo resultado requiera confirmación. Para tal fin, el suero en estudio se incuba con otro suero que contenga anticuerpo de la hepatitis B. Los sueros en que se neutralice el antígeno y que por tanto en la segunda lectura muestren reducción considerable de las cuentas por minuto, se califican como definitivamente positivos.⁵⁹

En el cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos con el estudio de 834 muestras de suero de personas adultas de uno y otro sexo, en el cual se comparan los resultados de la técnica de contrainmuno-electroforesis con los del análisis radioinmunológico, que demuestran la mayor sensibilidad de este último método.

Epidemiología y transmisión del antígeno de la hepatitis B

El antígeno se ha encontrado en todos los lugares del mundo en que se le ha buscado. La proporción con que se detecta en la población general aparentemente sana es muy variable según el área geográfica estudiada y según la sensibilidad de la técnica empleada. Los estudios hasta

Cuadro 2 Resultados de la detección del antígeno de la hepatitis B por la contraelectroforesis (CIEF) y el análisis radioinmunológico (ARI)

Grupo	Número	Porcentaje de reacciones positivas	
		CIEF	ARI
1. Hepatitis crónicas			
Cirrosis "alcohólica"	34	14.6	35.2
Hepatitis crónica activa	29	34.0	51.7
2. Personas aparentemente sanas	149	0.66	1.3
3. Donadores "profesionales" del Banco de Sangre del Centro Médico Nacional	622	0*	1.1

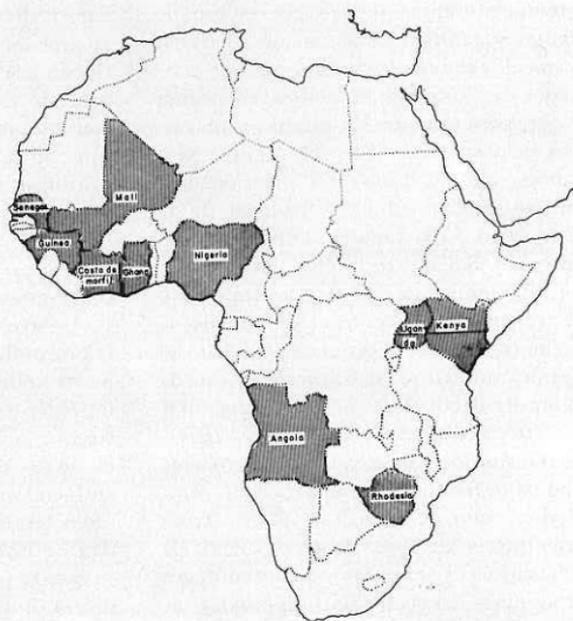
* Estudio hecho en dos laboratorios diferentes.

ahora realizados permiten distinguir de manera gruesa dos grupos de poblaciones: aquéllas en que se identifica el antígeno

en proporción baja, o sea en los alrededores del uno por ciento; y aquellas en que la proporción se eleva a las proximidades de 10 por ciento y a veces la excede considerablemente. Conviene agregar que en la mayor parte de estas investigaciones se han usado técnicas relativamente insensibles, como la de inmunodifusión.

Entre los países con proporción baja de antigenemia en la población, figuran los europeos, los de Norte América (incluyendo México), los de Sud América hasta ahora estudiados y algunos de Asia, como Israel, Japón y la India.^{51, 59-62}

Entre las poblaciones con proporción elevada de antigenemia figuran algunas asiáticas, como habitantes de Taiwán, de Vietnam, de las Filipinas y de las islas Marshall.⁵⁹ Pero donde más llama la atención este fenómeno es en países africanos.



6 Mapa de África, con las 10 Repúblicas en que hasta ahora se ha demostrado la elevada frecuencia del antígeno de la hepatitis B en población negra aparentemente sana: Senegal, Malí, Guinea, Costa de Marfil, Ghana, Nigeria, Uganda, Kenia, Angola y Rhodesia.

Los estudios llevados al cabo en diversas repúblicas de este continente, demuestran la alta frecuencia con que se identifican el antígeno de la hepatitis B y el anticuerpo correspondiente.⁶³⁻⁶⁶ En la figura 6 se presenta el mapa de Africa, con las diez repúblicas en que hasta ahora se ha demostrado la elevada incidencia del antígeno en población negra aparentemente sana: Senegal, Malí, Guinea, Costa de Marfil, Ghana, Nigeria, Uganda, Kenya, Angola y Rhodesia.

La explicación de estas notables diferencias entre las distintas poblaciones no es conocida en la actualidad. Sin embargo, quizá contribuya a resolver estas incógnitas el conocimiento que se va adquiriendo acerca del modo de transmisión del antígeno de la hepatitis B.

La forma clásica de infección es por vía parenteral y por la inoculación de sangre transfundida, o bien por el uso de agujas y jeringas contaminadas. Es bien conocida también la transmisión por derivados de la sangre, el plasma en primer lugar; pero también los productos obtenidos del fraccionamiento del plasma sanguíneo que ya fueron mencionados: fibrinógeno, trombina y factores de la coagulación, son capaces de transmitir el antígeno. Solamente la globulina gamma y la albúmina están exentas de este riesgo; la primera, por no contener el antígeno; la segunda, porque la pequeña cantidad del agente infeccioso que contiene, queda neutralizada durante su procesamiento.⁶⁷

Pero además de estas formas clásicas de transmisión parenteral, parece probable que la infección se adquiera por otros medios: uno de ellos, que podría tener importancia en zonas tropicales, sería la transmisión por insectos hematófagos (mosquitos, moscas, chinches, piojos). Se

ha demostrado la presencia de antígeno de la hepatitis B en diversas especies de tales insectos, particularmente en mosquitos;⁶⁶ y aun cuando no se ha comprobado la reproducción del agente infeccioso en el vector, se piensa que puede ocurrir la transmisión mecánica del antígeno, ya sea por los órganos de succión contaminados o al aplastar el insecto sobre la piel.

Otras vías probables de infección parenteral serían las relaciones sexuales, operaciones dentales, intervenciones quirúrgicas, trabajos de manicuristas, pedicuristas, peluqueros y tatuadores; y, en general, cualquier oportunidad de penetración al organismo de cantidades aun infinitesimales de sangre contaminada, ya que el suero infeccioso diluido hasta uno al millón, es capaz todavía de producir hepatitis.⁶⁸

No termina aquí la historia, sin embargo; diversos estudios recientes indican la probabilidad de la transmisión del antígeno por vía no parenteral. Se ha comprobado con frecuencia creciente, que el contacto interpersonal, ya sea entre miembros de una familia o entre asilados en instituciones para retrasados mentales, favorece la diseminación del agente infeccioso.^{64, 69-71} Nosotros también hemos tenido la oportunidad de registrar este probable modo de transmisión en parientes.

A mayor abundamiento, existe también la probabilidad del contagio por vía bucal. Se ha transmitido la enfermedad por la ingestión de plasma contaminado con antígeno de la hepatitis B;⁷² pero, además, el hecho de que se haya encontrado el antígeno en la saliva, la orina y las materias fecales, apoya aún más la probabilidad de la transferencia por la vía bucal.

Queda por último aludir a otro modo de transmisión: el transplacentario. Este

ha sido demostrado sin lugar a dudas, por la identificación del antígeno en la sangre del cordón umbilical.^{73, 74} Por añadidura, en los niños infectados se encontraron valores altos de transaminasa en el suero y lesiones de hepatitis crónica, así como persistencia de la antigenemia durante los años en que se ha seguido la evolución. Parece por tanto que esta infección neonatal constituye otro "reservorio" para mantener la endemidad del virus de la hepatitis B.⁷⁵

Las múltiples correlaciones entre el antígeno de la hepatitis B y el huésped humano

El descubrimiento del antígeno ha traído consigo una serie de consecuencias de gran interés doctrinario y práctico. Para referirnos sólo a las de orden clínico, debe destacarse en primer término la distinción que ahora es posible hacer sobre bases firmes, entre los dos tipos de hepatitis aguda viral: la denominada infecciosa, epidémica o de corta duración y la llamada hepatitis del suero, de jeringa o de larga incubación. La primera, se designa ahora con el nombre de hepatitis A; y la segunda, en la cual se encuentra el antígeno, hepatitis B.

Además de la importancia que desde el punto de vista epidemiológico tiene la distinción entre los dos tipos de hepatitis, vale la pena insistir en que la detección del antígeno en el suero ha permitido rectificar algunos conceptos clínicos.

La rectificación comprende dos puntos principales: el primero se refiere al período de incubación, que ahora sabemos puede ser menor de seis semanas en la hepatitis tipo B,⁷⁶ lo cual hace que el carácter de larga incubación no tenga el

valor diferencial que anteriormente se le concedía. El segundo punto de rectificación se refiere a los antecedentes de transfusiones o inyecciones, que antes se consideraban útiles para inclinar el diagnóstico hacia hepatitis B. Las posibilidades de transmisión del virus por otros medios y aun por vía no parenteral, que ya fueron mencionados, restan importancia a tales antecedentes.

Por otra parte, la detección del antígeno ha permitido ratificar el concepto de que la hepatitis B, tiene generalmente curso clínico más grave y pronóstico más serio que la hepatitis A.

Sin negar el interés de estas adquisiciones referentes a la hepatitis aguda, mayor trascendencia tiene el conocimiento de otras correlaciones que se han encontrado entre el antígeno y el huésped humano. Tales correlaciones seguramente ponen en evidencia la multiplicidad de reacciones inmunológicas que pueden ocurrir frente a este agente infeccioso, cuyas peculiaridades son notables.

Con el propósito de simplificar la descripción, las correlaciones podrían agruparse en tres categorías: la primera comprende los padecimientos crónicos del hígado; la segunda, el estado del portador aparentemente sano; y la tercera, incluye algunas lesiones extrahepáticas asociadas al antígeno.

Por lo que respecta a los padecimientos crónicos del hígado, figura en primer lugar la hepatitis crónica, con sus dos subdivisiones: la hepatitis crónica persistente y la hepatitis crónica activa o agresiva. La proporción con que se identifica el antígeno en ambas, varía según la sensibilidad del método empleado y según la zona geográfica. En la actualidad, se acepta que se encuentra entre 20 y 50 por ciento de

los casos.^{74, 76, 77} En nuestro servicio, como ya se dijo, hemos detectado el antígeno con el análisis radioinmunológico, en 52 por ciento de los pacientes con hepatitis crónica activa. Viene después la cirrosis, en la cual los informes sobre la frecuencia del antígeno son muy diversos.⁷⁸ Desde luego, se encuentra en las cirrosis consecutivas a hepatitis virales crónicas; pero contra lo hallado inicialmente, parece que también se encuentra antigenemia persistente en cierta proporción de pacientes con cirrosis alcohólica.⁷⁹ Nosotros hemos confirmado esta asociación y como simple hipótesis, pensamos que puede explicarse cuando menos por dos factores: las transfusiones de sangre que reciben con frecuencia estos enfermos; y un estado de reactividad inmunológica deficiente, quizá relacionado con el padecimiento hepático.

Por último, hay que citar la asociación con la hepatitis neonatal, que ya fue mencionada y con el carcinoma hepatocelular. La frecuencia con que se ha detectado el antígeno en este último padecimiento, por lo común refleja la incidencia con que ocurre en la población general.^{80, 81} Sin embargo, esta frecuencia ha llegado hasta 80 por ciento de los casos,⁸² en grupos humanos cuya proporción de personas con antigenemia es mucho menor.

En cuanto al estado de portador aparentemente sano, puede sobrevenir después de un episodio de hepatitis aguda, sobre todo de la forma anictérica; pero muchas veces no se encuentra antecedente alguno de infección previa y el antígeno se descubre en el curso de investigaciones expresamente dirigidas a su búsqueda, como las que se llevan a cabo en bancos de sangre o bien en servicios hospitalarios. Es así como hemos detectado en

nuestro servicio un buen número de portadores asintomáticos del antígeno.

Ahora bien, cuando se hace un estudio completo de estos portadores, que incluya la biopsia del hígado, se encuentra que las dos terceras partes, cuando menos, tienen hepatitis crónica.⁷⁶ La hepatitis es generalmente leve o moderada y corresponde con frecuencia a la clasificación de crónica persistente; pero algunas veces se encuentran casos de hepatitis crónica activa, a pesar de la aparente ausencia de manifestaciones clínicas.

Quedan por mencionar las lesiones extrahepáticas asociadas al antígeno. Hasta la fecha, se han descrito tres: poliarteritis,^{83, 84} glomerulonefritis⁸⁵ y artritis.⁸⁶ En todas ellas se ha demostrado la presencia del antígeno en los tejidos lesionados y en las dos primeras, la existencia de complejos antígeno-anticuerpo en los propios tejidos. Estos datos sugieren la probable relación patogénica del antígeno con lesiones fuera del hígado.

Inmunoprophilaxis

Desde 1971 se iniciaron los ensayos de inmunización contra el virus de la hepatitis B. La inmunización pasiva se llevó a cabo con globulina inmune específica, aislada del plasma de un paciente poli-transfundido y con títulos elevados de anticuerpo contra el antígeno.^{87, 88} La inmunización activa se provocó mediante la inoculación de suero (MS-2) con títulos altos de antígeno de la hepatitis B, inactivado por la ebullición durante un minuto.⁸⁹

Los estudios han continuado y los últimos informes^{90, 91} parecen indicar que ambos procedimientos de inmunización, previenen unas veces y atenúan otras la

hepatitis B y que, así mismo, disminuyen la frecuencia de portadores crónicos del antígeno. No obstante, y sin negar el valor demostrativo de estas investigaciones, deben tomarse sólo como estudios en etapa experimental.

Una mirada optimista hacia el futuro

Después de haber revisado en forma somera los avances realizados en los pocos años transcurridos desde el descubrimiento del antígeno de la hepatitis B, cabe dirigir la vista hacia adelante y hacer algunas conjeturas optimistas sobre los progresos que podrían realizarse en el próximo decenio.

Como meta cercana, parece factible la reducción en mayor escala que en la actualidad, de la hepatitis postransfusional, gracias a la aplicación de métodos más sensibles, específicos y prácticos para descubrir a los portadores del antígeno entre los presuntos donadores de sangre.

Con toda probabilidad, más adelante se logrará la propagación al estado puro del virus de la hepatitis B, ya sea en cultivo de tejidos, en animales susceptibles o en ambos medios de multiplicación.

El cultivo del virus de la hepatitis B comprobará su estrecha relación con las partículas que hoy llamamos antígeno de la hepatitis B y servirá como base para la preparación de productos biológicos inocuos y eficaces, destinados a la inmunización pasiva y activa contra la infección viral.

Los estudios epidemiológicos, permitirán al mismo tiempo conocer los diferentes modos de transmisión del virus y las peculiaridades que pueda tener su desarrollo en relación con la edad, el sexo, la raza, las condiciones climatológicas, hi-

giénicas, nutricionales y de otra naturaleza y así mismo, permitirán averiguar si existen cepas de distinta virulencia en diversas áreas geográficas o grupos de población.

Las investigaciones sobre la inmunología de la infección, lograrán explicar la multiplicidad de las interacciones entre el virus y el huésped, que ahora se nos presentan con un espectro tan amplio, que se extiende desde el estado de tolerancia recíproca, hasta el ataque fulminante del virus, el cual termina con la vida del paciente en breves días; y que entre estos dos extremos, muestran una variedad de correlaciones en las que figuran cuadros clínicos de evolución aguda, formas crónicas reversibles e irreversibles, procesos neoplásicos y lesiones extrahepáticas.

Aunque parece más lejano, cabe dentro de lo posible que se descubran recursos eficientes para el tratamiento, ya sea que pertenezcan a la inmunoterapia, a la quimioterapia o que sean de otra naturaleza.

Aunque se antoja todavía más remota, y más bien en el terreno de la utopía, cabe la posibilidad de que estos recursos, unidos a otras medidas de mejoramiento económico y educativo de las colectividades, logren reducir la frecuencia del virus en los actuales "reservorios" humanos.

Para ello, es preciso confrontar el hecho paradójico de que, por una parte, el "reservorio" principal del agente infeccioso parece estar en los grupos humanos que viven en condiciones higiénicas menos favorables y de que, por otra parte, entre los medios seguros de transmisión, figuran algunos de los procedimientos más generalizados de la medicina moderna.

Finalmente, de antemano sabemos que la erradicación completa del virus es imposible; pero si al menos se consigue

detener primero la extensión del mal, y después reducirlo a proporciones mínimas, se habrá logrado un triunfo comparable al obtenido sobre la poliomielitis, en el decenio que acaba de terminar.

REFERENCIAS

- Allison, A. C., y Blumberg, B. S.: *An iso-precipitation distinguishing human serum-protein types*. Lancet 1:634, 1961.
- Blumberg, B. S.; Alter, H. J., y Visnich, S.: *A "new" antigen in leukemia sera*. J.A.M.A. 191:541, 1965.
- Blumberg, B. S.; Gerstley, B. J. S.; Hungerford, D. A.; London, T., y Sutnick, A. I.: *A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis*. Ann. Int. Med. 66:924, 1967.
- Okochi, K., y Murakami, S.: *Observations on Australia antigen in Japanese*. Vox Sang. 15:374, 1968.
- Prince, A. M.: *An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis*. Proc. Nat. Acad. Sci. 60:814, 1968.
- Bayer, M. E.; Blumberg, B. S., y Werner, B.: *Particles associated with Australia antigen in the serum of patients with leukemia, Down's syndrome and hepatitis*. Nature (London) 218:1057, 1968.
- Fox, R. A.; Niazi, S. P., y Sherlock, S.: *Hepatitis-associated antigen in chronic liver disease*. Lancet 2:609, 1969.
- Morbidity and mortality weekly report, U. S. Public Health Service: *Public health implications of the presence of hepatitis B antigen in human serum*. 21:133, 1972.
- Hirschman, R. J.; Shulman, N. R.; Barker, L. F., y Smith, K. O.: *Virus-like particles in sera of patients with infectious and serum hepatitis*. J.A.M.A. 208:1667, 1969.
- Zuckerman, A. J.: *Viral hepatitis and the Australia-SH antigen*. Nature (London) 223:569, 1969.
- Gerin, J. L.; Purcell, R. H.; Holland, P. V., y Chanok, R. M.: *Biophysical properties of Australia antigen*. J. Virol. 4:763, 1969.
- Almeida, J. D.; Zuckerman, A. J.; Taylor, P. E., y Waterson, A. P.: *Immune electron microscopy of the Australia-SH (serum hepatitis) antigen*. Microbios 2:117, 1969.
- Dane, D. S.; Cameron, C. H., y Briggs, M.: *Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis*. Lancet 1:695, 1970.
- Shulman, N. R.: *Hepatitis associated antigen*. Amer. J. Med. 49:669, 1970.
- Millman, I.; Loeb, L. A.; Bayer, M. E., y Blumberg, B. S.: *Australia antigen (a hepatitis-associated antigen). Purification and physical properties*. J. Exp. Med. 131:1190, 1970.
- Jozwiak, W.; Koscielak, J.; Madalinski, K.; Brzosko, W. J.; Nowoslowski, A., y Kloczewski, M.: *RNA of Australia antigen*. Nature (New Biol.) 229:92, 1971.
- Hirschman, S. Z.; Vernace, S. J., y Schaffner, F.: *DNA polymerase in preparations containing Australia antigen*. Lancet 1:1099, 1971.
- Kim, C. Y., y Bissel, D. M.: *Stability of the lipid and protein of hepatitis-associated (Australia) antigen*. J. Infect. Dis. 123:470, 1971.
- Krugman, S.; Giles, J. P., y Hammond, J.: *Hepatitis virus: effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strains*. J. Infect. Dis. 122:432, 1970.
- Shulman, R. M.; Hirschman, R. J., y Barker, L. F.: *Viral hepatitis*. Ann. Int. Med. 72:257, 1970.
- Schroeder, D. D., y Mozen, M. M.: *Australia antigen: distribution during Cohn ethanol fractionation of human plasma*. Science 168:1462, 1970.
- Apóstolov, K.; Bauer, D. J.; Selway, J. W. T.; Fox, R. A. y Dudley, F. J.: *Australia antigen in urine*. Lancet 1:1274, 1971.
- Grob, P. J., y Jemelka, H.: *Faecal SH (Australia) antigen in acute hepatitis*. Lancet 1:206, 1971.
- Alp, M. H., y Wright, R.: *Immunoglobulins, virus-like particles and auto-antibodies in bile*. (Res.) Gut 12:859, 1971.
- a) Shirachi, R.; Shiraiishi, H.; Matsumoto, S.; Matsuda, S.; Konno, T., e Ishida, N.: *Hepatitis B antigen in saliva*. Tohoku J. Exp. Med. 109:201, 1973.
b) Tanno, H.; Fay, O., y Roncoroni, M.: *Virus-B hepatitis in saliva*. Lancet 2:822, 1972.
- Millman, I.; Zavatore, V.; Gerstley, B. J. S., y Blumberg, B. S.: *Australia antigen detected in the nuclei of liver cells of patients with viral hepatitis by the fluorescent antibody technique*. Nature (London) 222:181, 1969.
- Nowoslowski, A.; Brzosko, W. J.; Madalinski, K., y Krawczynski, K.: *Cellular localization of Australia antigen in the liver of patients with lymphoproliferative disorders*. Lancet 1:494, 1970.
- Huang, S. N.: *"Hepatitis-associated antigen" hepatitis. An electron microscopic study of virus-like particles in liver cells*. Amer. J. Pathol. 64:483, 1971.
- Almeida, J. D.; Rubenstein, D., y Stott, E. J.: *New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis*. Lancet 2:1225, 1971.
- Huang, S. N.; Millman, I.; O'Connell, A.; Aronoff, A.; Gault, H., y Blumberg, B. S.: *Virus-like particles in Australia antigen-associated hepatitis*. Amer. J. Pathol. 67:453, 1972.
- Brzosko, W. J.; Madalinski, K.; Krawczynski, K., y Nowoslowski, A.: *Duality of hepatitis B antigen and its antibody. I. Immuno-*

- fluorescence studies. *J. Infect. Dis.* 127:424, 1973.
32. Levene, C., y Blumberg, B. S.: *Additional specificities of Australia antigen and the possible identification of hepatitis carriers.* *Nature (London)* 221:195, 1969.
 33. Kim, C. Y., y Tilles, J. C.: *Immunologic and electrophoretic heterogeneity of hepatitis-associated antigen.* *J. Infect. Dis.* 123:618, 1971.
 34. Le Bouvier, G. L.: *The heterogeneity of Australia antigen.* *J. Infect. Dis.* 123:671, 1971.
 35. Mosley, J. W.; Edwards, V. M.; Meihaus, J. E., y Redeker, A. G.: *Subdeterminants d and y of hepatitis B antigen (HBAG) as epidemiological markers.* *Amer. J. Epidemiol.* 95:529, 1972.
 36. Bancroft, W. H.; Mundon, F. K., y Russell, P. K.: *Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen.* *J. Immunol.* 109:842, 1972.
 37. Magnus, L. O., y Spmark, J. A.: *New specificities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants.* *J. Immunol.* 109:1017, 1972.
 38. Nielsen, J. O.; Le Bouvier, G. L., and the Copenhagen hepatitis acute program: *Subtypes of Australia antigen among patients and healthy carriers in Copenhagen.* *New Engl. J. Med.* 288:1257, 1973.
 39. Mosley, J. W., y col.: *Ref. 35.*
 40. Gordon, I.; Berberian, M.; Severson, D., y Redeker, A. J.: *Distribution of hepatitis B antigenic determinants in different forms of viral hepatitis.* *J. Infect. Dis.* 126:569, 1972.
 41. Jambazian, A., y Holper, J. C.: *Rheophoresis: A sensitive immunodiffusion method for detection of hepatitis associated antigen.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140:560, 1972.
 42. Zuckerman, A. J., y Bird, R. G.: *Localization of hepatitis B antigen in liver organ cultures.* *Brit. Med. J.* 2:842, 1973.
 43. London, W. T.; Alter, H. J.; Lander, J., y Purcell, R. H.: *Serial transmission in rhesus monkeys of an agent related to hepatitis associated antigen.* *J. Infect. Dis.* 125:332, 1972.
 44. Ishida, N.: *Comunicación personal.*
 45. Lwoff, A.: *Bacteriophage as a model of host-virus relationship.* En: *The viruses.* Burnet, F. M. y Stanley, W. M. (Eds.). Nueva York, Academic Press. 1959. Vol. 2, p. 187.
 46. Shulman, N. R., y Barker, L. F.: *Virus-like antigen, antibody, and antigen-antibody complexes measured by complement fixation.* *Science* 165:304, 1969.
 47. Gocke, D. J., y Howe, C.: *Rapid detection of Australia antigen by counterimmunoelectrophoresis.* *J. Immunol.* 104:1031, 1970.
 48. Prince, A. M., y Burk, K.: *Serum hepatitis antigen (SH). Rapid detection by high voltage immunoelectrosmorphoresis.* *Science* 169:593, 1970.
 49. Pensendorfer, F.; Krassnitsky, O., y Wewalka, F.: *Immunodiffusion and immunoelectrophoretic techniques.* *Vox Sang.* 19:200, 1970.
 50. Wallis, C., y Melnick, J.: *Enhanced detection of Australia antigen in serum hepatitis patients by discontinuous counter-immunoelectrophoresis.* *Appl. Microbiol.* 21:867, 1971.
 51. Sepúlveda, B.; Landa, L.; Aubanel, M., y Rodríguez, M. H.: *Investigación del antígeno asociado a la hepatitis (Australia) en donadores "profesionales" de sangre.* *GAC. MÉD. MÉX.* 102:615, 1971.
 52. Vyas, G. N., y Shulman, N. R.: *Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis.* *Science* 170:332, 1970.
 53. Waish, J. H.; Yalow, R. S., y Berson, S. A.: *Detection of Australia antigen and antibody by means of radioimmunoassay techniques.* *Vox Sang.* 19:217, 1970.
 54. Aach, R. D.; Grisham, J. W., y Parker, C. W.: *Detection of Australia antigen by radioimmunoassay.* *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)* 68:1056, 1971.
 55. Hollinger, F. B.; Vorndam, V., y Dreesman, G. R.: *Assay of Australia antigen and antibody employing double antibody and solid-phase radioimmunoassay techniques and comparison with the passive hemagglutination methods.* *J. Immunol.* 107:1099, 1971.
 56. Ling, C. M., y Overby, L. R.: *Prevalence of hepatitis B virus antigen as revealed by direct radioimmune assay with ¹²⁵I antibody.* *J. Immunol.* 109:834, 1972.
 57. Ginsberg, A. L.; Conrad, M. E.; Bancroft, W. H.; Ling, C. M., y Overby, L. R.: *Prevention of endemic HAA-positive hepatitis with gamma globulin. Use of a simple radio-immune assay to detect HAA.* *New Engl. J. Med.* 286:562, 1972.
 58. Catt, K., y Treager, G. W.: *Solid-phase radioimmunoassay in antibody coated tubes.* *Science* 158:1570, 1967.
 59. Prince, A. J.; Brotman, B.; Jass, D., e Ikram, H.: *Specificity of the direct solid-phase radioimmunoassay for detection of hepatitis-B antigen.* *Lancet* 1:1346, 1973.
 60. Blumberg, B. S.; Sutnick, A. I., y London, W. T.: *Hepatitis and leukemia: their relation to Australia antigen.* *Bull. N. Y. Acad. Med.* 44:1566, 1968.
 61. Prince, A. M.: *Prevalence of serum-hepatitis-related antigen in different geographic regions.* *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 19:872, 1970.
 62. Velasco, M., y Katz, R.: *Australia antigen in the Chilean population.* En: *Immunology of the liver.* Londres, W. Heinemann Medical Books, 1971, p. 39.
 63. Anthony, P. P.; Vogel, C. L.; Sadikali, F.; Barker, L. F., y Peterson, M. R.: *Hepatitis-associated antigen and antibody in Uganda: correlation of serological testing with histopathology.* *Brit. Med. J.* 1:403, 1972.

64. Payet, M.; Ménaché, D.; Saimot, G.; Schlegel, N.; Eyquem, P., y Coulaud, J. P.: *L'antigène Australie chez l'Africain*. Presse Méd. 79: 2359, 1971.
65. Williams, A. O., y Almeida, J.: *Hepatitis-associated (Australia) antigen in Nigerians. An ultrastructural study*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 21:473, 1972.
66. Brotman, B.; Prince, A. M., y Godfrey, H. R.: *Role of arthropods in transmission of hepatitis-B virus in the tropics*. Lancet 1:1305, 1973.
67. Holland, P.V.; Alter, H. J.; Purcell, R. H.; Lander, J. J.; Sgouris, J. T., y Schmidt, P. J.: *Hepatitis B antigen (HBsAg) and antibody (Anti-HBsAg) in cold ethanol fractions of human plasma*. Transfusion 12:363, 1972.
68. Barker, L. F.; Shulman, N. R.; Murray, R.; Hirschman, R. J.; Ratner, F.; Diefenbach, W. C. L., y Geller, H. M.: *Transmission of serum hepatitis*. J.A.M.A. 211:1509, 1970.
69. Szmunes, W.; Prince, A. M.; Effing, G. F., y Pick, R.: *Development and distribution of hemagglutinating antibody against hepatitis B antigen in institutionalized populations*. J. Infect. Dis. 126:498, 1972.
70. Garibaldi, R. A.; Hatch, F. E.; Bisno, A. L.; Hatch, M. H., y Gregg, M. B.: *Nonparenteral serum hepatitis*. J.A.M.A. 220:963, 1972.
71. Vas, S. I.; Spence, L., y Gilmore, N. J.: *Importance of family contacts of HAA-positive persons*. New Engl. J. Med. 286:788, 1972.
72. Keys, T. F.; Sever, J. L.; Hewitt, W. L., y Gitnick, G. L.: *Hepatitis associated antigen in selected mothers and newborn infants*. J. Pediat. 80:650, 1972.
73. Schweitzer, I. L.; Wing, A.; McPeak, C., y Spears, R. L.: *Hepatitis and hepatitis associated antigen in 56 mother-infant pairs*. J.A.M.A. 220:1092, 1972.
74. Redeker, A. G.: *Viral hepatitis: current concepts*. Postgrad. Med. 53:77, 1973.
75. Krugman, S., y Giles, J. P.: *Viral hepatitis: New light on an old disease*. J.A.M.A. 212: 1019, 1970.
76. Gocke, D. J.: *New faces of viral hepatitis*. DM 1:32, 1973.
77. Gitnick, G. L.: *Australia antigen and the revolution in hepatology*. Calif. Med. 116: 28, 1972.
78. Prince, A. M.: *Role of serum hepatitis virus in chronic liver disease*. Gastroenterology 60: 913, 1971.
79. Pettigrew, N. M.; Goudie, R. B.; Russell, R. I., y Chaudhuri, A. K. R.: *Evidence for a role of hepatitis B virus in chronic alcoholic liver disease*. Lancet 2:724, 1972.
80. Sherlock, S.; Fox, R. A.; Niazi, S. P., y Scheuer, P. J.: *Chronic liver disease and primary liver cell cancer with hepatitis-associated antigen in serum*. Lancet 1:1243, 1970.
81. Sepúlveda, B.; Landa, L.; Cervantes, L. F., y Larrauri, J. A.: *El antígeno asociado a la hepatitis (Australia) en las enfermedades crónicas del bigado*. Rev. Gastroent. Mex. 37:217, 1972.
82. Tong, M. J.; Sun, S. C.; Shaeffer, B. T.; Chang, N. K.; Lo, K. J., y Peters, R. L.: *Hepatitis-associated antigen and hepatocellular carcinoma in Taiwan*. Ann. Int. Med. 75: 687, 1971.
83. Trepo, Ch., y Thivolet, J.: *Hepatitis associated antigen and periarteritis nodosa (PAN)*. Vox Sang. 19:410, 1970.
84. Gocke, D. J.; Hsu, K.; Morgan, C.; Bombardieri, S.; Lockshin, M., y Christian, C. L.: *Association between polyarteritis and Australia antigen*. Lancet 2:1149, 1970.
85. Combes, B.; Shorey, J.; Barrera, A.; Stasny, P.; Eigenbrodt, E. H.; Hull, A., y Carter, N. W.: *Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane*. Lancet 2: 234, 1971.
86. Onion, D. K.; Cumpacker, C. S., y Gilliland, B. C.: *Arthritis of hepatitis associated with Australia antigen*. Ann. Int. Med. 75:29, 1971.
87. Krugman, S.; Giles, J. P., y Hammond, J.: *Viral hepatitis, type B (MS-2 strain): prevention with specific hepatitis B immune serum globulin*. J.A.M.A. 218:1655, 1971.
88. Prince, A. M.; Szmunes, W.; Woods, K. R., y Grady, G. F.: *Antibody against serum-hepatitis antigen: prevalence and potential use as immune serum globulin in prevention of serum-hepatitis infections*. New Engl. J. Med. 285:933, 1971.
89. Krugman, S.; Giles, J. P., y Hammond, J.: *Hepatitis virus: effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strain*. J. Infect. Dis. 122:432, 1970.
90. Soulier, J. P.; Blatix, C.; Courouge, A. M.; Benamon, D.; Amouch, P., y Drouet, J.: *Prevention of virus B hepatitis (SH hepatitis)*. Amer. J. Dis. Child. 123:429, 1972.
91. Krugman, S. P., y Giles, J. P.: *Viral hepatitis, type B (MS-2 strain). Further observations on natural history and prevention*. New Engl. J. Med. 288:755, 1973.