

HEPATITIS E: UNA ZONOSIS A TENER EN CUENTA EN CUBA

Autoría Principal: María Caridad Montalvo Villalba¹

Otros autores: Licel A Rodríguez Lay, Marité Bello Corredor, Placido Pedroso Flaquet, Meilin Sánchez Wong, Susel Sariego Frómeta, Jacob Canwat Owot, Benedito Eduardo Correia, Luis Morier, Hermis Rodríguez, Bárbara Marrero Hernández y Aidonis Gutiérrez

Colaboradores: Shahid Jameel

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Autopista Novia del Mediodía Km. 6 entre Carretera Central y Autopista Nacional Apdo. postal 601 Marianao 13. Teléfono: 537 -202 0450. Fax: 53 7- 204 6051.

¹Autor de correspondencia. Correo electrónico mcary@ipk.sld.cu

María Caridad Montalvo Villalba (20%). Diseño del estudio, colección de datos y muestras, ensayos serológicos, extracción del ácido ribonucleico, transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa, secuenciación nucleotídica, procesamiento de los datos con programas computarizados y estudio filogenético. Análisis de los resultados.

Licel de los Ángeles Rodríguez Lay (15%). Estudios de seroprevalencia, Cultivo celular, extracción del ácido ribonucleico, Transcripción Reversa y Reacción en Cadena de la Polimerasa, diseño y análisis de estrategias y resultados.

Marité Bello Corredor (13%). Cultivo celular, diseño y análisis de estrategias y resultados.

Placido Pedroso Flaquet (12%). Estudios de seroprevalencia, extracción del ácido ribonucleico, Transcripción Reverso y Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Meilin Sánchez Wong (8%). Colección de muestras y estudios de seroprevalencia.

Susel Sariego Frometa (7%). Estudios de seroprevalencia.

Jacob Canwat Owot (7%). Cultivo celular, extracción del ácido ribonucleico, Transcripción Reversa y Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Benedito Eduardo Correia (7%). Estudios de seroprevalencia.

Luis Morier Díaz (5%). Obtención de los aislamientos utilizados en el estudio.

Hermis Rodríguez (2%). Obtención de los aislamientos utilizados en el estudio.

Bárbara Marrero (2%). Estudios de seroprevalencia.

Aidonis Gutiérrez Moreno (2%). Colección de muestras y estudios de seroprevalencia.

RESUMEN

Antecedentes: El virus de la hepatitis E (VHE) es un patógeno de importancia creciente en salud pública, es transmitido primariamente por vía fecal-oral. Estudios recientes avalan que la vía de transmisión zoonótica está involucrada en la epidemiología de la hepatitis E, siendo el cerdo el principal reservorio. En Cuba, los estudios de circulación del VHE se realizaron en población abierta. En estas investigaciones se demostró que este virus causa brotes y casos esporádicos de hepatitis viral aguda (HVA). Así mismo, se constató la circulación silente del VHE y desde el punto de vista molecular se identificó el genotipo 1 del virus, detectado solo en humanos. **Problema a resolver y objetivos del trabajo:** Sin embargo, hasta el momento se desconocía si el VHE tenía un comportamiento zoonótico en nuestro medio. Los objetivos de esta investigación fue estimar la prevalencia del VHE en trabajadores de cuatro granjas porcinas de la provincia de Artemisa, evaluar los factores de riesgo asociados con la exposición al virus, detectar la excreción del VHE en heces de cerdos, y comparar desde el punto de vista molecular la identidad genética entre los aislamientos de cerdos y humanos. Además, se determinó la viabilidad del VHE recuperado de humanos y cerdos, mediante el aislamiento y propagación en línea celular en condiciones de laboratorio. **Resultados:** Por primera se identifica que las personas que trabajan en las granjas porcinas constituyen un grupo de riesgo dentro de la epidemiología del VHE en Cuba. Además, que estas personas se exponen al VHE, independientemente de su ocupación. Se identifica que el cerdo constituye un reservorio del VHE, por lo que el contacto con sus excretas puede constituir una fuente de contagio para las personas que manipulan estos animales y para la comunidad. Se detecta la circulación del genotipo 3, subtipo 3a, del VHE en Cuba, clasificado como genotipo zoonótico. La fuente de contagio del VHE en las granjas estudiadas es común, dado que los aislamientos humanos y porcinos mostraron una homología nucleotídica alta; que osciló de 94–99%. Se logró el crecimiento de los aislamientos del VHE porcinos y humanos (Genotipo 3) en una línea celular en condiciones de laboratorio, lo que confirma su viabilidad e infectividad. **Publicación que avala el resultado:** Hepatitis E virus genotype 3 in humans and swine, Cuba. *Infect Gen Evol* 14 2013; 335–339. Factor de Impacto 3,039. **Conclusiones:** Este tipo de estudio constituye el primero de su tipo en Cuba y en la región del Caribe. Los resultados permiten alertar al Sistema Nacional de Salud de la necesidad de implementar medidas preventivas y profilácticas que reduzcan la exposición al VHE, así como una vigilancia activa de esta entidad en los centros de producción porcina y en personas que se dedican a la cría doméstica de estos animales; con una atención especial a trabajadores con antecedentes de

enfermedad hepática crónica. La propagación del genotipo 3 del VHE en condiciones de laboratorio puede ser utilizada como una fuente antigénica de aislamientos autóctono, para ser utilizada en el diagnóstico serológico del VHE en Cuba y en el diseño de candidatos vacunales contra este patógeno.

COMUNICACIÓN CORTA

La existencia de la hepatitis E, se especuló por análisis retrospectivo de muestras clínicas durante una epidemia que se produjo en la India en 1955, la que simuló clínicamente ser un brote de hepatitis A; pero las características epidemiológicas diferían de esta entidad. Luego, no fue hasta la década del 90 del siglo pasado que se confirmó el diagnóstico, al ser visualizado el virus por inmunomicroscopía electrónica (IME) y el genoma viral fue clonado y caracterizado.

Taxonómicamente, el VHE pertenece al género *Hepevirus* de la familia *Hepeviridae*. Aunque existe un solo serotipo, el VHE tiene una variabilidad genética considerable y las diferentes cepas se agrupan en cuatro genotipos (1-4) y 24 subtipos (a-f). Los genotipos 1 y 2 han sido identificados en humanos y los genotipos 3 y 4, son denominados genotipos zoonóticos detectados en humanos y animales.

El virus de la hepatitis E (VHE) es la causa más importante de hepatitis viral aguda (HVA) en la población adulta de Asia, África y América Latina. La primera epidemia reportada de hepatitis E se produjo en Nueva Delhi (India), entre el período comprendido de 1955-56, cuando 29 000 casos de hepatitis icterica fueron diagnosticados; después de la contaminación fecal del agua de beber de la ciudad. Otra epidemia de hepatitis difundida por transmisión feco-hídrica ocurrió en Cachemira en 1978, donde 16 000 personas se infectaron. El mayor brote de hepatitis E que involucró a 120 000 casos, se detectó en el sur de China, en una ciudad conocida como Xianjiang Uighur, entre septiembre de 1986 y abril de 1988. En África, la epidemia más reciente del VHE fue descrita al norte de Uganda, con 10 196 casos reportados entre 2007 y 2009. En Sudán también se produjeron brotes con 6 861 casos, de los cuales 87 perecieron. De igual forma en el 2006, en la República de Chad se diagnosticaron 1 442 casos y 46 muertos, con una alta incidencia en los campos de refugiados. En el continente Americano, específicamente en la Ciudad de México se produjo un evento epidemiológico, que incluyó miles de casos infectados con el VHE en la década del 90.

La prevalencia del VHE es elevada en países con poca disponibilidad de agua potable, la infección es endémica en Asia, África y algunas regiones de América. La forma de presentación puede ser epidémica o casos esporádicos de HVA. La mortalidad por hepatitis E en la población general oscila de 1-3%, pero está es mayor en las mujeres embarazadas, sobre todo en el segundo o tercer trimestre, donde alcanza hasta un 20%.

La infección se transmite entéricamente por la ingestión de agua o alimentos contaminados por el VHE, liberados en heces de humanos o por los animales vivos en el ambiente. Otros modos de transmisión son la recepción de transfusiones de sangre de donantes infectados, por contacto estrecho persona-persona con el paciente icterico y la transmisión vertical.

La diseminación mundial de esta infección es alarmante, y se extiende hasta los países desarrollados debido a que se considera una entidad zoonótica que ha evolucionado hacia la infección en humanos. La transmisión antroponótica del VHE es principalmente ambiental, la transmisión zoonótica puede presentarse paralelamente con la contaminación de alimentos en el medio. Los genotipos 3 y 4 del VHE que infectan a los humanos, cerdos y otras especies de animales, son los responsables de casos esporádicos de hepatitis E, tanto en países en vías de desarrollo como en los países industrializados. Los cerdos, mariscos, jabalíes y ciervos son reservorios del virus, sus carnes, vísceras y residuos sólidos actúan como vehículos para la transmisión de este agente. La transmisión ínter-especies fue demostrada, lo que significa que el VHE porcino puede infectar a primates humanos y no humanos. Existen investigaciones que demostraron una gran similitud genómica entre las cepas que infectan a los cerdos y a los humanos, que trabajan directamente con estos animales. Estos aislamientos fueron identificados por métodos moleculares como genotipos 3 y 4 y se especula que la transmisión sea de cerdo a humano, por la elevada carga viral que tienen sus excreciones. Varios estudios se refieren a la prevalencia elevada de anticuerpos contra el VHE (anti-VHE), en las personas que tenían una exposición ocupacional al ganado porcino. Otros casos de infección fueron detectados en los trabajadores de mataderos y la cepa identificada perteneció al genotipo 3, subtipo 3f.

El empleo de los tejidos y órganos de estos cerdos como xenotrasplante, está siendo evaluado, ya puede constituir un riesgo para el hombre, debido a que el VHE se debería considerar un agente xenogénico potencial.

En Cuba, los estudios de circulación del VHE se realizaron en población abierta. En estas investigaciones se demostró que este virus causa brotes y casos esporádicos de HVA. Así mismo, se constató la circulación silente del VHE y desde el punto de vista molecular la circulación del genotipo 1 del virus, detectado solo en humanos. El análisis epidemiológico de estos estudios sugirieron que la transmisión de del virus era fecal-oral. Sin embargo, se desconocía si el VHE tenía un comportamiento zoonótico en nuestro medio.

El propósito de esta investigación fue estimar la prevalencia de marcadores serológicos (anti-VHE) y moleculares (ARN-VHE) de exposición al VHE en un grupo de trabajadores de cuatro granjas porcinas de la provincia de Artemisa. Al mismo tiempo, se evaluaron los factores de riesgo asociados con la exposición al VHE en esta población. Este trabajo se extendió a los cerdos de los centros porcinos estudiados para identificar la excreción del VHE en heces de estos animales (ARN-VHE) y conocer si existía identidad genética entre los aislamientos

del virus obtenidos de humanos y cerdos en estos centros. La viabilidad y capacidad infectiva del VHE obtenidos de humanos y de cerdos fue evaluada en una línea celular A549 (carcinoma de pulmón humano), mediante el aislamiento y propagación del virus. La presencia de este microorganismo fue confirmada por el efecto citopático que provocó su crecimiento en esta línea celular, y la identificación del AR-VHE.

Se identificó que las personas que trabajan en las granjas porcinas estudiadas son un grupo de riesgo para la infección por VHE en Cuba, al comparar el marcador serológico de exposición al virus (anti-VHE) con otros estudios realizados en población abierta cubana (35.8% vs. 10.0%, $p < 0.0001$). Según el tipo de trabajo directo (maternistas, limpiadores de naves, veterinarios) o no (choferes, personal de oficina, cocineros), se observó que todos los trabajadores se exponen al VHE independientemente de esta condición laboral. No obstante, el riesgo de exposición fue mayor para las personas que trabajan en contacto directo con cerdos (40,5% vs 27,0%). El marcador de exposición al VHE (anti-VHE) tuvo una asociación significativa con la edad (60-70 años) y el tiempo de trabajo (10-13 años), variables que sugieren que la fuente de contagio está relacionada con el trabajo en las unidades de producción porcina estudiadas. Se detectó la excreción del VHE en el 14.0% de heces de humanos estudiadas. Mientras que, la excreción del virus en heces de cerdos fue 18.8%, siendo mayor en las edades de 12-28 semanas. El genotipo zoonótico del VHE, genotipo 3 (subtipo 3a) se identificó en todos los aislamientos cubanos del VHE, obtenidos de humanos y cerdos. La fuente de contagio del VHE en las granjas estudiadas es común, dado que los aislamientos humanos y porcinos mostraron una homología nucleotídica elevada; la que osciló de 94–99%. Se logró el crecimiento de los aislamientos del VHE porcinos y humanos (Genotipo 3) en línea celular, lo que evidencia la ineffectividad de los aislamientos estudiados y la producción de este virus a escala de laboratorio puede ser utilizada como una fuente de antígenos con fines diagnósticos y vacunal.

Impactos del resultado

Científicos

- Por primera se identifica que las personas que trabajan en granjas porcinas constituyen un grupo de riesgo dentro de la epidemiología del VHE en Cuba.
- Se detecta por primera vez la circulación del genotipo 3, subtipo 3a, del VHE en Cuba.
- Se identifica que el cerdo constituye un reservorio del VHE, por lo que el contacto con sus excretas puede constituir una fuente de contagio para las personas que manipulan estos animales y para la comunidad.
- Se logró el crecimiento de los aislamientos del VHE porcinos y humanos (Genotipo 3) en línea celular en condiciones de laboratorio, lo que permitirá la producción de antígeno con fines diagnósticos y vacunal.

Social:

- Se demuestra por primera vez en Cuba que las personas que trabajan en granjas de cerdos tienen riesgo de exponerse al VHE, debido a su comportamiento zoonótico.
- El riesgo de exponerse al VHE es mayor cuando se trabajan con cerdos con edades de 12 a 28 semanas de edad.
- Las personas que trabajan en granjas porcinas se exponen al VHE, independientemente de su ocupación.
- Se alerta al Sistema Nacional de Salud de la necesidad de implementar medidas que reduzcan la exposición al VHE, así como una vigilancia activa de esta entidad en los centros de producción porcina, con una atención especial a trabajadores con antecedentes de enfermedad hepática crónica.

Los resultados obtenidos están en correspondencia con el Lineamiento 159 para el desarrollo económico y social del país en el que se plantea y cito: "Fortalecer las acciones en la promoción y prevención para el mejoramiento del estilo de vida, que contribuyan a incrementar los niveles de salud de la población con la participación intersectorial y comunitaria". De igual manera el lineamiento 160 que plantea, garantizar que la formación de especialistas médicos brinde respuesta a las necesidades del país, ya que la puesta en marcha de la detección molecular del VHE por PCR en tiempo real en el Laboratorio de Referencia Nacional de Hepatitis Virales, del IPK fue posible por un entrenamiento que se llevó a cabo en el Grupo de Virología del Centro Internacional de Genética y Biotecnología de Nueva Delhi, en India. El uso de esta herramienta como diagnóstico e identificación del virus, nos ubica a la altura de otros laboratorios homólogos de países desarrollados.