

Instituto de Gastroenterología, La Habana, Cuba.

Infección oculta y coinfección viral en pacientes con hepatopatía crónica por virus B

Occult infection and viral co-infection in chronic hepatitis B patients

Deyanira La Rosa Hernández^I, Héctor Vega Sánchez^{II}, Niurka Sánchez Castañeda^{III}, Yadina Martínez Pérez^{IV}, Niurka Santos Hernández^V, Ana Elena Arús Fernández^{VI}, Paulina Verdecia Moreno^{VII}, Prudencia Sayú Chibás^{VIII} y Enrique J Gómez Cabezas^{IX}

^IEspecialista Primer Grado en Inmunología Clínica. Máster en Nutrición en Salud Pública. Profesor Asistente de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Investigador Agregado. deyani@infomed.sld.cu

^{II}Especialista Segundo Grado en Bioquímica Clínica. Investigador Auxiliar. hvega@infomed.sld.cu

^{III}Especialista Primer Grado en Inmunología clínica. Máster en Ciencias en Educación Médica Superior. Profesor Auxiliar de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. niurkasc@infomed.sld.cu

^{IV}Especialista Primer Grado en Gastroenterología. Investigador Auxiliar. deyani@infomed.sld.cu

^VLicenciado Tecnología de la Salud. niurka.santos@infomed.sld.cu

^{VI}Especialista Primer Grado en Genética Clínica. anarus@infomed.sld.cu

^{VII}Licenciado Tecnología de la Salud. deyani@infomed.sld.cu

^{VIII}Licenciado Tecnología de la Salud. hvega@infomed.sld.cu

^{IX}Especialista Primer Grado Medicina General Integral. Instructor de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. gomez@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: la infección por el virus de la hepatitis B constituye uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, su espectro clínico es variable.

Objetivo: Identificar infección oculta y coinfección viral en pacientes con hepatopatía crónica por virus B.

Material y Métodos: se realizó un estudio observacional descriptivo transversal en pacientes con hepatitis B crónica con carga viral detectable, atendidos durante el último trimestre de 2014 en el Instituto de Gastroenterología. Se estimó la seroprevalencia de anti HVC y anti HIV así como la frecuencia de AgHBs, y Anti S, las asociaciones fueron evaluadas mediante el estadígrafo χ^2 .

Resultados: existió un predominio de las cargas virales bajas para 81.3 %. El 28.7 % de las muestras fueron AgHBs negativas, sugestivas de infección por virus oculto. Se detectaron niveles de protección frente al antígeno S en 20 % de los pacientes con carga viral baja. la coinfección a hepatitis C fue frecuente para 8.4 %.

Conclusiones: la infección oculta al virus de hepatitis B fue frecuente en las muestras procesadas en el Instituto de Gastroenterología, con asociación a coinfección al virus de hepatitis C.

Palabras clave: hepatitis B, virus, coinfección viral, infección oculta, antígeno de superficie, carga viral, VIH.

ABSTRACT

Introduction: infection with the hepatitis B virus is one of the major health problems worldwide, clinical spectrum is variable.

Objective: To identify occult viral infection and co-infection in patients with chronic liver disease for virus B.

Material and Methods: a cross-sectional observational study was conducted in patients with chronic hepatitis B with detectable viral load seen during the last quarter of 2014 in the Institute of Gastroenterology. The seroprevalence of anti HCV and anti HIV and the frequency of HBsAg and Anti S was estimated associations were evaluated using the χ^2 statistic.

Results: there is a predominance of low viral loadsto81.3%. 28.7% of samples were HBsAg negative, suggestive of occult virus infection. Protective levels against the antigen S were detected in 20% of patients with low viral load.Hepatitis C coinfection was frequent for 8.4%.

Conclusions: the occult infection hepatitis B virus is common in samples processed at the Institute of Gastroenterology with associated coinfection virus hepatitis C.

Keywords: occult hepatitis B, hepatitis B virus, viral coinfection, occult infection, surface antigen, viral load, HIV.

INTRODUCCIÓN

La hepatitis por virus B (VHB) es una enfermedad infecciosa de alta morbimortalidad. A nivel mundial se estima que más de 2000 millones de personas han sido infestadas. De estas, alrededor de 400 millones persisten con una infección crónica y presentan un riesgo aumentado para desarrollar cirrosis, insuficiencia hepática y hepatocarcinoma (CHC). Estas complicaciones pueden ocasionar entre 500 mil y un millón de muertes por año.^{1,2}

Luego de la infección se detectan en el suero los antígenos del virus y sus anticuerpos, así como el ácido nucleico viral, marcadores serológicos de la infección, que tienen un incuestionable valor para el diagnóstico y varían su comportamiento en dependencia del curso clínico de la enfermedad.^{1,3} El diagnóstico de infección por el VHB se realiza por la detección en sangre del antígeno de superficie del VHB (HBsAg, siglas del inglés: *Hepatitis B s Antigen*), el cual corresponde al marcador de tamizaje. Se suele negativizar de 4 a 6 meses si los pacientes se curan, su presencia más allá de 6 meses implica infección crónica.³ El antígeno del core (HBcAg siglas del inglés: *Hepatitis B Core Antigen*) es intracelular y no se puede detectar por análisis serológico. Sin embargo, pueden analizarse dos isotipos de su anticuerpo, el anti-HBc IgM marcador de infección aguda, detectable a títulos bajos cuando se produce la fase de eliminación inmune de la hepatitis crónica y en las exacerbaciones de los portadores inactivos del virus B, su determinación puede ser útil para el diagnóstico de la hepatitis aguda en el período ventana y el anti-HBc IgG que puede ser el único marcador detectable en portadores asintomáticos con baja replicación viral, presente en infección aguda, exacerbaciones de infección crónica y hepatitis curada.^{1,3} El antígeno e (HBeAg siglas del inglés: *Hepatitis B e Antigen*) es uno de los marcadores de replicación viral activa y, por tanto, de alta infectividad y severidad de la enfermedad. Sin embargo, la existencia de una población crónicamente infectada que presenta altos niveles de ADN y son negativos para el HBeAg (mutantes precore y del promotor core), ha hecho que este antígeno deje de considerarse un marcador inequívoco de replicación viral.^{1,3} Cuando el HBeAg declina, comienzan a detectarse sus anticuerpos, que generalmente persisten por uno o más años luego de la resolución de la infección y cuya presencia se asocia a una reducción de la infectividad del paciente y pronóstico de recuperación, por lo que la seroconversión a anti-HBeAg se tiene como punto final del tratamiento.² El mejor indicador de replicación viral activa y alto grado de infectividad es la presencia de ADN del virus en el suero.^{1,2}

A finales de los años 70 se describió un tipo de infección correspondiente a individuos negativos para el marcador serológico HBsAg con presencia de DNA del virus de hepatitis B; se denominó infección oculta por VHB: OBI (siglas del inglés: *occult HBV infection*).^{2,4-8} En la actualidad, se reconoce a la OBI como una entidad con implicaciones clínicas importantes que incluyen además del riesgo de transmisión de la infección por transfusión sanguínea o trasplante de órganos, la exacerbación de la enfermedad y la progresión a cirrosis y/o hepatocarcinoma.^{6,8,9} La prevalencia de este padecimiento ha sido estudiada en poblaciones con diferentes factores de riesgo como pacientes sometidos a hemodiálisis, infestados por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), por virus de hepatitis C (VHC), portadores de hepatopatías crónicas, en pacientes con diagnóstico de hepatocarcinoma, en hijos de madres antígeno de superficie positivo al virus de hepatitis B. Con rangos de prevalencia variable de 0-90% depende de la población de estudio y la técnica empleada para la detección del genoma del VHB.^{4,10-13} La detección del genoma viral de hepatitis B en muestras de suero o tejido hepático es considerada la técnica de oro para el diagnóstico de OBI, estudios recientes demuestran la implicación de las coinfecciones virales en la patogenia de esta entidad.^{4,14}

Teniendo en cuenta las implicaciones de esta entidad en la evolución clínica de los pacientes afectados, así como la elevada asociación con coinfecciones solapadas en quienes lo padecen, se decidió ir a su búsqueda en uno de los grupos mejor descritos

por la literatura científica^{4,10-14} con el propósito de mejorar su seguimiento y modificar terapéutica en caso necesario.

OBJETIVO

Identificar infección oculta y coinfección viral en pacientes con hepatopatía crónica por virus B.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo transversal que incluyó 87 pacientes con diagnóstico de hepatopatía crónica por virus B con carga viral detectable, atendidos durante el último trimestre de 2014 en el Instituto de Gastroenterología, La Habana, Cuba.

Fueron reclutados todos los pacientes con carga viral detectable al virus de la hepatitis B, evaluados durante este período, previo consentimiento informado.

Se analizó como variable sociodemográfica el sexo.

A todos los pacientes se les realizó extracción de sangre para la determinación de AgHBs, Anti S, anti HVC y anti HIV.

Otra variable de estudio fue la carga viral, la cual se determinó mediante prueba de amplificación de ácidos nucleicos para la cuantificación de ADN del virus de la hepatitis B; se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Se consideraron tres categorías de acuerdo con los rangos de detección:

Carga Viral Alta: >20000 UI/mL

Carga Viral Moderada: 2000-20000 UI/mL

Carga Viral Baja: <2000UI/mL

El resto de las determinaciones fueron realizadas, utilizando los KIT comercializados por TECNOSUMA tipo ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*):

- UMELISA® HBsAg PLUS (SUMA, CIE) para la detección de AgsHB en suero, que se clasificó en: Negativo / Positivo.
- UMELISA ®anti-HBs (SUMA, CIE) (Anti S) para la detección del anticuerpo contra AgsHB en suero, que se clasificó en: No Protegido / Protegido / Hiperrespondedor.
- UMELISA ®HCV (SUMA, CIE) para la detección del virus de la Hepatitis C (VHC), que se clasificó en: Negativo / Positivo.
- UMELISA® HIV 1+2 RECOMBINANT (SUMA, CIE) para la detección de anticuerpos al VIH 1 y VIH 2, que se clasificó en: Negativo / Positivo.

Toda la información se recogió en una base de datos diseñada por los autores de esta investigación y avalada por expertos.

Se utilizaron estadísticas descriptivas, expresando los resultados en tablas de distribución de frecuencias y gráficos. Para la comparación entre los grupos se utilizó la prueba del X^2 . Se consideró significativo una $p < 0,05$.

Para el desarrollo de la investigación se cumplieron los principios enunciados en la Declaración de Helsinki.¹⁵

RESULTADOS

Tabla 1. Distribución según carga viral de Hepatitis B y sexo

CARGA VIRAL	SEXO				Total	
	Femenino		Masculino		No.	%
	No.	%	No.	%		
Baja	33	38,1	37	43,2	70	81,3
Moderada	1	1,1	4	4,4	5	5,5
Alta	2	2,2	10	11,0	12	13,2
TOTAL	36	41,4	51	58,6	87	100

Hubo un predominio de las cargas virales bajas y el sexo masculino, sin diferencias en la distribución de acuerdo con el rango de carga viral y el sexo con una prueba Chi-Cuadrado $X^2 = 4.922$, $p = 0.85$. (tabla 1).

En el Gráfico 1, se muestra la distribución de pacientes de acuerdo con la carga viral y el antígeno de superficie. El 35.7% de las muestras con baja carga viral fueron antígeno de superficie negativo, sugestivas de infección por virus oculto. Esto representa 28.7 % de la población estudiada. Las bajas concentraciones de DNA viral se relacionaron con la ausencia del antígeno de superficie con una prueba Chi-Cuadrado $X^2 = 8.520$, $p = 0.014$.

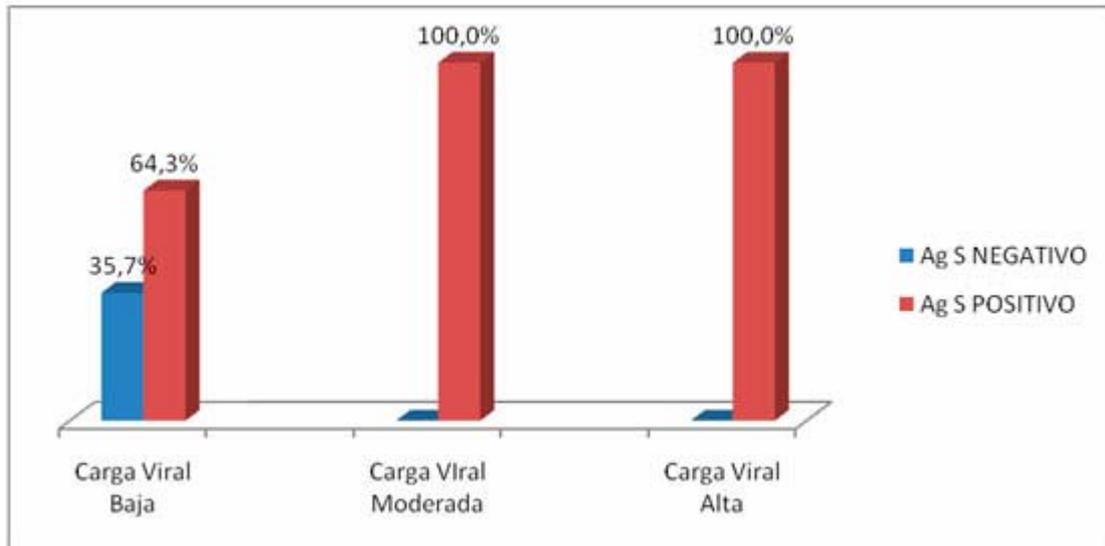


Gráfico 1. Distribución según carga viral de Hepatitis B y antígeno de superficie

En la tabla 2, se representa la distribución de anticuerpos antiantígeno S según carga viral. Se detectaron niveles de protección frente al antígeno S en los pacientes con carga viral baja, a pesar de ello no se establecen diferencias entre los grupos con una prueba Chi-Cuadrado $X^2=4.052$, $p = 0.399$.

Tabla 2. Distribución de Anti S según carga viral de Hepatitis B

Carga Viral	Anti S					
	No Protegido		Protegido		Hiperrespondedor	
	No.	%	No.	%	No.	%
Baja	56	80,0	1	1,4	13	18,6
Moderada	5	100,0	0	0	0	0
Alta	12	100,0	0	0	0	0

De los pacientes protegidos frente al antígeno S, la mayor frecuencia fue registrada en el grupo con antígeno de superficie positivo para cerca de 14 %, la infección oculta manifestada por concentraciones bajas de DNA y antígeno de superficie negativo, no determinó la más alta frecuencia de protección con una prueba Chi-Cuadrado $X^2=4.052$, $p = 0.399$. (Gráfico 2).

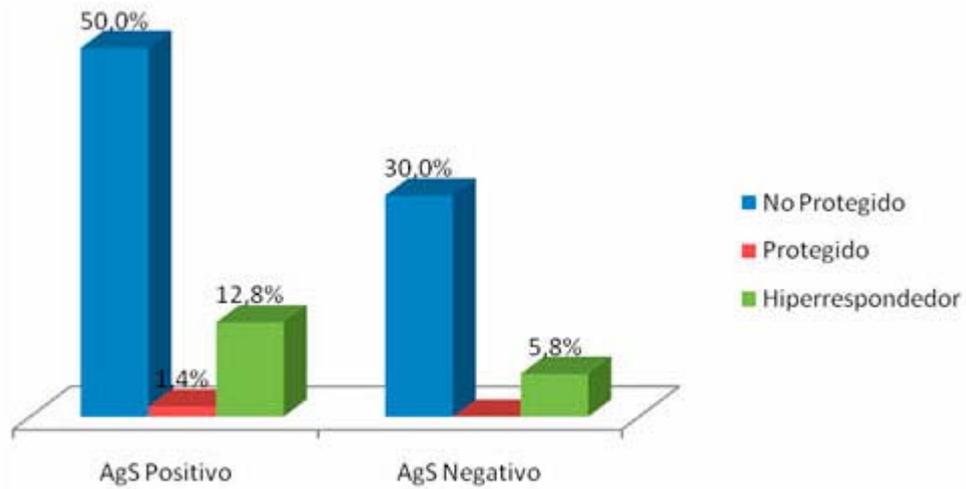


Gráfico 2. Distribución de Anti S según antígeno de superficie en pacientes con baja carga viral para Hepatitis B

La coinfección viral a VIH y hepatitis C se registró en pacientes con baja carga viral para 10 %; predominó en el grupo con antígeno de superficie positivo. La infección por VHC fue la más frecuente, representó 8.6 %. No existió asociación entre coinfección y expresión de antígeno de superficie, con una prueba Chi-Cuadrado $X^2 = 1.565$, $p = 0.457$. No obstante, la coinfección viral no fue infrecuente en pacientes con infección oculta al virus de hepatitis B (3/25) representó 12% de este grupo, con mayor representatividad para la infección por VHC. (gráfico 3).

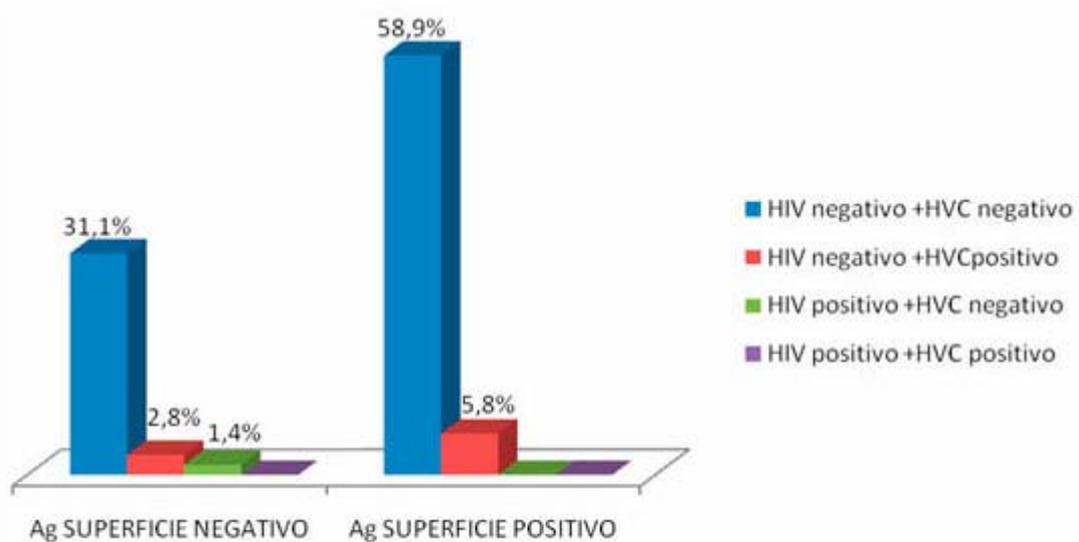


Gráfico 3: Coinfección de Hepatitis C y HIV en pacientes con baja carga viral para Hepatitis B

DISCUSIÓN

La infección por el virus de hepatitis B continúa siendo un problema de salud a nivel mundial. Cuba se encuentra ubicada en un área geográfica de endemicidad baja, con la utilización en el país de la vacuna profiláctica Heberbiovac HB y la aplicación de diferentes estrategias diseñadas por el MINSAP, se ha observado una reducción de la incidencia en población general. En el pasado año 2014, se reportaron 19 casos de hepatitis B aguda para una tasa de $0,2 \times 10^5$ habitantes.¹⁶

En el Instituto de Gastroenterología de La Habana, centro rector de la especialidad, el porcentaje de positividad de los estudios serológicos para hepatitis B es elevado, se ha estimado que en los últimos 5 años 1.3 % de los pacientes atendidos en esta Institución se encuentran infestados.¹⁷ El espectro clínico de la infección crónica varía de portadores inactivos del VHB a formas severas de enfermedad hepática crónica. El predominio de las cargas virales bajas en la población estudiada ayudarían a inferir que la mayoría de estos pacientes se encuentran en estado de seroconversión o portador inactivo aunque la ausencia de determinaciones de antígeno e y su anticuerpo limita esta afirmación.

No existe consenso acerca de la prevalencia de OBI. Las diferencias en la selección de las poblaciones de estudio y los métodos de evaluación de ácidos nucleicos son factores reconocidos como determinantes en estas variaciones que dificultan los puntos de comparación. Los principales grupos estudiados han sido los donantes de sangre, pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática criptogénica y hemodializados.^{10-13,18-20} Resultados similares a los hallazgos encontrados en esta investigación, son reportados en países como Brasil, India y Taiwan; en el pesquiasaje de donantes voluntarios^{11,18} no se registran antecedentes de reportes de OBI en portadores crónicos de hepatitis B en Cuba. Mutaciones en el determinante antigénico que modifican el epítipo de reconocimiento de los anticuerpos utilizados por las pruebas de ELISA¹⁴ pudieran estar implicados en la patogénesis de la infección oculta presente en estos pacientes.

Los anticuerpos frente al antígeno S aparecen generalmente en personas que se recuperan de la infección e inmunizadas profilácticamente; ^{1,2} reportes de bajas concentraciones de Anti S han sido registrados en portadores crónicos,² en el caso particular del estudio que nos ocupa hay que tener en cuenta además, la disponibilidad de la vacuna profiláctica, no se puede descartar la exposición a ella en esta población, recordemos que la vacunación se realiza sin pesquiasaje previo de marcadores de infección por el VHB, siendo esta una probabilidad para los hallazgos encontrados que explica la presencia de altas concentraciones de anticuerpos neutralizantes en individuos con baja carga viral,

Estudios realizados en Colombia en pacientes infestados por VIH y VHC demuestran que no es infrecuente la asociación con OBI;¹⁸ estos resultados reportan frecuencias superiores a las registradas en el presente estudio. La coinfección del VHB y el VHC está ampliamente documentada, en la patogénesis de la infección oculta por virus B se plantea que el VHC interfiere en la replicación y expresión de genes de VHB.¹² Cuba es un país de baja prevalencia para el virus de hepatitis C, no existen reportes sobre el comportamiento de infección oculta por virus de hepatitis B en estos pacientes ni en aquellos infestados por VIH.

CONCLUSIONES

La infección oculta al virus de hepatitis B fue frecuente en las muestras procesadas en el Instituto de Gastroenterología con asociación a coinfección al virus de hepatitis C.

RECOMENDACIONES

Los resultados encontrados enriquecen el manejo de los pacientes diagnosticados y constituyen un importante punto de inicio para el diseño de protocolos de actuación, que optimicen el uso de los medios diagnósticos serológicos y de biología molecular que dispone actualmente la institución.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gerlich WH. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology journal*. 2013;10:239.
2. Niederau C. Chronic hepatitis B in 2014: great therapeutic progress, large diagnostic deficit. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2014;20(33):11595.
3. Pourkarim MR, Amini-Bavil-Olyae S, Kurbanov F, Van Ranst M, Tacke F. Molecular identification of hepatitis B virus genotypes/subgenotypes: revised classification hurdles and updated resolutions. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2014;20(23):7152-68.
4. Alavian SM, Miri SM, Hollinger FB, Jazayeri SM. Occult Hepatitis B (OBH) in Clinical Settings. *Hepatitis monthly*. 2012;12(8):e6126.
5. Lledo JL, Fernández C, Gutiérrez ML, Ocana S. Management of occult hepatitis B virus infection: an update for the clinician. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2011;17(12):1563-8.
6. Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. *Seminars in immunopathology*. 2013;35(1):39-52.
7. Said ZN. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2011;17(15):1927-38.
8. Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clinical microbiology reviews*. 2012;25(1):142-63.
9. Schmeltzer P, Sherman KE. Occult hepatitis B: clinical implications and treatment decisions. *Digestive diseases and sciences*. 2010;55(12):3328-35.
10. Fernández-Rodríguez CM, Gutiérrez ML, Lledo JL, Casas ML. Influence of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis C outcomes. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2011;17(12):1558-62.
11. Ferrari TC, Xavier MA, Vidigal PV, Amaral NS, Diniz PA, Resende AP, *et al*. Occult hepatitis B virus infection in liver transplant patients in a Brazilian referral center. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]*. 2014;47(11):990-4.

12. Habibollahi P, Safari S, Daryani NE, Alavian SM. Occult hepatitis B infection and its possible impact on chronic hepatitis C virus infection. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2009;15(4):220-4.
13. Maldonado-Rodríguez A, Cevallos AM, Rojas-Montes O, Enriquez-Navarro K, Álvarez-Muñoz MT, Lira R. Occult hepatitis B virus co-infection in human immunodeficiency virus-positive patients: A review of prevalence, diagnosis and clinical significance. *World journal of hepatology*. 2015;7(2):253-60.
14. De la Fuente RA, Gutiérrez ML, García-Samaniego J, Fernández-Rodríguez C, Lledo JL, Castellanos G. Pathogenesis of occult chronic hepatitis B virus infection. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2011;17(12):1543-8. Epub 2011/04/08.
15. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. WMA. 2013.
16. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud. Cuadro 66. 2014:90-1.
17. Hernández CM, Folgueira RM, Cendán A, Turcaz N. Prevalencia de hepatitis virales B y C en trabajadores del Instituto de Gastroenterología de La Habana. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*. 2014;15(3):24-30.
18. Rios-Ocampo WA, Cortes-Mancera F, Olarte JC, Soto A, Navas MC. Occult hepatitis B virus infection among blood donors in Colombia. *Virology journal*. 2014;11:206.
19. Sagnelli E, Pisaturo M, Martini S, Filippini P, Sagnelli C, Coppola N. Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients. *World journal of hepatology*. 2014;6(6):384-93.
20. Tramuto F, Maida CM, Colomba GM, Di Carlo P, Vitale F. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in a cohort of HIV-positive patients resident in Sicily, Italy. *Biomed Res Int*. 2013.

Recibido: 14 de agosto de 2015.

Aprobado: 11 de noviembre de 2015.