

## **DETECCION DE GENOTIPO ZONOTICO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS E EN DELFINES, CUBA**

**ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL:** Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

**AUTOR PRINCIPAL:** María Caridad Montalvo Villalba.

**CO-AUTORES:** Licel de los Ángeles Rodríguez Lay, Danilo Cruz Martínez, Marité Bello Corredor, Liena Sánchez Martínez, Celia Guevara March, Laima Sánchez Martínez-Campo, Meilin Sánchez Wong, Imram Ahmad, Bárbara Marrero Hernández, Chantal Snoeck, Aurelie Sausy, Judith Hubsche, Shahid Jameel.

**OTRAS ENTIDADES PARTICIPANTES:** Acuario Nacional de Cuba, Instituto de Salud de Luxemburgo

**COLABORADORES:** Naila García Méndez, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Cuba.

### **AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:**

María Caridad Montalvo Villalba.

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Autopista Novia del Mediodía Km. 6 entre Carretera Central y Autopista Nacional Apdo. postal 601 Marianao 13.

**Teléfono:** 537 -255 3546

**Fax:** 53 7- 204 6051

**Correo electrónico:** [mcary@ipk.sld.cu](mailto:mcary@ipk.sld.cu) , [caridadmont@infomed.sld.cu](mailto:caridadmont@infomed.sld.cu)

### **RESUMEN:**

**Antecedentes:** El virus de la hepatitis E (VHE) es un patógeno de importancia creciente en salud pública. En zonas endémicas las epidemias se producen, por el consumo de agua contaminada y en países desarrollados se dan casos ocasionales relacionados, con los animales considerándose la hepatitis E una zoonosis emergente. El VHE fue detectado en crustáceos y poblaciones de truchas, además altas prevalencias del virus fueron descritas en trabajadores que procesan mariscos. En Cuba, el VHE tiene un comportamiento zoonótico, los

estudios demostraron que el cerdo es un reservorio del virus y las personas que trabajan con estos animales, constituyen un grupo de riesgo. **Problema a resolver y objetivos del trabajo:** Dado el amplio rango de hospederos del VHE, la comunidad científica internacional tiene un marcado interés en la búsqueda de nuevos reservorios del virus, con el propósito de establecer rutas de transmisión a humanos; aun no establecidas. En los delfines *Tursiops Truncatus* del Acuario Nacional de Cuba, en el 2007 y 2014, se presentó un evento epidemiológico clínicamente compatible con una hepatitis aguda. Los objetivos de esta investigación fue estimar la prevalencia de marcadores del VHE (Ig. anti-VHE y ARN VHE) en delfines mular y en personas que trabajaban en contacto cercano con estos animales. Además, se realizó la vigilancia molecular de esta infección en delfines mular del Acuario Nacional de 2015 a septiembre de 2017. Se determinó la variabilidad genética (análisis filogenético) y viabilidad del VHE recuperado de delfines mediante el aislamiento y propagación en línea celular humana A549 en condiciones de laboratorio. **Resultados:** Por primera a nivel internacional se identifica serológica y genéticamente que el VHE infecta a delfines mular. En Cuba, se detecta una nueva variante genética del VHE, el genotipo 3, subtipo 3b en delfines, clasificado como genotipo zoonótico. El aislamiento del VHE de delfines es capaz de multiplicarse en una línea celular humana, lo que confirma la viabilidad e infectividad del virus; y pone en evidencia el potencial zoonótico del mismo. La prevalencia de anti-VHE en los trabajadores del acuario fue similar a la detectada en población abierta (12,5% vs. 10%), los datos no son suficientes para que constituyan un grupo de riesgo de esta entidad. La prevalencia de Ig. totales anti-VHE en delfines de la vigilancia 2015-2017 fue 13,6% (10/73). **Publicación que avala el resultado:** Hepatitis E virus in bottlenose dolphins *Tursiops Truncatus*. Dis Aquat Org. Vol. 123: 13–18, 2017. Factor de Impacto 1,752. **Conclusiones:** Los resultados constituyen un aporte mundial a la epidemiología del VHE, ya que se amplía el rango de hospederos del virus. Dado el potencial zoonótico del VHE en delfines y el contacto íntimo entre los humanos y los delfines en las condiciones del acuario, el riesgo potencial de transmisión zoonótica del VHE de animales a entrenadores y veterinarios no debe ser ignorado. Además, se le recomienda a los veterinarios de mamíferos marinos que el diagnóstico del VHE debe incluirse, ante la presencia de trastornos hepáticos con elevación ALT en delfines. Se recomienda a la comunidad que los productos derivados de estos animales deben manipularse con precaución, ya que pueden estar potencialmente infectados con el VHE.

#### **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 a 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 íter-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. En otro estudio realizado en granjas de cerdos se identificó que el VHE constituye una zoonosis en nuestro medio, ya que existe una elevada prevalencia de anti-VHE en las personas que trabajan en contacto cercano con cerdos. El cerdo al igual que en otros países constituye un reservorio del virus, en los que se detectó el genoma del virus, el que tenía una similitud nucleotídica con los aislamientos humanos de 97 a 99%.

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%,  $p < 0.001$ ). 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**

- Se detecta por primera vez serológica y genéticamente la circulación del VHE en delfines *Tursiops truncatus*.
- Se identifica una nueva variante del VHE en Cuba, el genotipo 3, subtipo 3b en delfines.
- Se demuestra que el aislamiento del VHE de delfines es capaz de multiplicarse en una línea celular humana, lo que pone en evidencia la viabilidad del virus y su potencial zoonótico.

### **Social:**

- Constituye un aporte mundial a la epidemiología del VHE, ya que se identifica un nuevo reservorio del virus lo que amplía el rango de hospederos del virus.
- Dado el potencial zoonótico del VHE en delfines, la vigilancia de la hepatitis E se debe implementar en las personas que trabajan en contacto cercano con estos animales.
- Se recomienda a los veterinarios de mamíferos marinos que el diagnóstico

del VHE debe incluirse, ante la presencia de trastornos hepáticos con elevación ALT en delfines.

- Se alerta a la comunidad que la carne u otros productos derivados de estos animales se deben manipularse con precaución, ya que pueden estar potencialmente infectados con el VHE.