

Detección de anticuerpos anti virus hepatitis E IgG e IgM utilizando un método automatizado: experiencia de un hospital universitario

Detection of anti-virus hepatitis e IgG and IgM antibodies using an automated method: experience of a university hospital

Natalia Covarrubias¹, Constanza Bohle², Christian Lara¹, Julio Miranda¹, Carmen Hurtado¹ y Mauricio Venegas¹

¹Sección de Gastroenterología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Clínico Universidad de Chile. Santiago, Chile.

²Programa de Formación de especialista en Laboratorio Clínico, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Financiamiento: sin financiamiento externo.

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Recibido: 10 de junio de 2021 / Aceptado: 22 de septiembre de 2021

Resumen

La determinación de anticuerpos anti virus hepatitis E (anti-VHE) tiene gran variabilidad dependiendo del ensayo utilizado. En 2015, con un método ELISA manual, publicamos una seroprevalencia de anti-VHE IgG de 32,6% en pacientes con estudio de hepatitis. Existen escasas publicaciones de anti-VHE IgM. Recientemente, se desarrolló el primer método automatizado y en el presente estudio comunicamos la experiencia obtenida. Se analizaron los resultados de 272 pacientes con estudio de anti-VHE IgG y/o IgM mediante técnica automatizada ELFA (VIDAS®), entre mayo de 2018 y agosto de 2020. Se encontró 25,8% (68/264) de positividad para anti-VHE IgG y 3,5% (9/259) para anti-VHE IgM. Cuatro muestras tuvieron ambos anticuerpos positivos. La seropositividad de anti-VHE IgG aumentó con la edad. En conclusión, la seroprevalencia de anti-VHE IgG obtenida fue similar a la publicada previamente. Considerando las ventajas de los ensayos IgM e IgG anti-VHE en el sistema VIDAS®, parecen ser nuevas herramientas valiosas en el estudio serológico de VHE.

Palabras clave: virus hepatitis E; anticuerpos; inmunoensayo.

Abstract

The determination of anti-hepatitis E virus antibodies (anti-HEV) has a high variability depending on the assay used. In 2015, with a manual ELISA method, we reported anti-HEV IgG seroprevalence of 32.6% in patients under hepatitis study. There are few reports of anti-HEV IgM. Recently, it was developed the first automated method and in the present study, we report the experience using this new method. Between May 2018 and August 2020, the results of 272 patients with an anti-HEV IgG and/or IgM study were analyzed using the automated ELFA technique (VIDAS®). Seroprevalence was 25.8% (68/264) for anti-HEV IgG and 3.5% (9/259) for anti-HEV IgM. Four samples were positive for both antibodies. Anti-HEV IgG seropositivity increased with age. In conclusion, the seroprevalence of anti-HEV IgG obtained was similar to previously reported. Taking into account the advantages of these assays, anti-HEV IgM and IgG assays on VIDAS® system, seem to be valuable new tools in serological study of HEV.

Keywords: hepatitis E virus; antibodies; immunoassay.

Correspondencia a:

Natalia Covarrubias R.
ncovarrubias@hcuch.cl

Introducción

El virus de la hepatitis E (VHE) es una de las causas más frecuentes de hepatitis aguda en el mundo¹. La mayoría de los casos se expresan como una infección autolimitada que no requiere tratamiento específico². Sin embargo, tiene una alta mortalidad (20-30%) por falla hepática fulminante en determinados grupos de riesgo. Actualmente, se recomienda que el VHE sea incluido dentro del diagnóstico diferencial inicial de hepatitis aguda³.

Se estima que existen aproximadamente 20 millones de casos anuales en el mundo. Su prevalencia es variable dependiendo de las zonas geográficas y sus condiciones sanitarias, describiéndose seroprevalencias bajas (0-10%) en países de Europa. Por el contrario, zonas endémicas como China e India tienen seroprevalencias mayores a 40%, siendo el VHE la causa más importante de hepatitis aguda en este último país¹. En Chile, hay escasos datos de prevalencia. Recientemente, encontramos una seroprevalencia de 30,1% en donantes de sangre⁴.

En el año 2015, demostramos un aumento de la seroprevalencia de 7,3 a 32,6%, en muestras de pacientes con hepatitis de etiología no precisada, incremento explicado únicamente por la utilización de un ensayo con mejor rendimiento analítico⁵. Con respecto a estudios de IgM anti-VHE en Chile, desde el año 2005 que no se registran publicaciones, los cuales fueron realizados utilizando los ensayos de “primera generación”, que han sido cuestionados por su baja sensibilidad⁶.

La determinación de anticuerpos anti-VHE ha sido controversial en las últimas décadas, ya que no existe una estandarización y los resultados obtenidos con diferentes ensayos son divergentes^{7,8}. Actualmente se encuentran disponibles varias pruebas diagnósticas serológicas de VHE comerciales, pero sus sensibilidades y especificidades varían ampliamente (72-98% y 78-96%; respectivamente)^{9,10}. La mayoría de los estudios que evalúan el rendimiento de los ensayos serológicos para VHE, comparan técnicas ELISA que requieren personal entrenado, tiempo y equipamiento adecuado⁸.

Recientemente, se desarrolló el primer método automatizado para la detección de anticuerpos anti-VHE, con técnica ELFA (*enzyme-linked fluorescent assay*), que se correlaciona con ELISA Wantai, metodología frecuentemente utilizada por su buen rendimiento¹¹. Sin embargo, en Latinoamérica no existen estudios utilizando esta técnica. El objetivo de esta investigación es comunicar los resultados de la medición de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE obtenidos con esta nueva plataforma automatizada.

Materiales y Método

Estudio descriptivo, observacional y transversal. Se incluyeron los resultados de las determinaciones de anticuerpos IgG y/o IgM anti-VHE realizadas en el Laboratorio de Gastroenterología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, entre mayo de 2018 y agosto de 2020, solicitadas en el contexto de estudio etiológico de hepatitis. Durante ese período, la totalidad de las determinaciones fueron efectuadas con técnica ELFA, mini VIDAS® anti-HEV IgM e IgG (BioMérieux SA, Francia). Duración de ambos test: 40 min. Para IgG anti-VHE se consideraron positivas las muestras con concentraciones $\geq 0,56$ U/ml, mientras que para IgM anti-VHE se consideraron positivas las muestras con índice ≥ 1 , según instrucciones del fabricante.

Los datos demográficos disponibles fueron edad y sexo. Se realizó estadística descriptiva utilizando frecuencia y porcentaje en variables categóricas y promedio, y desviación estándar en variables continuas. La asociación entre las variables de estudio y la positividad de IgG e IgM anti-VHE se estimó mediante el test de chi cuadrado considerando un valor $p < 0,05$ como estadísticamente significativo. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética local.

Resultados

Durante el período estudiado se recibieron muestras de 272 pacientes, de las cuales 251 tenían solicitud para IgG e IgM anti-VHE, 13 sólo para IgG anti-VHE y 8 sólo para IgM anti-VHE. Del total, 143 (52,6%) correspondieron a mujeres, edad promedio 44 años ($\pm 17,9$ años), con un rango entre 1 y 83 años. Se observó 25,8% (68/264) de positividad para IgG anti-VHE y 3,5% (9/259) para IgM anti-VHE. La seropositividad de IgG anti-VHE aumentó significativamente con la edad ($p < 0,01$), sin diferencias por sexo (Tabla 1).

Del total de muestras con anticuerpos IgG anti-VHE positivos ($n = 68$), en 64 de ellas se determinó IgM anti-VHE, resultando cuatro muestras positivas para ambos anticuerpos (6,3%). Cinco muestras fueron positivas para IgM anti-VHE y negativas para IgG anti-VHE. En la Tabla 2, se detallan las características de los nueve pacientes con anticuerpos IgM anti-VHE positivos.

Tabla 1. Distribución por sexo y edad de los pacientes de acuerdo a los resultados de IgG e IgM anti-VHE

	IgG (+) n = 68 (26%)	Anti-VHE IgG IgG (-) n = 196 (74%)	Valor p	IgM (+) n = 9 (3%)	Anti-VHE IgM IgM (-) n = 250 (97%)	Valor p
Sexo			0,16			0,62
Femenino	41 (60)	99 (51)		4 (44)	132 (53)	
Masculino	27 (40)	97 (49)		5 (56)	118 (47)	
Edad			< 0,01			-
< 30 años	6 (9)	54 (28)		0	61 (24)	
30 – 39 años	5 (7)	47 (24)		2 (22)	48 (19)	
40 – 49 años	16 (24)	25 (13)		3 (33)	35 (14)	
≥ 50 años	41 (60)	70 (36)		4 (44)	106 (42)	

Tabla 2. Resultados detallados de los 9 pacientes con anticuerpos IgM anti-VHE positivo

Paciente	Edad	Género	Índice IgM anti-VHE ≥ 1 (positivo)	IgG anti-VHE (U/ml) < 0,56 (negativo) > 0,56 (positivo)
1	31	F	1,04	< 0,1 (neg)
2	31	M	3,28	< 0,1 (neg)
3	40	M	1,92	0,11 (neg)
4	81	F	3,45	0,41 (neg)
5	46	F	1,32	0,55 (neg)
6	57	F	2,55	1,82 (pos)
7	64	M	7	> 10 (pos)
8	42	M	2,21	> 10 (pos)
9	51	M	5,79	> 10 (pos)

Discusión

Por muchos años, la detección de anticuerpos del tipo IgG e IgM anti-VHE se ha realizado mediante técnicas manuales de ELISA convencional, las cuales han ido mejorando considerablemente. El reciente desarrollo de un método automatizado ha despertado interés en incorporarlo en la rutina diagnóstica. Dentro de este contexto resulta razonable comunicar los resultados obtenidos desde su implementación.

El análisis de las muestras mediante el ensayo VIDAS® anti-HEV IgG mostró resultados en rangos similares a los publicados previamente en 2015 con un kit ELISA manual de buen rendimiento (25,8% vs. 32,6%; respectivamente)⁵. Además, la seropositividad aumentó significativamente con la edad en concordancia con la literatura médica reciente^{2,12-14}.

Existen publicaciones nacionales que evidencian una elevada exposición al VHE en la población.^{4,5} No obstante, esto contrasta con la baja seropositividad de IgM anti-VHE encontrada con VIDAS® anti-HEV IgM (3,5%), lo que sugiere que en nuestro medio la mayor proporción de infecciones por VHE serían asintomáticas. A pesar de lo infrecuente que parece ser la infección aguda por VHE, su pesquisa cobra trascendencia en los grupos de mayor morbimortalidad como lo son las mujeres embarazadas y los pacientes inmunocomprometidos y trasplantados de órganos sólidos. A ello se suma que en Chile no se encuentran disponibles rutinariamente las técnicas de biología molecular para la detección de ARN viral de VHE, por lo que es crucial incluir la determinación de IgM anti-VHE en el algoritmo inicial del estudio de hepatitis aguda³.

En un estudio realizado por Hurtado y cols. en 2005, se detectó IgM anti-VHE en 34% de las muestras que habían sido positivas para IgG anti-VHE⁶, lo cual contrasta con 6,3% encontrado en nuestro estudio. Esto podría explicarse porque los ensayos de “primera generación”, dada su baja sensibilidad, no eran capaces de detectar títulos bajos de anticuerpos asociados a infecciones previas. Por lo tanto, debido al mejoramiento de la sensibilidad de los nuevos ensayos, la seropositividad de IgG anti-VHE encontrada por nuestro grupo probablemente refleja la exposición al VHE acumulada en el tiempo de vida y/o a la persistencia de anticuerpos^{12,15}.

Los ensayos VIDAS® anti-HEV IgM e IgG pueden superar algunos

de los principales inconvenientes de los ensayos ELISA, que requieren un tiempo mayor de procesamiento de las muestras y se deben incluir calibradores y controles en cada ejecución. Debido a estas características, las muestras se procesan por lotes, lo que aumenta el tiempo de respuesta, especialmente considerando que en nuestro país no siempre se incluye el VHE en el estudio etiológico de hepatitis aguda. En cambio, VIDAS® posee un concepto de prueba única, automatizada, fácil de usar y con un mínimo de manipulación. Se puede utilizar bajo demanda y dar un resultado en solo 40 min¹⁶.

En conclusión, este primer estudio realizado en Chile con técnica automatizada VIDAS® muestra resultados similares a los descritos previamente por nuestro grupo. Teniendo en cuenta las ventajas prácticas de los ensayos de IgM e IgG anti-HEV en el sistema VIDAS®, parecen ser nuevas herramientas valiosas en el estudio serológico de la hepatitis E.

Referencias bibliográficas

- 1.- Hakim MS, Wang W, Bramer WM, Geng J, Huang F, de Man R. The global burden of hepatitis E outbreaks: a systematic review. *Liver Int* 2017; 37: 19-31. doi: 10.1111/liv.13237.
- 2.- Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 116-38. doi: 10.1128/CMR.00057-13.
- 3.- Dalton HR, Kamar N, Baylis SA, Moradpour D, Wedemeyer H, Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol* 2018; 68: 1256-1271. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.005.
- 4.- Covarrubias N, Naveas P, Miranda J, Hurtado C, Vera D B, Larrondo M, et al. Seroprevalencia de virus hepatitis E en donantes de sangre en un hospital universitario en Chile. *Rev Chilena Infectol* 2018; 35: 455-7. doi: 10.4067/s0716-10182018000400455.
- 5.- Covarrubias N, Hurtado C, Díaz A, Mezzano G, Brahm J, Venegas M. Re-evaluación de seroprevalencia de virus hepatitis E. *Rev Chilena Infectol* 2015; 32: 482-4. doi: 10.4067/S0716-10182015000500020.
- 6.- Hurtado H C, Muñoz G G, Brahm B J. Anti-VHE IgM en casos de infección por el virus hepatitis E. *Rev Med Chile* 2005; 133: 645-7. doi: 10.4067/s0034-98872005000600004.
- 7.- Wenzel J J, Preiss J, Schemmerer M, Huber B, Jilg W. Test performance characteristics of anti-HEV IgG assays strongly influence hepatitis E

- seroprevalence estimates. *J Infect Dis* 2013; 207: 497-500. doi: 10.1093/infdis/jis688.
- 8.- Norder H, Karlsson M, Mellgren Å, Konar J, Sandberg E, Lasson A, et al. Diagnostic performance of five assays for anti-hepatitis e virus IgG and IgM in a large cohort study. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 549-55. doi: 10.1128/JCM.02343-15.
 - 9.- Legrand-Abravanel F, Thevenet I, Mansuy J M, Saune K, Vischi F, Peron J M, et al. Good performance of immunoglobulin M assays in diagnosing genotype 3 hepatitis E virus infections. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 772-4. doi: 10.1128/CVI.00438-08.
 - 10.- Drobeniuc J, Meng J, Reuter G, Greene-Montfort T, Khudyakova N, Dimitrova Z, et al. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. *Clin Infect Dis* 2010; 51: e24-7. doi: 10.1086/654801.
 - 11.- Abravanel F, Goutagny N, Joffray R, Eichenlaub E, Baron S, Aversenq A, et al. Performance characteristics of the VIDAS® ANTI-HEV IgM and IgG assays. *J Clin Virol* 2019; 112: 10-4. doi: 10.1016/j.jcv.2019.01.005.
 - 12.- Park H K, Jeong S H, Kim J W, Woo B H, Lee D H, Young H, et al. Seroprevalence of anti-hepatitis E virus (HEV) in a Korean population: comparison of two commercial anti-HEV assays. *BMC Infect Dis* 2012; 12: 10-5. doi: 10.1186/1471-2334-12-142.
 - 13.- Ren F, Zhao C, Wang L, Wang Z, Gong X, Song M, et al. Hepatitis E virus seroprevalence and molecular study among blood donors in China. *Transfusion* 2014; 54: 910-7. doi: 10.1111/trf.12530.
 - 14.- Hartl J, Otto B, Madden R G, Webb G, Woolson K L, Kriston L, et al. Hepatitis E seroprevalence in Europe: a meta-analysis. *Viruses* 2016; 8: 211. doi: 10.3390/v8080211.
 - 15.- Brahm J, Hurtado C, Moraga M, Gil L C, Velasco M, Alegría S, et al. Hepatitis E virus infection in Chile: preliminary report. *Rev Med Chile* 1996; 124: 947-9.
 - 16.- Cattoir L, Vercauteren K O A, Padalko E, De Beenhouwer H, Van Vaerenbergh K, Boel A. Are VIDAS® anti-HEV IgM and IgG assays fit for reliable diagnosis of hepatitis E virus infections? Comparison & case story telling. *Acta Clin Belgica* 2021; 76: 25-31. doi: 10.1080/17843286.2019.1655245.