

Seguimiento de anticuerpos contra hepatitis A y E en una cohorte de niños de bajo nivel socioeconómico

Humberto Ibarra V, Stella Riedemann G^a, Claudio Toledo A.

Hepatitis A and E virus antibodies in Chilean children of low socioeconomic status. A one year follow-up study

Background: The seroprevalence of antibodies against hepatitis A virus (HAV) is decreasing in many Latin American countries, along with improvements in sanitary standards. However, there is no information available about low socioeconomic status (LSE) populations. **Aim:** To assess the evolution of hepatitis A and E virus antibodies in a cohort of LSE Chilean children. **Material and methods:** One hundred sixty eight children aged four years, 97 males, coming from public primary care clinics, were studied. Two blood samples were obtained with an interval of one year. Anti-HAV and anti-hepatitis E virus (HEV) antibodies, were detected by ELISA using Abbott kits. **Results:** Anti-HAV was positive in 19 children (11.3%). After one year of follow-up, only 10 children had sustained reactivity (52.6%). Fourteen children, initially negative, became positive during the follow up (9.4%). Antibody titers to HAV were significantly higher in samples that remained positive, compared with those that lost reactivity. Anti-HEV was found positive in two children (1.2%). One remained positive and the other became negative. **Conclusions:** In this cohort of LSE Chilean children, the prevalence to antibodies against HAV and HEV is low. Follow-up detected loss of reactivity to HAV in nearly one half of the children, probably related to lower antibody levels (Rev Méd Chile 2006; 134: 139-44).

(Key words: Hepatitis A; Hepatitis A antibodies; Hepatitis E; Hepatitis, viral, human)

Recibido el 14 de diciembre, 2004. Aceptado el 11 de agosto, 2005.

Trabajo parcialmente financiado por Proyecto S-199935 DID-UACH.

Instituto de Medicina, Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

^aMédico veterinario

La seroprevalencia de anticuerpos anti-VHA y anti-VHE aumenta con la edad, especialmente en áreas de alta endemicidad como ocurre en países en desarrollo. Actualmente se ha observado una menor frecuencia de hepatitis A en muchos países de Latinoamérica, especialmente en Chile en relación a mejoría de condiciones socioeconómicas^{1,2}. De esta manera adquiere importancia el conocimiento actual del perfil epidemiológico de las hepatitis de transmisión enteral, para establecer mejores estrategias de prevención. Por otro lado, no existe información de seguimiento de anticuerpos anti-VHA y anti-VHE en niños de bajo nivel socioeconómico. Se ha pensado tradicionalmente que la inmunidad para este tipo de hepatitis persiste por tiempos prolongados. Sin embargo, en estudios preliminares hemos detectado baja prevalencia y pérdida de anticuerpos para hepatitis A y E³.

El propósito de esta investigación, a través de muestreo y seguimiento durante un año, fue evaluar modificaciones en la respuesta inmune para hepatitis A y E en una cohorte de niños de 4 años de edad de bajo nivel socioeconómico.

METODOLOGÍA

Previo aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina y consentimiento informado de los padres, se investigó una cohorte de 168 niños de 4 años de edad, de ambos sexos, provenientes de Consultorios de Atención Primaria del Servicio de Salud Valdivia y Municipalizados pertenecientes al Programa de Control de Niño Sano. Para ello se confeccionó un protocolo en donde se consignaron datos biodemográficos (fecha de nacimiento, peso al nacer, desarrollo pondoestatural y sicosocial) y antecedentes de los controles del programa de Niño Sano durante el año de observación.

El estudio virológico se realizó mediante ELISA (Abbott Laboratories), determinando en el suero la presencia de anticuerpos totales para virus A (Anti-VHA) y virus E (Anti-VHE). Se hizo seguimiento un año después tanto para determinar persistencia de la reactividad en los que resultaron positivos, como para pesquisar seroconversión en aquellos que resultaron negativos.

Las muestras de inicio se obtuvieron en un grupo de 94 niños, entre los meses de abril y julio de 1999 y en otro grupo de 74 niños, entre los meses de septiembre y diciembre de 1999. Las muestras de seguimiento se obtuvieron entre los meses de abril y julio de 2000 y septiembre y diciembre de 2000.

Con el objeto de evaluar la tasa de anti-VHA, se efectuaron determinaciones adicionales mediante ELISA, en 14 sueros positivos del primer y en 5 del segundo muestreo (muestras del seguimiento).

Cada una de las muestras fue sometida a diluciones progresivas: 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1.600, 1/3.200, 1/6.400, hasta obtener negatividad, registrándose los valores de densidad óptica (DO). Por tratarse de un ELISA por competencia se consideran más reactivos (con mayor tasa de anticuerpos) aquellos que presenten los valores de densidad óptica más cercanos al valor 0.

Las muestras que se diluyeron se clasificaron en 3 grupos: Grupo I: 5 sueros de sujetos persistentemente positivos al año de seguimiento. Grupo II: 9 sueros de sujetos con seroreversión al año de seguimiento (pérdida de reactividad). Se compararon los valores de densidad óptica de los sueros de los Grupos I y II a distintas diluciones usando programa GraphPad InStat version 3.00 para Windows 95, GraphPad Software, San Diego, California, USA. (Mann-Whitney Test) www.graphpad.com. Grupo III: Corresponden a 5 sueros de sujetos con seroconversión al año de seguimiento.

RESULTADOS

Sexo: mujeres: 71 (42,3%); hombres: 97 (57,7%)

Primer muestreo (año 1999): Anti-VHA negativos= 149/168 (88,7%). Anti-VHA positivos= 19/168 (11,3%); mujeres 8/71 (11,3%); hombres 11/97 (11,3%). p= NS

Anti-VHE negativos= 166/168 (98,8%). Anti-VHE positivos= 2/168 (1,2%); ambas mujeres y ambas anti-VHA negativo.

Segundo muestreo (año 2000): Muestras de seguimiento de 149 sueros anti-VHA negativos: Seroconversión: 14 niños se hicieron anti-VHA positivos (9,4%). El análisis de los controles de

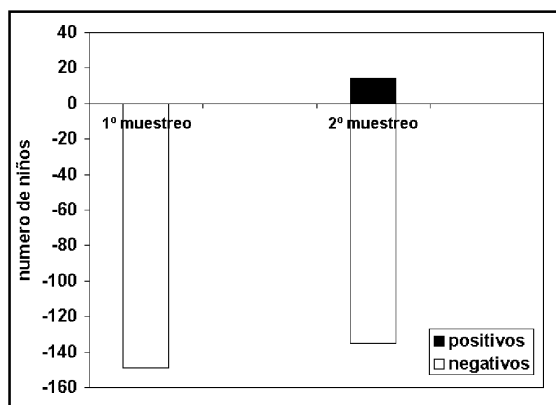


FIGURA 1. Resultados de anti-VHA en el seguimiento a un año de 149 niños anti-VHA negativos.

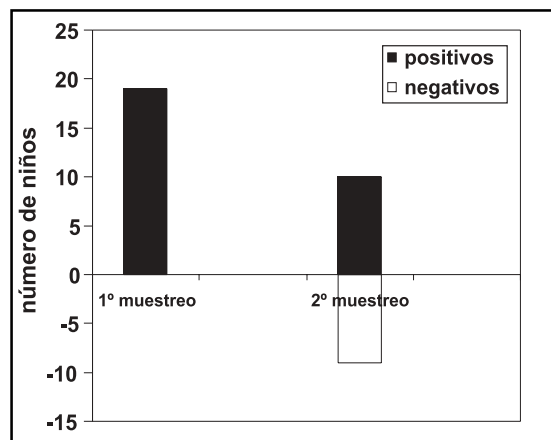


FIGURA 2. Resultados de anti-VHA en el seguimiento a un año de 19 niños anti-VHA positivos.

salud de estos niños, no reveló evidencias de enfermedad o contacto con hepatitis (Figura 1). *Muestras de seguimiento de 19 sueros anti-VHA positivos:* 10 niños se mantuvieron positivos (52,6%). Pérdida de reactividad: 9 niños se hicieron anti-VHA negativos (47,4%) (Figura 2). Los controles de salud de este grupo, no revelaron evidencias que pudieran cambiar respuesta inmune. Seguimiento anti-VHE positivos: uno permaneció positivo y el otro se negativizó.

Valores de DO de grupos I y II del primer muestreo sin dilución (Tabla 1): La comparación de DO de grupos I y II no reveló diferencias significativas ($p = 0,125$).

Valores de DO de grupos I y II del primer muestreo con dilución 1/50 (Tabla 2): La comparación de DO de grupos I y II dió diferencias significativas ($p=0,029$). Estos sueros comparados a mayores diluciones 1/100 y 1/200 mantuvieron diferencias significativas ($p=0,017$ y $0,020$, respectivamente).

Tabla 1. Resultados de los valores de densidad óptica (DO), sin diluir (Cutoff 0,682), promedios y rangos en muestras anti-VHA positivas de niños con anticuerpos (Grupo I) y sin anticuerpos (Grupo II) al año de seguimiento

	Grupo I n=5	Grupo II n=9
	0,03	0,481
	0,025	0,325
	0,024	0,304
	0,024	0,293
	0,013	0,274
		0,121
		0,027
		0,013
		0,011
Promedio (DE)	0,0232 ($\pm 0,0062$)	0,2054 ($\pm 0,1681$)
Rangos	0,013-0,03	0,011-0,481

Tabla 2. Resultados de los valores de densidad óptica (DO), con dilución 1/50 (*Cutoff* 0,682), promedios y rangos en muestras anti-VHA positivas de niños con anticuerpos (grupo I) y sin anticuerpos (grupo II) al año de seguimiento

	Grupo I n=5	Grupo II n=9
	0,016	1,304
	0,076	1,107
	0,057	1,069
	0,011	1,024
	0,011	1,023
		0,978
		0,012
		0,012
		0,009
Promedio (DE)	0,0342 (±0,0303)	0,7351 (± 0,5314)
Rangos	0,011-0,076	0,009-1,304

Los valores de DO de los 5 sueros del grupo III que seroconvirtieron en el segundo muestreo, fueron 0,03; 0,027; 0,026; 0,024; 0,014 sin dilución. 0,112; 0,111; 0,07; 0,011; 0,011 con dilución 1/50 y 0,121; 0,096; 0,141; 0,133; 0,03, con dilución 1/100. (*Cutoff*=0,682).

DISCUSIÓN

El presente estudio fue diseñado para evaluar la prevalencia y los cambios en los anticuerpos anti-VHA y anti-VHE en una población seleccionada de niños de bajo nivel socioeconómico. En el primer muestreo, encontramos 19/168 (11,3%) y 2/168 (1,2%) de positividad para anti-VHA y anti-VHE, respectivamente. En ninguno de los niños positivos se encontraron antecedentes de contacto o hepatitis previa. Estos resultados confirman que los niños infectados podrían no desarrollar la enfermedad clínica⁴, pero son una fuente potencial de contaminación⁵ ya que excretan partículas virales al entorno.

La seroprevalencia detectada para virus A en este estudio es mucho más baja que el 37,9% encontrado en la década del 80, en un grupo de niños de Hogares de Menores de muy bajo nivel socioeconómico, con edades similares, estudiado

en nuestra ciudad (Riedemann S., observaciones no publicadas) y también más baja que 13,2% para un grupo etario de 76 niños de 1 a 4 años, pesquisado en Santiago de Chile². Estos hallazgos podrían relacionarse con la mejoría de las condiciones sanitarias observadas en este grupo de población.

La seroprevalencia de anti-VHA está disminuyendo desde la última década en muchos países desarrollados⁶⁻⁹ y recientemente en muchas otras regiones¹⁰⁻¹², incluyendo Latinoamérica¹.

Algo similar ocurriría en nuestra zona respecto de la diferencia de positividad para anti-VHE comparando 36% detectada en 1994 en un grupo de 166 niños de Valdivia de bajo nivel socioeconómico, pero de mayor edad¹³, respecto del actual 1,2% encontrado en estos 168 niños.

Por otro lado, en el seguimiento al año de los niños negativos, observamos seroconversión para anti-VHA en 9,4% (Figura 1) y en 1 de 2 para anti-VHE.

A su vez el seguimiento de los niños seropositivos reveló sorprendentemente pérdida de la reactividad en prácticamente la mitad de ellos (47,4% para anti-VHA (Figura 2) y 1 de 2 para anti-VHE). Un cuidadoso análisis en el año de seguimiento no demostró que se afectara la respuesta inmune al no detectar signos de enfermedad, o

uso de drogas o inmunizaciones durante el período de estudio, situación que ha sido descrita en pacientes trasplantados¹⁴.

En nuestro caso, el estudio de los anticuerpos para hepatitis A, por diluciones progresivas demostró diferencias en la tasa de anticuerpos anti-VHA entre los niños estudiados siendo significativamente menor ($p=0,029$) en el grupo con seroreversión (Tabla 2). La demostración de esta menor tasa de anticuerpos sería un fenómeno que podríamos relacionar con una menor circulación viral ambiental como consecuencia de la mejoría en las condiciones sanitarias, que podría explicarse por estar en un período de transición epidemiológica, que sin embargo no afectaría a todos los individuos por igual.

En el estudio de 5 muestras que seroconvirtieron para hepatitis A el año 2000, los valores de densidad óptica se mantuvieron cercanos al 0 sin dilución y también con diluciones de 1/50

y 1/100. Predictivamente estos niños al tener títulos más altos de anticuerpos podrían tener una inmunidad mejor y más persistente en el tiempo.

Como es mencionado tradicionalmente la prevalencia para anti-VHA aumenta acumulativamente con la edad¹⁵⁻¹⁷. Sin embargo, según nuestros resultados el seguimiento caso a caso indica variabilidad en la respuesta individual, que debería ser considerada al evaluar aparición de brotes de hepatitis en países en desarrollo.

Actualmente, Chile por estar en transición epidemiológica a baja prevalencia de anti-VHA, tiene condiciones que aumentan los riesgos de nuevos casos de hepatitis o brotes epidémicos en población más adulta^{18,19}.

En este nuevo escenario es necesario evaluar planes de inmunización²⁰⁻²³, que incluyan no sólo a grupos de jóvenes adultos²⁴, sino además a niños de bajo nivel socioeconómico.

REFERENCIAS

1. TAPIA-CONYER R, SANTOS JI, CAVALCANTI AM, URDANETA E, RIVERA L, MANTEROLA A ET AL. Hepatitis A in Latin America: a changing epidemiologic pattern. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 825-9.
2. LAGOS R, POTIN M, MUÑOZ A, ABREGO P, SAN MARTÍN OS, URETA AM ET AL. [Serum antibodies against hepatitis A virus among subjects of middle and low socioeconomic levels in urban area of Santiago Chile]. *Rev Méd Chile* 1999; 127: 429-36.
3. IBARRA H, RIEDEMANN S, REINHARDT G, TOLEDO C, RIOFRÍO R. Seguimiento de anticuerpos de virus de la hepatitis A y E en niños aparentemente sanos: Informe preliminar. *Gastr Latinoam* 2000; 11: 384.
4. WEBSTER G, BARNES E, DUSHEIKO G, FRANKLIN I. Protecting travellers from hepatitis A. *BMJ* 2001; 322: 1194-95.
5. ARMSTRONG GL, BELL BP. Hepatitis A virus infection in the United States: model-based estimates and implications for childhood immunization. *Pediatrics* 2002; 109: 839-45.
6. STROFFOLINI T, DE CRESCENZO L, GIAMMANCO A, INTONAZZO V, LA ROSA G, CASCIO A ET AL. Changing patterns of hepatitis A virus infection in children in Palermo, Italy. *Eur J Epidemiol* 1990; 6: 84-7.
7. BRIEM H. Declining prevalence of antibodies to hepatitis A virus infection in Iceland. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 135-8.
8. BRUGUERA M, SALLERAS L, PLANS P, VIDAL J, NAVAS E, DOMÍNGUEZ A ET AL. [Changes in seroepidemiology of hepatitis A virus infection in Catalonia in the period 1989-1996. Implications for new vaccination strategy]. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 406-8.
9. POLZ-DACEWICZ MA, POLICZKIEWICZ P, BADACH Z. Changing epidemiology of hepatitis A virus infection- a comparative study in Central Eastern Poland (1990-1999) *Med Sci Monit* 2000; 6: 989-93.
10. POOVORAWAN Y, VIOMOLKEI T, CHONGSRISAWAT V, THEAMBOONLERS A, CHUMDERMPAETSUK S. The declining pattern of seroepidemiology of hepatitis A virus infection among adolescents in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28: 154-7.
11. CHITAMBAR SD, CHADHA MS, JOSHI MS, ARANKALLE VA. Prevalence of hepatitis A antibodies in Western Indian population changing pattern. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30: 273-6.
12. WANG SM, LIU CC, HUANG YS, YANG YJ, LEI HY. Change in hepatitis A virus seroepidemiology in Southern Taiwan: a large percentage of the population lack protective antibody. *J Med Virol* 2001; 64: 104-8.

13. IBARRA H, RIEDEMANN S, SIEGEL F, REINHARDT G, TOLEDO C, FROESNER G. Hepatitis E virus in Chile. *Lancet* 1994; 344: 1501.
14. DIGNANI MC, MICELI MH, ROSA CM, GATICA J, MARTÍNEZ-ROLON J, PIZZOLATO M. Loss of hepatitis A virus (HAV) antibodies after peripheral stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 809-12.
15. JOSHI N, YR NK, KUMAR A. Age related seroprevalence of antibodies to hepatitis A virus in Hyderabad, India. *Trop Gastroenterol* 2000; 21: 63-5.
16. SIDAL M, UNUVAR E, OGUZ F, CIHAN C, ONEL D, BADUR S. Age-specific seroepidemiology of hepatitis A, B, and E infection among children in Istanbul, Turkey. *Eur J Epidemiol* 2001; 17: 141-4.
17. PEACH D, MCMAHON BJ, BULKOW L, FUNK E, HARPAZ R, MARGOLIS HS. Impact of recurrent epidemics of hepatitis A virus infection on population immunity levels: Bristol Bay, Alaska. *J Infect Dis* 2002; 186: 1081-5.
18. IBARRA H, RIEDEMANN S, SIEGEL F, TOLEDO C, FROESNER G. [Acute hepatitis caused by virus A, E and non A-E in Chilean adults]. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 523-30.
19. GONZÁLEZ PRAETORIUS A, RODRÍGUEZ-AVIAL C, FERNÁNDEZ C, PÉREZ POMAT MT, GIMENO C, BISQUERT J. Incidence and risk factors for hepatitis A in the province of Guadalajara (Spain). *Gastroenterol Hepatol* 2002; 25: 230-4.
20. TANAKA J. Hepatitis A shifting epidemiology in Latin America. *Vaccine* 2000; 18 Suppl 1: S57-60.
21. DENTINGER CM, HEINRICH NL, BELL BP, FOX LM, KATZ DJ, CULVER DH ET AL. A prevalence study of hepatitis A virus infection in a migrant community: Is hepatitis A vaccine indicated? *J Pediatr* 2001; 138: 705-9.
22. AVERHOFF F, SHAPIRO CN, BELL BP, HYAMS I, BURD L, DELADISMA A ET AL. Control of hepatitis A through routine vaccination in children. *JAMA* 2001; 286: 2968-73.
23. RIEDEMANN S, REINHARDT G, IBARRA H, FROESNER G. Immunogenicity and safety of a virosomal hepatitis A vaccine (Epaxal[®]) in healthy toddlers and children in Chile. *Acta Paediatrica* 2004; 93: 412-4.
24. GILLIS D, GROTTO I, MIMOUNI D, HUERTA M, GDALEVICH M, SHPILBERG O. Adult infection with hepatitis A despite declining endemicity; in favor of adult vaccination. *Vaccine* 2002; 20: 2243-8.