

# Estudio clínico, serológico y virológico de un brote de hepatitis viral aguda en Ciudad de La Habana

Raiza Martínez<sup>1</sup>, Licel Rodríguez<sup>2</sup>, Belkis Díaz<sup>2</sup>, Ma. de los Angeles Ribas<sup>2</sup>, Carina Rodríguez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

Se realizó el estudio de un brote de hepatitis A ocurrido en un círculo infantil de Ciudad de La Habana en 1996. Con el objetivo de comparar su utilidad para el diagnóstico etiológico de dicho brote, se estableció la relación entre los siguientes indicadores: comportamiento clínico, valor de la enzima ALT, presencia del virus en las heces fecales y detección de la IgM anti VHA en el suero de los individuos estudiados. La información sobre el comportamiento clínico y las cifras de ALT la facilitó por el médico de la institución. La detección del Ag VHA en las heces fecales y de la IgM anti VHA en el suero se realizó mediante la técnica de ELISA. El 87,5% de los infectados permaneció asintomático y en más de la mitad de los casos la cifra de ALT sérica se mantuvo entre los límites normales. Sólo 3 de 84 muestras de heces fecales resultaron positivas para el Ag VHA. La detección de la IgM anti VHA, en cambio, mostró el mayor porcentaje de positividad (12,4%), en comparación con el resto de los indicadores, lo que confirma que constituye el método de elección para el diagnóstico de los brotes de hepatitis A.

Palabras claves: hepatitis A, diagnóstico, IgM, ALT.

## Introducción

En Cuba, actualmente las hepatitis virales ocupan la quinta causa de morbilidad por enfermedades infecciosas. La hepatitis A representa del 80% al 90% de la incidencia conocida de esas enfermedades. En 1998, de los 17 091 casos reportados de hepatitis, 15 557 se corresponden con la hepatitis tipo A, que se comporta de manera endémica con una tendencia ascendente (1).

La elevada frecuencia de casos asintomáticos así como la comprobada eficiencia de la transmisión de los agentes productores de infecciones entéricas en los niños, favorecen la aparición de brotes de hepatitis A en escuelas y otros centros infantiles haciendo que estos sean una importante fuente de virus en la comunidad (2).

La hepatitis A no puede ser diferenciada de otras hepatitis virales agudas teniendo solamente en cuenta las características clínicas y epidemiológicas. El diagnóstico preciso de esta entidad requiere de una prueba serológica que detecte la presencia de anticuerpos específicos del tipo IgM (IgM anti VHA) contra las proteínas de la cápsida viral. En la mayoría de las personas la IgM anti VHA puede detectarse 5-10 días después de la exposición y persiste elevada hasta 6 meses después (3).

Desde 1990 se dispone en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), de técnicas para el diagnóstico de la hepatitis A (VHA), mediante la detección de la IgM anti VHA en sangre y del antígeno viral (Ag VHA) en heces fecales. Este hecho ha ampliado las posibilidades de diagnóstico de esta enfermedad que anteriormente solo se basaba en las características clínico-epidemiológicas de la misma, así como en la elevación de los niveles de la enzima alanil-amino transferasa (ALT) en el suero de los individuos implicados en los brotes.

El interés del presente trabajo es realizar el estudio de un brote de hepatitis viral aguda, comparando el aspecto clínico, el perfil enzimático, la aparición del virus en las heces y la detección de la IgM anti VHA como diagnósticos de la presencia viral.

## Materiales y métodos

### Población del estudio y muestra

Se estudiaron 107 niños (entre 2 y 4 años de edad) y 27 adultos que constituyen más del 98% de la población de un Círculo Infantil (CI) de Ciudad Habana en el cual tuvo lugar un brote de hepatitis viral aguda en los meses de mayo y junio de 1996.

La información sobre el comportamiento clínico de todos los individuos así como las cifras de ALT de 59 casos, fue aportada por el médico de la institución

mediante la revisión de las historias clínicas. Entre la valoración clínica de los pacientes y la extracción de sangre para la determinación enzimática medió un tiempo no mayor de una semana.

Se tomaron 129 muestras de sangre total, obtenida por punción digital, con lanceta estéril, colectada en papel de filtro y 84 muestras de heces fecales. Estas muestras fueron colectadas en los 15 días que siguieron al inicio del brote.

#### Definición de caso

- Criterio clínico: Se consideró caso de hepatitis viral A a los individuos que presentaron una enfermedad constituida por al menos uno de los siguientes síntomas y signos: fatiga importante, náuseas, vómitos, coloración amarilla de piel y mucosas, orinas oscuras y heces blanquecinas. Se consideró además la elevación de los niveles séricos de ALT, tomándose como valor normal hasta 12 UI.
- Criterio serológico: IgM anti VHA positiva (4).

#### Procesamiento de las muestras y pruebas realizadas:

- Los papeles de filtro (Blood Sampling Paper, Nobuto's type I, Toyo Roshi Kaisha, Ltd Tokio, Japón) con la sangre colectada, fueron procesados según las indicaciones del fabricante, hasta obtener un eluado que contenía los anticuerpos presentes en la sangre y que se correspondía con una dilución 1:10 del suero, la cual fue convertida adicionándole PBS en 1:500, que es la dilución óptima para la detección de la IgM anti VHA (5). A partir de esta muestra se realizó un ELISA tipo captura de IgM normalizado en el IPK (6).
- A partir de un gramo de heces fecales se preparó una suspensión al 10-20% en PBS, luego de un proceso de agitación con perlas de vidrio y centrifugación a 3000 rpm a 40°C durante 30 min, colectándose el sobrenadante (7). Se realizó a continuación un ELISA tipo sandwich de doble

anticuerpo, para la detección del Ag VHA en las heces fecales, igualmente normalizado en el IPK (datos no publicados).

#### Resultados

Sólo 2 niños de los 129 individuos estudiados (1,5%), desarrollaron un cuadro clínico sugestivo de hepatitis viral aguda (ictero, hipocolia, coluria, anorexia y toma del estado general), en estos casos la IgM anti VHA fue positiva, el valor de la ALT resultó normal y no se detectó Ag VHA en las heces fecales (Tabla 1). El resto de los individuos con IgM anti VHA o Ag VHA positivos, o con elevación de la ALT, resultaron asintomáticos. Estos dos niños representan el 12,5% de los individuos IgM anti VHA positivos.

La cifra de ALT sérica se elevó ligeramente en 2 de los 59 casos procesados (3,4%). Uno de ellos con 78 UI, resultó IgM anti VHA positivo, mientras que el otro con 27 U-L, fue negativo. En ambos casos el Ag VHA en heces fecales fue negativo (Tabla 1). Del resto de los individuos positivos a alguno de los otros marcadores, en 12 la ALT se encontró normal y en 8 se desconocía su valor.

En 3 (1 adulto y 2 niños) de las 84 muestras de heces fecales procesadas (3,6%), se encontró Ag VHA. La IgM anti VHA fue positiva en uno de los casos y negativa en los dos restantes (Tabla 1).

De las 129 muestras analizadas para IgM anti VHA, se encontraron 16 positivas (12,4%), todas procedentes de niños, de ellas 2 se correspondieron con los casos clínicos, 1 con la cifra de la ALT ligeramente elevada y 1 con el Ag HAV positivo --ya mencionado-- (Tabla 1). En 8 de los casos con la IgM anti VHA positiva la ALT fue normal, y en 7 se desconocía su valor.

El resto de los individuos analizados (111 de 129), resultó negativo frente a todos los indicadores.

**Tabla 1: Casos positivos según los criterios diagnósticos utilizados en el brote de hepatitis viral estudiado.**

Criterio diagnóstico (n)	CC +	ALT elevada	Ag VHA	IgM anti VHA
CC (129)	2	0	0	2
ALT (59)	0	2	0	1
Ag VHA (84)	0	0	3	1
IgM anti VHA (129)	2	1	1	16

Nota: CC- cuadro clínico

n- número de muestras

## Discusión

El hecho de haber encontrado positividad a los marcadores estudiados casi exclusivamente en niños se corresponde con lo esperado para un país en desarrollo con elevada incidencia de hepatitis A, donde la mayoría de los individuos sufren la infección y quedan inmunes en los primeros diez años de vida (8).

El bajo número de individuos, especialmente niños, con síntomas ante una infección por VHA, es un hecho conocido y frecuentemente reportado en la literatura. Se plantea que alrededor del 90% de los menores de 5 años y del 25 al 50% de los adultos, sufren la infección de manera asintomática (9). También se esperaba que en el momento de la presentación de los síntomas clínicos, la IgM anti VHA fuera detectable en el suero de los infectados, por ser este un marcador de aparición precoz, al tiempo que dejara de detectarse el Ag VHA, al disminuir notablemente la eliminación fecal del virus (9). Las cifras de ALT en los casos agudos de hepatitis A, por lo general están marcadamente elevadas pudiendo alcanzar, valores superiores a las 500 UI en el momento del inicio del cuadro clínico (9). Sin embargo, se han reportado casos donde a pesar de la positividad de la IgM, las cifras de ALT permanecen normales (10,11), esto puede explicarse por el hecho de que la IgM alcanza valores detectables por métodos serológicos 7 a 10 días antes de que aumenten los niveles séricos de la ALT (11). Por otro lado, es sabido que en los niños las enzimas hepáticas aumentan y disminuyen muy rápidamente, por lo que es posible encontrar casos con infección actual, positivos a anticuerpos IgM y con niveles enzimáticos normales. Finalmente --como se sabe--, la IgM permanece elevada en el suero por un período de hasta seis meses y en algunos casos hasta de un año (12), es muy posible entonces que los individuos positivos por IgM y con ALT normal hayan sido infectados anteriormente y que todavía conserven su IgM positiva, lo que no es de extrañar, tratándose de niños de un CI, cuyo riesgo de infectarse es bastante alto.

La elevación de la ALT, con IgM negativa, ya ha sido reportada en otros estudios, incluido el realizado en Cuba en 1991 (13). En este caso pudiera tratarse de un individuo con ausencia de respuesta de tipo IgM o más, probablemente con un daño hepático no relacionado con la infección por el VHA. Se han reportado también casos de personas con fallo hepático agudo que fueron negativos a la IgM anti VHA en el inicio de su enfermedad, resultando positivos una semana más tarde (14).

Como ya se dijo, la excreción fecal del virus disminuye cuando empiezan a elevarse los anticuerpos contra él, a partir de la segunda o tercera semana de la infección, no siendo detectable muchas veces en el momento de la presentación de los síntomas (9). En la mayoría de los casos donde se detectó el Ag viral en las heces fecales, la IgM resultó negativa, lo que nos hace pensar que las muestras fueron colectadas en un período temprano de la infección, cuando los niveles de la IgM todavía no eran detectables. Varios autores han planteado la mayor durabilidad de la eliminación fecal de virus en los niños en comparación con los adultos (15).

Lo anterior pudiera explicar la presencia de casos donde el Ag VHA permanece francamente positivo cuando ya ha aparecido la respuesta de IgM. Los resultados obtenidos nos hacen reconocer que la detección del Ag viral mediante el ELISA, pudiera resultar útil en aquellos individuos infectados con el VHA, donde aún no se haya elevado la IgM, pero sin duda su uso para el diagnóstico tiene muchas limitaciones, por lo que coincidimos con quienes no lo recomiendan para ese fin (11,13).

Si comparamos el número de individuos que resultaron positivos a la IgM anti VHA, con los que presentaron elevación enzimática, el primero parece ser el marcador más eficaz para detectar la infección por el virus, aunque como ya se explicó se debe tener en cuenta la duración del mismo en la sangre. Hay múltiples estudios que demuestran la utilidad de este marcador para el diagnóstico de la infección por el VHA, pues además de su especificidad, virtualmente todos los infectados son positivos a él en el momento de la presentación de sus síntomas (16).

Aún cuando en nuestro estudio se desconoce el valor de la ALT de algunos casos IgM positivos, por lo menos en más de la mitad de ellos el mismo fue normal, por lo que sin restarle el valor que sin duda tiene, creemos que la determinación de los valores enzimáticos no es el método de elección para el diagnóstico de los brotes, si se considera que el objetivo del sistema de salud, debe ser lograr la mayor "sensibilidad" en el diagnóstico de los mismos para tomar las medidas adecuadas e interrumpirlos. Creemos que ante un brote, cuya etiología sospechada sea el VHA, y sobre todo si este ocurre en niños, sería muy conveniente que se estudiara conjuntamente con el marcador enzimático, la presencia del anticuerpo IgM contra el virus, dándole a este último la mayor importancia para el diagnóstico propiamente dicho.

## Referencias

1. MINSAP. *Anuario Estadístico*. Cuba; 1998.
2. Desenclos JC, MacLafferty L. Community wide outbreak of hepatitis A linked to children in day care centres and with increased transmission in young adult men in Florida 1988-9. *J Epidemiol Community Health* 1993;47(4):269-273.
3. Liaw YF, Yang CY, Chu CM, Huang MJ. Appearance and persistence of hepatitis A IgM antibody in acute clinical hepatitis A observed in an outbreak. *Infection* 1986;14: 156-158.
4. Hepatitis Surveillance Report No. 55. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1994; 36.
5. Adler R, Shouval D. A finger printing assay for determination of immunity to hepatitis A. A preliminary report. *J Hepatol* 1993;18 (suppl):S27-S31.
6. Rodríguez L, Más P, Balmaseda A, Delgado G, Comellas M, Palomera R. Desarrollo y evaluación de un ELISA para la detección de anticuerpos de la clase IgM contra el virus de la hepatitis A. *Rev Cubana de Med Trop* 1994; 46(2):34-38.
7. Purcell RH, Hoofnagle JH, Ticehurst J, Gerin JL. Hepatitis viruses. En: Diagnostic Procedures for viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 7<sup>th</sup> ed. USA. *American Public Health*; 1995:957-1049.
8. Szmuness W, Dienstag JL, Purcell RH et al. The prevalence of antibodies to hepatitis A antigen in various parts of the world. *Am J Epidemiol* 1977;106:392-398.
9. Hollinger FB, Ticehurst J. Hepatitis A virus. In Fields BN and Knipe DM, eds. *Field's Virology*. 3<sup>rd</sup> edition Vol. 1. Lippincott: *Raven Publishers*, Philadelphia, 1996: 735-780.
10. Koff RS. Clinical manifestation and diagnosis of hepatitis A virus infection. *Vaccine* 1992; 10 (suppl 1):S15-17.
11. Duermeyer W. Application of ELISA for the diagnosis of hepatitis A. Thesis, Amsterdam, Rodopy, 1980:122-151.
12. Stapleton JT. Host immune response to hepatitis A virus. *J Infect Dis* 1995;171 (suppl 1):S9-14.
13. Balmaseda A, Más P, Ribas MA, Rodríguez L, Delgado G. Estudios de brotes de hepatitis A ocurridos en Ciudad de la Habana en el año 1991. *Rev Cubana Med Trop* 1994; 46(1):42-45.
14. Hirata R, Hoshino Y, Sakay H, Marumo F, Sato C. Patients with hepatitis A with negative Ig-M-HA antibody at early stages. *Am J Gastroenterol* 1995;90(7):1168-1169.
15. Roseblum LS, Villarino MI, Nainan OV et al.. Hepatitis A outbreak in neonatal intensive care unit: risk factors for transmission and evidence of prolonged viral excretion among preterm infants. *J Infect Dis* 1991;164:476-482.
16. Roggendorf M, Frossner GG, Deinhardt, et al. Comparison of solid phase test system for demonstrating antibodies against hepatitis A virus (anti HAV) of the class IgM. *J Med Virol* 1980;5:47-62.

## Clinical, virological and serologic study of an acute viral hepatitis outbreak in the City of Havana

### Abstract

A study of an acute viral hepatitis A outbreak that occurred in a day care center in the City of Havana during 1996 is described. With the purpose of comparing their usefulness for diagnosis: clinical behavior, the level of the ALT enzyme, detection of viral antigen in feces and the presence of anti HAV IgM were considered. The relationship between these indicators was established. The doctor of the institution provided the information on the clinical behavior and the ALT values of the individuals. The detection of viral antigen in feces and the anti HAV IgM in serum were performed by ELISA. An 87.5% of the infected individuals remained asymptomatic and in more than half of the cases serum ALT was considered within the normal range. Only 3 of 84 fecal samples were positive to the viral antigen. The detection of anti HAV IgM showed the highest percentage (12,4%) of positive samples when compared to the other indicators. This correlates with the known fact that this is the choice method to establish the diagnosis of hepatitis A outbreaks.

**Key words:** ALT, diagnosis, hepatitis A, IgM.