

### 33. Virología molecular

#### **Inesperada alta frecuencia de infección por el virus de la hepatitis E en pacientes cirróticos alcohólicos de Argentina**

Fantilli, Anabella <sup>1</sup>; Pisano María Belén<sup>1,2</sup>; Zárate Fabián <sup>3</sup>; Trinks Julieta <sup>2,4</sup>; Marciano Sebastián <sup>5</sup>; Balderramo Domingo <sup>6</sup>; Fernando Diehl<sup>6</sup>; Martínez Wassaf Maribel <sup>7</sup>; Haddad Leila<sup>8</sup>; Gadano Adrián <sup>5,8</sup>; Debes José <sup>9</sup>; Ré Viviana; <sup>1,2</sup>

[anellafantilli@gmail.com](mailto:anellafantilli@gmail.com); [mbelenpisano@gmail.com](mailto:mbelenpisano@gmail.com); [fabianezarate@gmail.com](mailto:fabianezarate@gmail.com);

[julieta.trinks@hospitalitaliano.org.ar](mailto:julieta.trinks@hospitalitaliano.org.ar); [sebastian.marciano@hospitalitaliano.org.ar](mailto:sebastian.marciano@hospitalitaliano.org.ar);

[fernandoadiehl@gmail.com](mailto:fernandoadiehl@gmail.com); [maribel.martinez@laboratoriolace.com.ar](mailto:maribel.martinez@laboratoriolace.com.ar);

[dcbalderramo@yahoo.com](mailto:dcbalderramo@yahoo.com); [leila.haddad@hospitalitaliano.org.ar](mailto:leila.haddad@hospitalitaliano.org.ar);

[adrian.gadano@hospitalitaliano.org.ar](mailto:adrian.gadano@hospitalitaliano.org.ar); [debes003@umn.edu](mailto:debes003@umn.edu); [viviaranre@fcm.unc.edu.ar](mailto:viviaranre@fcm.unc.edu.ar)

<sup>1</sup>Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina; <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup> Hospital Córdoba, <sup>4</sup>Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental (ICBME), Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>5</sup>Sección de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>6</sup> Hospital Privado, Córdoba, <sup>7</sup> LACE Laboratorios, Córdoba, <sup>8</sup>Departamento de Investigación, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; <sup>9</sup>Departamento de Medicina, Universidad de Minnesota, Minneapolis, EEUU.

#### **Resumen**

El virus de la Hepatitis E (HEV) es un virus ARN de simple cadena de transmisión entérica y zoonótico, frecuentemente asociado a hepatitis agudas autolimitadas. Recientemente, se describió la progresión a cronicidad en pacientes inmunosuprimidos y la cirrosis ha sido postulada como un factor predisponente a la infección por HEV.

En Argentina, se ha reportado la circulación de HEV genotipo 3 en cerdos y matrices acuosas y una seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV entre 1,8 y 16% en población general y donantes de sangre. Además, se reportaron seroprevalencias mayores (6 – 35%) en pacientes hemodializados, trasplantados de órganos sólidos y en individuos HIV+, siendo escasas las evidencias de HEV en pacientes cirróticos.

El objetivo del trabajo fue describir la frecuencia de infección de HEV y factores asociados en pacientes cirróticos de Argentina.

El diagnóstico de HEV se realizó detectando IgM e IgG anti-HEV por ELISA y ARN por PCR en tiempo final, en muestras de suero obtenidas de 3 centros de salud de Córdoba y Buenos Aires (n=122).

La prevalencia global de IgG anti-HEV en pacientes cirróticos fue de 22,1% (27/122). El 70,4% de los IgG anti-HEV positivos fueron individuos alcohólicos, existiendo asociación estadísticamente significativa entre cirrosis alcohólica e infección por HEV ( $p < 0,05$ ). Se detectó IgM en el 51,8% (14/27) de los pacientes IgG anti-HEV (+) y ARN HEV en 2 de ellos. Los resultados muestran una inesperada alta prevalencia de HEV en este grupo de pacientes adultos cirróticos alcohólicos argentinos. Se necesitan más estudios para dilucidar si la cirrosis alcohólica sería un factor predisponente para la infección por HEV, o si la infección (crónica) por HEV induciría la progresión a cirrosis.

**Palabras clave:** HEPATITIS E, SEROPREVALENCIA, CIRROSIS.

### Introducción

El virus de la Hepatitis E (HEV) es un virus de transmisión entérica, zoonótico y causante de hepatitis agudas. Es un virus con genoma ARN de simple cadena, endémico en varios países en desarrollo, y emergente en países industrializados. Actualmente, hay cinco genotipos reconocidos que infectan a humanos [Khuroo et al., 2016].

En Argentina, se ha reportado la circulación de HEV genotipo 3 en cerdos y matrices acuosas y una seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV que varía entre 1,8 y 16% en población general y donantes de sangre. Además, se reportaron seroprevalencias mayores (6 – 35%) en pacientes hemodializados, trasplantados de órganos sólidos y en individuos HIV+ [Pisano et al., 2018].

En individuos inmunocompetentes, la infección con HEV usualmente transcurre con una seroconversión silente o enfermedad aguda autolimitada.

Particularmente, aquellos receptores de trasplantes de órganos sólidos pueden desarrollar tanto infección crónica por HEV, como infección aguda o reactivación viral [Abravanel et al., 2014, Haagsma et al., 2009]. Un estudio previo, realizado en Córdoba, demostró que la inmunosupresión severa en los individuos HIV+ está asociada a mayor prevalencia de HEV comparado con el grupo control, siendo mayor en pacientes no tratados con antiretrovirales y bajo recuento de células linfocitos T CD4 (+) [Debes et al., 2016]. La frecuencia de HEV en pacientes con hepatopatías crónicas ha sido reportada en varias regiones del mundo y la cirrosis ha sido postulada como un

factor predisponente a la infección por este virus. Se ha reportado altas prevalencias de HEV en pacientes previamente infectados con hepatitis B, C o con hepatitis autoinmunes (Hoan et al., 2015, Pischke et al., 2014). Sin embargo, en Argentina se desconoce dicha información.

En este contexto, sobre los resultados obtenidos a lo largo de los años, y siendo escasas las evidencias de HEV en ciertas poblaciones de pacientes susceptibles a desarrollar infecciones crónicas, el presente estudio pretende ampliar y profundizar el conocimiento del escenario de circulación de HEV y sus factores asociados, en grupos de pacientes con cirrosis.

## Objetivos

Objetivo general: describir la frecuencia de infección de HEV y factores asociados en pacientes cirróticos de Argentina.

## Materiales y Métodos

### Población de estudio

Se obtuvieron muestras de suero de pacientes cirróticos (n=122) de tres centros de salud: Hospital Córdoba (n=16), el Hospital Privado de Córdoba (n=65) y del Hospital Italiano de Buenos Aires (n=41).

### Diagnóstico de HEV

Se realizó el diagnóstico de HEV mediante técnicas serológicas (IgM e IgG anti-HEV por ELISA) y técnicas moleculares

(detección de ARN cualitativo). El criterio de clasificación según el diagnóstico fue:

- Sujetos seropositivos (IgG +): permite conocer la prevalencia de HEV en los individuos.
- Infección reciente subclínica (IgM + y/o ARN+/- sin signos ni síntomas clínicos).
- Hepatitis viral aguda: IgM+ y/o ARN+ con presentación de enfermedad autolimitada aguda con elevación de transaminasas.

### Detección de IgG e IgM anti- HEV por ELISA

Se realizó mediante un equipo comercial (EIA Diapro, Milan, Italy) de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

### Detección cualitativa de ARN HEV

Se procedió a detectar ARN HEV en todas las muestras de suero IgG (+).

La extracción de ARN fue realizada mediante el kit comercial QIAamp® Viral RNA Kit (Qiagen GmbH, Germany). Previa transcripción reversa, la amplificación genómica de un fragmento de la región ORF-2 (348 pb) de HEV fue realizada siguiendo protocolo de Huang, et al. (2002).

### Análisis Estadísticos

Los análisis estadísticos fueron desarrollados usando el paquete estadístico EZR (R version 2.13.0). Para determinar las asociaciones entre las variables epidemiológico / clínicas (edad, sexo, niveles de transaminasas y categoría de cirrosis) y la detección de anti-HEV se usaron los tests

independiente t o chi-cuadrado. Valores de  $p < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

### Aspectos éticos

El estudio cuenta con la aprobación del comité de ética CIEIS HP- REPIS 4-231/14 (Renovación 2016), Ministerio Salud Provincia de Córdoba y CIE Hospital Italiano de Bs As E127 /marzo 2017.

### **Resultados y Discusión**

Se evaluaron un total de 122 pacientes con cirrosis (hombres  $n=75$ , mujeres  $n=47$ ; edad media de 54.8; cirrosis viral= 23, cirrosis alcohólica= 42, cirrosis biliar primaria  $n=9$ , NASH= 20 y cirrosis debido a otras causas= 28). La prevalencia global de IgG anti-HEV en pacientes cirróticos fue de 22,1% (27/122), con una relación hombres-mujeres de 2,4/1. En la Tabla 1 se resumen las principales características demográficas, clínicas y serológicas. Se observó que el 70,4% de los pacientes IgG anti-HEV (+) correspondieron a individuos alcohólicos, existiendo asociación estadísticamente significativa entre cirrosis alcohólica e infección por HEV ( $p < 0,05$ ). No se observó asociación estadística entre la presencia de HEV con la edad, género y cualquiera de las otras categorías de cirrosis analizadas (viral, NASH, biliar primaria, autoinmune, criptogénica, idiopática).

Se detectó IgM en el 51,8% (14/27) de los pacientes IgG anti-HEV (+) y ARN HEV en 7,4% (2/27) de ellos.

Si bien varios estudios han reportado una asociación entre la infección con HEV y hepatopatías crónicas en pacientes infectados con hepatitis B o C, escasos estudios reportan la asociación de HEV y la cirrosis. Así, Jardi, et al., (2012) reportaron en pacientes españoles HIV (+) que la cirrosis hepática fue el único factor asociado a la presencia de anti-HEV, documentando 23% de prevalencia en este grupo poblacional, dato similar al hallado en nuestro estudio (22%).

Según los autores, una explicación de este hallazgo, puede ser encontrada en la disfunción inmune hallada en estos pacientes con cirrosis, quienes presentan una disminución de la actividad del sistema inmune innato con reducción de la actividad de células Natural Killer (Wang-Long, et al., 1991).

En nuestro estudio, se halló ARN HEV en dos pacientes, ninguno de los cuales presentaron clínica sugestiva de hepatitis aguda. El genotipo 3, principal genotipo asociado a infección crónica por HEV, es también el único genotipo hallado en múltiples fuentes de infección en nuestro medio (Pisano. et al., 2018), sugiriendo el potencial riesgo de infección crónica en estos pacientes. Sin embargo, debido a la naturaleza descriptiva y transversal de nuestro estudio, nuestros datos no excluyen la posibilidad de infección

reciente transitoria, y limitan la interpretación de nuestros hallazgos en términos de la naturaleza de la infección crónica de HEV y su papel en la patogénesis de la cirrosis hepática.

### Conclusiones

Los resultados muestran una inesperada alta prevalencia de HEV en pacientes adultos cirróticos alcohólicos de Argentina. Se necesitan más estudios para dilucidar si la cirrosis alcohólica sería un factor predisponente para la infección por HEV, o si la infección (crónica) por HEV induciría la progresión a cirrosis.

### Bibliografía

-Abravanel F., Lhomme S., Chapuy-Regaud S., Mansuy J.M., Muscari F., Sallusto F, *et al.* (2014). Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve into chronic infections. *J Infect Dis* 209,1900-06.

-Chuang W.L., Liu H.W., Chang W.Y., Chen S.C., Hsieh M.Y., Wang L.Y. (1991). Natural killer cell activity in patients with liver cirrhosis relative to severity of liver damage. *Dig Dis Sci*, 36, 299–302.

-Debes J., Pisano M.B., Lotto M., Ré V. (2016). Hepatitis E virus infection in the HIV-positive patient. *J Clin Virol* 80,102–6.

-Khuroo M.S., Khuroo M.S., Khuroo N.S. (2016). Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure. *World J Gastroenterol* 21; 22(31), 7030-45.

-Haagsma E.B., Niesters H.G., van den Berg A.P., Riezebos-Brilman A., Porte R.J., Vennema H., *et al.* (2009). Prevalence of hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 15,1225-28.

-Hoan N.X., Tong H.V., Hecht N., Sy B.T., Marcinek P., Meyer C.G., *et al.* (2015). Hepatitis E Virus Superinfection and Clinical Progression in Hepatitis B Patients. *EBioMedicine* 2(12), 2080-86.

- Huang F.F, Haqshenas G., Guenette D.K., Halbur P.G., Schommer S.K., Pierson F.W., *et al.* (2002). Detection by Reverse Transcription-PCR and Genetic Characterization of Field Isolates of Swine Hepatitis E Virus from Pigs in Different Geographic Regions of the United States. *J Clin Microbiol* 40, 1326-32.

- Jardi R, Crespo M, Homs M, van den Eynde E., Girones R., Rodriguez-Manzano J. *et al.* (2012). HIV, HEV and cirrhosis: evidence of a possible link from eastern Spain. *HIV Med.*13(6), 379-83.

- Pisano M.B., Martinez-Wassaf M.G., Mirazo S., Fantilli A., *et al.* (2018). Hepatitis E virus in South America: The current scenario. *Liver Int*, doi: 10.1111/liv.13881.

- Pischke S., Gisa A., Suneetha P.V., Wiegand S.B., Taubert R., Schlue J., *et al.* (2014). Increased HEV seroprevalence in patients with autoimmune hepatitis. *PLoS One* 21;9(1):e85330.

## Agradecimientos

Consejo Interuniversitario Nacional por el otorgamiento a la estudiante Anabella Fantilli de la BECA CIN - Estímulo a las Vocaciones Científicas- Res.389,2018.

## Financiamiento

Este estudio fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción de Ciencia y Técnica de Argentina (ANPCyT, Foncyt) (PICT 2016-0143, de VR).

Tabla 1. Comparación de las características de los pacientes cirróticos analizados según el resultado serológico de anticuerpos anti- HEV

	Total	Anti-HEV IgG + (n=27)	Anti-HEV IgG – (n=95)
Edad (media [rango]) <sup>1</sup>	54,8 [22-87]	55,1 [38-87]	54,2 [22-85]
Género (% masculino)	61,5%	66,7%	60%
AST (IU/L) (media [rango]) <sup>2</sup>	51,2 [7-267]	51 [15-267]	51,6 [7-180]
ALT (IU/L) (media [rango]) <sup>2</sup>	47,1 [7-439]	46,2 [11-111]	47,2 [7-439]

Bilirrubina total (mg/dL) <sup>2</sup> (media [rango])	1,8 [0,4-15,3]	1,8 [0,4-5,9]	1,8 [0,4-15,3]
Pacientes con cirrosis	122	22,1% (27)	77,9% (95)
Causa de cirrosis			
- Cirrosis Viral			
Si	18,8% (23)	13,0% (3)	86,9% (20)
No	81,1% (99)	24,2% (24)	75,6% (75)
- Cirrosis Alcohólica**			
Si	32,8% (42)	47,5% (19)	52,5% (23)
No	67,2% (80)	9,7% (8)	90,2% (72)
- Cirrosis Biliar Primaria			
Si	4,9% (9)	33,3% (2)	66,7% (7)
No	95,1% (113)	21,5% (25)	78,5% (88)
- NASH			
Si	1,6% (20)	10% (2)	90% (18)
No	83,6% (102)	24,5% (25)	75,5% (77)
- Otras causas <sup>3</sup>			
Si	22,1% (28)	3,7% (1)	96,3% (27)
No	77,9% (94)	27,4% (26)	72,6% (68)

\*\* P valor<0.05

AST: Aspartato aminotransferasa; ALT: Alanina aminotransferasa; NASH: Esteato hepatitis no alcohólica

<sup>1</sup>Datos disponibles: 57

<sup>2</sup>Datos disponibles: 41

<sup>3</sup>Cirrosis autoimmune, criptogénica, idiopática, biliar secundaria.

