

Importancia del pesquiasaje de hepatitis virales en el diseño de estrategias de vacunación

Irina Valdivia¹, Rolando Ochoa², Janette Trujillo¹, Aurora Delahanty¹, Julio Ventura¹, Darién Ortega,¹ Ariel Palenzuela¹, Carlos Silva¹.

¹ Centro de Inmunoensayo. Ciudad de La Habana. Cuba. E-mail: iqtorch@cie.sld.cu.

² Instituto Finlay, Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ciudad de La Habana. Cuba. E-mail: ochoa@finlay.edu.cu.

Se analiza de forma longitudinal la incidencia de hepatitis virales, así como las tasas de portadores del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C, detectados en los programas de pesquiasaje basados en el Sistema Ultramicroanalítico (SUMA[®]). Se demuestra la disminución de la incidencia de hepatitis B a tan sólo 1,2 x 100000 habitantes en el año 2002, así como de las tasas de portadores del HBsAg, en correspondencia con la vacunación. La hepatitis C también ha disminuido, probablemente como consecuencia de medidas de control epidemiológico. La hepatitis A es diagnosticada con un ELISA desarrollado por el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", y se ha mantenido muy elevada en los últimos años, de forma sostenida sobre 100 x 100000 habitantes a partir de 1991, por lo que debe valorarse la introducción de la vacunación para su control.

Palabras clave: Sistema Ultramicroanalítico, SUMA[®], ELISA, hepatitis, vacunación.

Introducción

Las hepatitis virales son una importante causa de morbilidad; entre ellas se destaca la hepatitis A, que si bien no se caracteriza por evolucionar a la cronicidad o una elevada mortalidad, es una enfermedad transmisible común de los países menos desarrollados, con deficiencias higiénico-sanitarias que favorecen su vía de transmisión fecal-oral (1-4).

La hepatitis B y el sarampión constituyen las principales causas de muerte entre las enfermedades prevenibles por vacunas. La primera se distingue por su evolución a la cronicidad, produciendo cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular. Es también muy frecuente en países subdesarrollados y en el Extremo Oriente. Se transmite por vía parenteral, destacándose la infección por vía sexual, la producida por el uso de sangre no certificada o sus derivados y por conductas de riesgo como la drogadicción. En los países asiáticos resulta particularmente importante la transmisión perinatal (5-8).

El virus de la hepatitis C (VHC) se distingue por producir una infección que evoluciona también a la cronicidad. Los accidentes con material contaminado son importantes vías de transmisión, particularmente en las transfusiones y hemodiálisis. En muchos países del primer mundo constituye el principal agente etiológico de las hepatitis virales, en otros, sobre todo del tercer mundo, no se conoce aún su real prevalencia (8-10).

En Cuba existen medidas de control higiénico ambiental y acciones de control epidemiológico para minimizar el impacto de la infección por el virus de la hepatitis A (VHA). Su diagnóstico, vigilancia e investigación son regidos por el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

Se cuenta también con programas de pesquiasaje contra el virus de la hepatitis B (VHB) y el VHC, dirigidos a la certificación de la sangre y sus derivados. De la misma forma se han implantado programas para la vigilancia epidemiológica de grupos susceptibles con conductas de riesgo (11-15). La base analítica para estos programas es el Sistema

Ultramicroanalítico (SUMA[®]) que se caracteriza por emplear mínimos volúmenes de muestras y reactivos, lo que abarata los costos, también por el desarrollo de una tecnología propia que permite el procesamiento de un número variable de muestras, muy atractivo en programas de pesquiasaje, y porque sus ensayos presentan una excelente sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo, superiores al 99% (13).

Consideramos que el pesquiasaje de hepatitis virales puede ser particularmente útil, con respecto a la información que puede aportar para valorar la introducción de nuevas vacunas, así como evaluar el empleo acertado de las existentes.

Métodos

Se obtuvieron los registros disponibles de los portadores del antígeno de superficie del VHB (HBsAg) y anticuerpos contra los diferentes antígenos del VHC (anti-VHC) del programa de pesquiasaje en donantes de sangre (1989–2004), así como de los programas de vigilancia epidemiológica dirigidos a estudiar los donantes de sangre portadores de esos marcadores, embarazadas, los pacientes procedentes de la asistencia médica, así como otros grupos de riesgo (1992–2004). Se expresaron como tasa por cada 100 donantes o individuos estudiados en los grupos en riesgo. Estos programas han sido jerarquizados por el Centro de Inmunoensayo (CIE)/ TecnoSUMA (13, 14), basados en las siguientes técnicas ultramicroanalíticas (UMELISA):

1. UMELISA HBsAg: ensayo tipo “sandwich” doble anticuerpo, con anticuerpos policlonales de captura y conjugado anti-HBsAg ovino/fosfatasa alcalina.
2. UMELISA HBsAg Monoclonal: ensayo tipo “sandwich” doble anticuerpo, con anticuerpos monoclonales de captura y conjugado anti-HBsAg ovino/fosfatasa alcalina.
3. UMELISA HBsAg Plus: ensayo tipo “sandwich” modificado, con anticuerpos monoclonales de captura y doble conjugado; anti-HBsAg monoclonal/biotina y estreptavidina/fosfatasa alcalina.

4. HBsAg Confirmatory Test: Reactivos para la confirmación, mediante inhibición, de la presencia del HBsAg en la muestra.

5. UMELISA HCV: ensayo indirecto con péptidos del VHC obtenidos por síntesis química, y proteínas recombinantes, utilizados como antígenos de captura de anticuerpos anti-VHC, que se evidencian por el conjugado anti-IgG humana en ovino/fosfatasa alcalina.

El diagnóstico de laboratorio de la hepatitis A se apoya en la detección de anticuerpos de la clase IgM contra el virus, mediante un ensayo inmunoenzimático de alta sensibilidad y especificidad desarrollado en el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (15).

Se recogieron además de las Estadísticas Nacionales de Salud del MINSAP las tasas de incidencia por 100 000 habitantes de los casos reportados de hepatitis virales durante los años 1990–2002 (16).

Se analizó el impacto de la introducción de la vacuna cubana de antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B (Heberbiovac HB[®]), producida en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), valorando la modificación de las tasas de incidencia de hepatitis B y el comportamiento de otros tipos de hepatitis virales (12, 16).

Se discute la posible utilidad de los datos cronológicos obtenidos para definir estrategias de vacunación.

Resultados y Discusión

La vacunación es la acción de salud con mejor balance costo–beneficio, y tiene un impacto positivo espectacular en la reducción de la morbilidad y mortalidad de las enfermedades infecciosas susceptibles de prevenir por este procedimiento, sobre todo en los primeros años de vida (3, 12, 17).

La decisión de incluir determinadas vacunas en los programas de inmunización depende, de una u otra forma, de las características inmunes de la población, propiedades del agente infeccioso, su circulación, las probabilidades de diseminación, así como la existencia de medidas de control apropiadas (17). Se requiere, por tanto, de una adecuada vigilancia epidemiológica, para lo cual es

imprescindible evaluar acertadamente el impacto de una enfermedad dada, de ahí que sea necesario establecer el diagnóstico etiológico, por métodos directos, mediante la visualización, el aislamiento e identificación del agente, o mediante la detección de sus antígenos, como es el caso del HBsAg. Para el diagnóstico, también pueden emplearse métodos indirectos, en los cuales se valora la respuesta frente al microorganismo causal, como sucede con la detección de anticuerpos anti-VHC (13, 14, 17).

El pesquiasaje de HBsAg en donantes de sangre (Tabla 1) comenzó con el UMELISA HBsAg, que en 1992 fue sustituido por el UMELISA HBsAg Monoclonal, ensayo de mayor sensibilidad; a su vez este pesquiasaje se perfeccionó con la introducción del UMELISA HBsAg plus a finales del año 2000 (13, 14). Es de destacar que a partir de 1994 todos los resultados reactivos son certificados por la prueba confirmatoria (18). A partir de 1996 se observó un descenso progresivo de las tasas (<1%), relacionado con la vacunación contra la hepatitis B que se inició en 1992 (12).

Estos ensayos se emplearon además en la red de laboratorios dedicada a la vigilancia epidemiológica y dirigida a grupos en

situaciones o conductas de riesgo (Tabla 2). Aunque es obvio que en este caso las tasas están sesgadas, ya que en los resultados se incluyen los portadores detectados en el pesquiasaje en donantes de sangre, sin embargo, llama también la atención la disminución de los casos reactivos al HBsAg.

Las tasas de anticuerpos anti-VHC en donantes de sangre, presentan un comportamiento similar (Tabla 1). Su pesquiasaje comenzó en 1992 con el UMELISA HCV, inicialmente diseñado para detectar anticuerpos contra la región estructural de este virus, el que fue mejorado paulatinamente a partir del año 1998 con la inclusión de antígenos de captura de regiones no estructurales (13, 14), alcanzando así una mayor sensibilidad y especificidad (13). A pesar del aumento de la sensibilidad del ensayo, llama la atención de que no se haya traducido en un aumento de las tasas. Esto pudiera deberse a la inmunodominancia del componente nuclear del virus, o adecuadas medidas de control epidemiológico. Sin embargo, no se observó una disminución de las tasas en la vigilancia epidemiológica (Tabla 2), probablemente a expensas del control de casos en riesgo.

Tabla 1. Pesquiasaje de hepatitis en donantes de sangre. Cuba, 1989–2002

Años	HBsAg		Anti-VHC	
	Número	Reactivas (%)	Número	Reactivas (%)
1989	31405	1,47		
1990	292880	1,33		
1991	305082	1,77		
1992	462721	2,08	11370	1,64
1993	458104	1,72	70717	1,14
1994	520293	1,58	91461	1,30
1995	551974	1,39	396083	1,12
1996	631067	0,97	607630	1,10
1997	611693	0,86	605431	0,89
1998	580632	0,89	579109	0,82
1999	605784	0,81	609478	0,84
2000	582299	0,79	578989	0,74
2001	552046	0,68	550 488	0,86
2002	574273	0,61	571015	0,68
2003	590457	0,64	587732	0,53
2004	505369	0,55	505883	0,63

Fuente: TecnoSuma. Programas Nacionales.

Tabla 2. Vigilancia seroepidemiológica para hepatitis B y C. Cuba, 1992–2002

Años	HBsAg		Anti-VHC	
	Número	Reactivas (%)	Número	Reactivas (%)
1992	12430	8,79		
1993	65512	7,28		
1994	452079	5,55		
1995	228770	4,19	4167	7,49
1996	324207	4,27	23337	6,60
1997	392429	3,94	39166	6,11
1998	390972	4,55	35632	6,34
1999	472699	3,72	73992	6,12
2000	489080	3,71	94292	5,80
2001	485148	3,48	96702	6,66
2002	467605	3,43	107227	7,57
2003	405211	3,55	112461	7,26
2004	465869	2,89	101621	7,80

Fuente: TecnoSuma. Programas Nacionales.

La hepatitis B constituye, indudablemente, un problema de salud, lo que llevó al desarrollo e introducción en 1992 de la vacuna cubana de antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B (Heberbiovac HB[®]), la primera obtenida en nuestro país con técnicas de biología molecular (12), siendo decisivo el UMELISA anti-HBsAg para evaluar su inmunogenicidad (12, 13, 19). El aumento progresivo de la cobertura de inmunización, junto con otras medidas de control, tales

como la adecuada certificación de la sangre y sus derivados, ha permitido disminuir apreciablemente la incidencia de esta enfermedad. Esta tendencia se evidencia claramente al evaluar el reporte de las hepatitis virales en la población cubana, a la Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas, a pesar de que no se hayan recogido los datos correspondientes a los años 2003 y 2004 (Tabla 3) (12, 16).

Tabla 3. Tasas de incidencia x 100000 habitantes de hepatitis viral según tipo. Cuba, 1990–2002

Años	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Sin especificar
1990	55,0	16,7	0,7	52,2
1991	185,7	19,1	0,5	119,3
1992	195,8	20,3	0,3	79,2
1993	111,2	17,5	0,1	20,6
1994	133,8	15,9	0,2	13,6
1995	137,9	13,3	0,5	9,5
1996	189,0	15,4	1,4	11,1
1997	203,8	12,2	1,5	6,0
1998	139,9	9,2	0,8	3,8
1999	152,6	6,5	0,5	3,1
2000	155,0	4,0	0,5	4,3
2001	125,3	2,2	0,2	4,6
2002	119,8	1,2	0,2	4,5

Fuente: Ministerio de Salud Pública de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2002.

La estrategia de vacunación cubana contra la hepatitis B se basó en la inmunización rutinaria de todos los recién nacidos a partir de la fecha de introducción de la vacuna. En 1995 ya se había alcanzado una cobertura superior a 99%. También se caracterizó por estar dirigida a grupos susceptibles con diversas conductas de riesgo y por el propósito de vacunar a toda la población menor de 20 años de edad para el año 2000, comenzando en 1994 con las cohortes de 8 y 14 años (12). El cumplimiento de esta estrategia está en consonancia con el comportamiento evolutivo del estado de portador de HBsAg y los casos de hepatitis virales (Tablas 1, 2, 3).

La aparente disminución de casos con hepatitis C, concuerda con lo encontrado en el pesquiasaje en donantes de sangre, y pudiera estar relacionado con mejores medidas de control de las vías de transmisión, a pesar de ello se trabaja intensamente en el desarrollo de una vacuna para su prevención.

Podemos afirmar del análisis de estos resultados, que el SUMA[®] ha sido útil no sólo para definir la magnitud de la exposición al VHB y al VHC, sino, en el primer caso, como control de la estrategia de vacunación empleada.

Las elevadas tasas de incidencia de hepatitis A están acordes con nuestra ubicación geográfica y desarrollo económico (1-4), por lo que debe valorarse en un futuro, junto con las medidas pertinentes de control ambiental, la introducción de una vacuna para su prevención, proceder que ha demostrado su eficacia en la reducción de los casos de hepatitis A, incluso en más del 90% con respecto a las tasas prevacunales (3).

Por otra parte resulta interesante observar el avance en la clasificación etiológica, con la introducción y generalización del empleo de nuevos medios diagnósticos, lo que ha llevado a la disminución de las hepatitis "sin especificar" (Tabla 3).

El análisis de las hepatitis virales realizado, ejemplifica la importancia de contar con una adecuada red de pesquiasaje, ya que permite evidenciar, en primer lugar, la importancia de una entidad dada como problema de salud, así

como el análisis del comportamiento evolutivo de las tasas de incidencia bajo el impacto de medidas de control y de la inmunidad poblacional, todo lo cual es necesario para definir la introducción de nuevas vacunas o decidir la modificación de esquemas vigentes.

Referencias

1. De Silva KS, Weerasuriya DC, Peelowattage M, Fernando S. Seroprevalence of hepatitis A antibodies in relation to social factors-- a preliminary study. *Ceylon Med J.* 2005;50(2):54-8.
2. Zago-Gomes MP, Stantolin GC, Perazzio S, Aikawa KH, Goncalves CS, Pereira FE. Prevalence of anti-hepatitis A antibodies in children of different socioeconomic conditions in Vila Velha, ES. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(4):285-9.
3. Wasley A, Samandari T, Bell BP. Incidence of hepatitis A in the United States in the era of vaccination. *JAMA.* 2005;294(2): 194-201.
4. Del Puerto M, Concepción M, Iglesias AM. Calidad del agua y enfermedades de transmisión digestiva. *Rev Cubana Med Gen Integ* 1999;15(5):495-502.
5. Motta-Castro AR, Martins RM, Yoshida CF, Teles SA, Paniago AM, Lima KM, Gomes SA. Hepatitis B virus infection in isolated Afro-Brazilian communities. *J Med Virol.* 2005;77(2):188-93.
6. Peres AA, Dias EA, Chesky M, Alvares da Silva MR, Jobim LF, Goncalves LF, Manfro RC. Occult hepatitis B in renal transplant patients. *Transpl Infect Dis.* 2005;7(2):51-6.
7. Shepard CW, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Epidemiology of hepatitis B and hepatitis B virus infection in United States children. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(9):755-60
8. Moreno R, Berenguer M. Liver transplantation in-patients with chronic viral hepatitis. *Rev Gastroenterol Mex.* 2005;70(2):180-91.
9. Shin HR. Epidemiology of hepatitis C virus in Korea. *Intervirol.* 2005;49(1-2):18-22.
10. Goedert JJ. Second Multicenter Haemophilia Cohort Study. Prevalence of conditions associated with human immunodeficiency and hepatitis virus infections among persons with haemophilia, 2001-2003. *Haemophilia.* 2005;11(5):516-28.

11. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Dirección Nacional de Estadísticas. Temas de Estadística de Salud. Ciudad de La Habana; 2002.
12. Delgado G, Galindo MA, Rodríguez L, Díaz M. Vaccination strategies against hepatitis B and their results: Cuba and the United States, 2003. *Medicc Review* 2004;6(1): URL://www.medicc.org/medicc_review/1004.
13. TecnoSuma. Productos. URL://www.tecnosuma.com/productos.
14. TecnoSuma. Control de enfermedades infecciosas. URL://www.tecnosuma.com/programas_nacionales.
15. Rodríguez L, Mas P, Balmaseda A, Delgado G, Cornellias 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 Med Trop* 1994;46(1):34-8.
16. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2002. Ciudad de La Habana: MINSAP; 2002.
17. Ochoa R. Inmunoepidemiología y Estrategias de Vacunación. Ciudad de La Habana: Finlay Ediciones; 2005.
18. Valdivia I, Ochoa R, Santos J, Ventura J, Martínez L, Trujillo J, et al. Normalización de un ensayo para la confirmación de muestras positivas al HBsAg. *Bioteología Habana'94. Avances en Biotecnología Moderna*; 1994 Nov 28-3 Dic; La Habana. Cuba 1994:111.
19. Rodríguez L, Balmaseda A, Bravo J, Trujillo J, Martínez L, Ochoa R, et al. Validación de un ultramicroELISA de detección de anticuerpos contra el antígeno de superficie de la hepatitis B. *Rev. Cubana Med Trop* 1996;48(1):45-9.

Importance of the investigations of viral hepatitis for designing vaccination strategies

Abstract

The incidence of viral hepatitis was longitudinally evaluated, together with the carrier rates both hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies against hepatitis C virus (HCV), that are detected in the ultra-micro analytic system (SUMA®) screening. The incidence rate of hepatitis B was only 1, 2 x 100000 inhabitants in 2002, and a lower incidence rate of HBsAg carriers was also detected that year in correspondence with vaccination. Hepatitis C has also declined, probably because of the epidemiological control. Hepatitis A is diagnosed by an ELISA developed in "Pedro Kourí" Tropical Medicine Institute. This disease remains very high, over 100 x 100000 inhabitants after 1991, for that reason a proper vaccination must be considered for its control.

Keywords: Ultra-micro analytical system, SUMA®, ELISA, hepatitis, vaccination.