



Caracterización serológica y molecular de la infección por el Virus de la Hepatitis B y Virus de la Hepatitis Delta en comunidades indígenas de Colombia

Serological and molecular characterization of Hepatitis B Virus and Hepatitis Delta Virus infection in indigenous communities from Colombia

Melissa Montoya Guzmán

Trabajo de investigación presentado para optar al título de Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas

Directora

María Cristina Navas Navas, Doctor (PhD) en Virología

Universidad de Antioquia
Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas
Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas
Medellín, Antioquia, Colombia

2022

Cita	Montoya Guzmán (1)
Referencia	(1) Montoya Guzmán M. Caracterización serológica y molecular de la infección por el Virus de la Hepatitis B y Virus de la Hepatitis Delta en comunidades indígenas de Colombia [Tesis de maestría]. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia; 2022.
Estilo Vancouver/ICMJE (2018)	



Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas Cohorte 2020-I.

Grupo de Investigación Gastrohepatología.

Sede de Investigación Universitaria (SIU).



Biblioteca Médica

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Directora: Eliana Restrepo Pineda.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Agradecimientos

A mi tutora la Dra. María Cristina Navas y a los miembros del comité tutorial, Dr. Carlos Alberto Rojas, Dra. Flor Pujol y al Dr. Silvio Urcuqui.

A mi equipo de trabajo en el Grupo de Epidemiología, Dr. Carlos Alberto Rojas, Dra. Diana-María Castro, el estudiante de maestría Jaime Martínez, y la estudiante de pregrado Isabela Palacio.

Al profesor Francisco Javier Díaz, por su valiosa asesoría en los análisis filogenéticos. A las Secretarías de Salud Departamentales de Amazonas, Antioquia y Guaviare, A la EPS Anas Wayuu en La Guajira, a los colaboradores en cada una de las regiones y los promotores de salud.

A todos los indígenas que aceptaron participar y hacer posible este proyecto.

A mis compañeros de trabajo durante estos años Diana di Filippo, Jaime Martínez y María Camila López.

A la Corporación Académica de Ciencias Básicas Biomédicas.

A la Universidad de Antioquia.

Al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por la financiación del proyecto.

A mi familia y a Luis Ángel Suárez por su apoyo incondicional en este proceso.

Tabla de Contenido

Resumen	11
Abstract	13
Marco teórico.....	15
Virus de la Hepatitis B.....	15
Ciclo de replicación de VHB.....	17
Partículas subvirales	18
Historia natural de la infección por VHB.....	20
Infección Oculta por VHB (OBI)	22
Vacuna contra la infección por VHB.....	23
Variantes de escape	23
Epidemiología de la infección por VHB.....	25
Epidemiología de la infección por VHB en Colombia	26
Genotipos de VHB	29
Distribución de los genotipos de VHB en Colombia	30
Virus de la Hepatitis Delta.....	32
Ciclo de replicación de VHD	33
Historia natural de la infección por VHD	35
Epidemiología de la infección por VHD.....	38
Epidemiología de la infección por VHD en Colombia.....	39
Distribución de los genotipos de VHD.....	40
Distribución de los genotipos de VHD en Colombia.....	40
Planteamiento del problema	42
Objetivos.....	45
Objetivo general.....	45

Objetivos específicos	45
Materiales y Métodos.....	46
Población de estudio.....	46
Tipo de estudio	46
Muestreo	47
Toma de muestra	47
Marcadores serológicos para la infección por VHB	48
Extracción y detección del genoma de VHB	48
PCR cuantitativa para VHB.....	50
Marcadores serológicos para la infección por VHD	51
Extracción y detección del genoma de VHD	51
PCR cuantitativa para VHD.....	52
Análisis Filogenéticos.....	53
Análisis estadísticos.....	54
Consideraciones éticas	54
Resultados.....	55
Características sociodemográficas de la población de estudio	55
Marcadores serológicos de la infección por VHB.....	57
Detección del genoma de VHB	59
Cuantificación de la carga viral de VHB	60
Identificación de los genotipos y subgenotipos de VHB.....	62
Variantes de escape y mutaciones asociadas a resistencia	69
Casos de Infección Oculta por VHB (OBI)	70
Marcadores serológicos de la infección por VHD	71
Detección del genoma de VHD	72

Cuantificación de la carga viral de VHB	73
Identificación de los genotipos de VHD.....	74
Discusión	78
Perspectivas	89
Conclusiones	90
Referencias	92
Anexos.....	111

Lista de tablas

Tabla 1. Proteínas de VHB.....	16
Tabla 2. Marcadores de la infección por VHB.....	20
Tabla 3. Mutaciones en el HBsAg descritas en estudios realizados en Colombia.	24
Tabla 4. Estudios de prevalencia de Hepatitis B en diferentes poblaciones de Colombia.	28
Tabla 5. Genotipos y subgenotipos de VHB reportados en Colombia.	30
Tabla 6. Estudios de prevalencia de la infección por el VHD en Colombia.....	39
Tabla 7. Características sociodemográficas de los casos notificados de Hepatitis B y controles incluidos en el estudio.....	56
Tabla 8. Marcadores serológicos de infección por VHB en los casos notificados y confirmados para HBsAg.....	57
Tabla 9. Marcadores serológicos y detección del genoma de VHB en los casos notificados al Sivigila negativos para HBsAg en el estudio.....	57
Tabla 10. Marcadores serológicos de casos de infección crónica por VHB que presentan niveles séricos elevados de ALT y/o AST.....	58
Tabla 11. Genotipos y subgenotipos de VHB y VHD caracterizados en la población de estudio.....	69
Tabla 12. Sustituciones encontradas en el ORF S y Dominio RT de VHB.....	70
Tabla 13. Cuantificación de la carga viral de VHB en las muestras de casos de OBI...	71
Tabla 14. Marcadores serológicos y moleculares de la infección por VHD en los casos notificados de VHB.	73
Tabla 15. Genotipos de VHB y VHD en casos Coinfección/superinfección en la población de estudio.....	77

Lista de figuras

Figura 1. Organización genómica de VHB.....	15
Figura 2. Ciclo de replicación del Virus de la Hepatitis B.....	18
Figura 3. Representación de las diferentes partículas subvirales que se generan durante la replicación del VHB.	19
Figura 4. Fases de la infección crónica por VHB.	21
Figura 5. Incidencia de la infección por VHB en Colombia en el periodo 2010-2020. ..	26
Figura 6. Representación de la partícula viral del VHD.	33
Figura 7. Ciclo de replicación del VHD.	34
Figura 8. Coinfección y superinfección VHB/VHD.	35
Figura 9. Marcadores serológicos de coinfección y superinfección por VHB y VHD. ...	37
Figura 10. Reporte de casos de infección por VHB y/o VHD en comunidades indígenas de Latinoamérica.	44
Figura 11. Ubicación geográfica de los departamentos que hacen parte del estudio...	46
Figura 12. Niveles de AST y ALT en casos de Hepatitis B crónica.....	58
Figura 13. Figura representativa de la amplificación del ORF S del VHB.....	59
Figura 14. Figura representativa de la amplificación de las regiones PreS1 y PreS2 del VHB.	60
Figura 15. Regresión lineal de la qPCR del ORF S de VHB a partir del plásmido pL-HBsAg.	61
Figura 16. Cuantificación de la carga viral de VHB en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHB, ORF S.	62
Figura 17. Análisis Filogenético de la región ORF S de VHB.	63
Figura 18. Ensamblaje de las secuencias PreS1, PreS2 y S del genoma de VHB.....	65
Figura 19. Análisis filogenético de la región PreS1, PreS2 y S de VHB.	66
Figura 20. Análisis Bayesiano de la región PreS1, PreS2 y S de VHB.....	68

Figura 21. Detección del genoma de VHD, región que codifica para el HDAg.	72
Figura 22. Regresión lineal de la curva estándar de la qPCR de la región que codifica para el HDAg de VHD.....	74
Figura 23. Cuantificación de la carga viral de VHD en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHD.	74
Figura 24. Análisis Filogenético de la región que codifica para el HDAg de VHD.	77

Siglas, acrónimos y abreviaturas

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferasa
cccADN	ADN circular covalentemente cerrado
CHC	Carcinoma hepatocelular
HBeAg	Antígeno e del VHB
HBsAg	Antígeno de superficie del VHB
HDAg	Antígeno delta del VHD
HSH	Hombres que tienen sexo con hombres
IFN	Interferón
INS	Instituto Nacional de Salud
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
NTCP	Polipéptido cotransportador de Na ⁺ -taurocolato
OBI	Infección Oculta por VHB
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
ORF	Marco de lectura abierto
PAI	Programa ampliado de inmunizaciones
PID	Personas que se inyectan
pgARN	ARN pregenómico
PSV	Partículas subvirales
rcADN	ADN circular relajado
RT	Dominio polimerasa con actividad transcriptasa reversa
SIVIGILA	Sistema de vigilancia epidemiológica
VHB	Virus de la Hepatitis B
VHD	Virus de la Hepatitis Delta

Resumen

La Organización Mundial de la Salud estima 296 millones de personas con infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB) y 820.000 muertes/año relacionadas con esta infección. A pesar del programa de vacunación universal, aún hay regiones con alta prevalencia de Hepatitis B como la cuenca amazónica donde habitan varias comunidades indígenas. Por otra parte, el Virus de la Hepatitis Delta (VHD) infecta aproximadamente al 4,5% de las personas positivas para el antígeno de superficie del VHB (HBsAg) a nivel global, dado que el VHD utiliza el HBsAg para ensamblar la partícula viral e infectar los hepatocitos. La coinfección o superinfección VHB/VHD puede asociarse a cuadros severos. Entre las poblaciones con alta prevalencia de Hepatitis Delta se encuentran las comunidades indígenas de América.

El objetivo de este estudio es caracterizar los marcadores serológicos y moleculares de infección por VHB y VHD en indígenas de cuatro departamentos de Colombia. Para cumplir el objetivo se realizaron trabajos de campo previa identificación de los casos de hepatitis B correspondientes a indígenas notificados al Sivigila entre 2015 y 2022 en los departamentos de Amazonas, Guaviare, Antioquia y La Guajira. Por cada caso que aceptó participar en el estudio se seleccionaron dos controles de la misma etnia pareados por sexo y edad.

El diagnóstico de Hepatitis B de los casos se confirmó con la detección de los marcadores HBsAg y anti-HBc (IgM y total) por ELISA. Además, se evaluaron los niveles séricos de las enzimas ALT y AST y los marcadores HBeAg y Anti-HBe en muestras de casos con infección crónica y niveles séricos superiores al nivel normal de transaminasas. En todas las muestras con marcadores de infección por VHB se evaluó la presencia del marcador Anti-VHD Total.

El genoma de VHB y VHD se intentó amplificar por PCR y RT-PCR en la totalidad de las muestras obtenida de los casos, previa extracción del ADN total y ARN viral, respectivamente. Posteriormente, se secuenciaron los amplicones correspondientes a las regiones S (422-758nt), preS1 (2440-58nt) y preS2 (3006-213nt) del genoma de VHB y la región que codifica para HDAg (887-1290nt) del genoma de VHD. Por último, se realizó un análisis filogenético por el método de Máxima Verosimilitud y Bayesiano para

la caracterización de los genotipos virales; y se identificaron las variantes de escape del VHB mediante análisis de la secuencia de aminoácidos.

En total se estudiaron 75 casos de hepatitis B notificados al Sivigila y 150 controles. La mayoría de los casos presentaban marcadores de hepatitis B crónica (62,67%), un caso con marcadores de reactivación (1,33%), seis casos con marcadores de resolución de la infección (8%) y 19 casos (25,3%) sin marcadores de infección por VHB. El genoma del VHB se detectó en 20/75 (26,67%) y el genoma de VHD en 18/75 (24%) muestras de los casos. Los marcadores serológicos y/o moleculares de la infección por VHD se detectaron en 22/75 (29,33%) de los casos. En los controles se encontró una prevalencia de Anti-HBc del 27,33% y se identificaron tres casos de infección oculta por VHB.

En el análisis filogenético se caracterizó el genotipo F en 13 muestras (cinco subgenotipo F1b, siete subgenotipo F3 y una subgenotipo F4) y el genotipo D en siete secuencias. Se identificaron las mutaciones Q3L y P36T en PreS1 y en el dominio S se caracterizaron las mutaciones A17G, L94Q, Y100C, Y100S, T114P, G145A, y W199G. El genotipo III de VHD se caracterizó en 8/18 muestras y genotipo I en 10/18 muestras.

Los resultados del estudio demuestran que la infección por VHB y VHD representa un problema de salud pública de estas comunidades indígenas, en particular las pertenecientes a los departamentos de Amazonas y Guaviare. Es de anotar la alta prevalencia de coinfección/superinfección por VHB y VHD (24%) en la población de estudio. Identificamos por primera vez en Colombia el genotipo I de VHD y la presencia de nuevos genotipos de VHB, F3, F4 y D, en comunidades indígenas. Este estudio demuestra la necesidad de abordar esta problemática de salud pública en las comunidades indígenas desde una mirada interdisciplinaria para fortalecer la prevención por medio de la vacunación, el diagnóstico, búsqueda activa y seguimiento de casos.

Palabras clave: VHB, VHD, población indígena, Colombia

Abstract

The World Health Organization estimates 296 million people with chronic hepatitis B virus (HBV) infection and 820,000 deaths/year related to this infection. Despite the universal vaccination program, there are still regions with a high prevalence of Hepatitis B, such as the Amazon basin, where several indigenous communities live. On the other hand, Hepatitis Delta Virus (HDV) infects approximately 4.5% of HBV surface antigen (HBsAg) positive people globally, since HDV uses HBsAg to assemble the viral particle. HBV/HDV coinfection or superinfection can be associated with severe conditions. Among the populations with a high prevalence of Hepatitis Delta are the indigenous communities of America.

This study aims to characterize the serological and molecular markers of HBV and HDV infection in indigenous people from four states of Colombia. Fieldwork was carried out after identifying the cases of hepatitis B corresponding to indigenous people notified to Sivigila between 2015 and 2022 in the states of Amazonas, Guaviare, Antioquia and La Guajira. For each case that agreed to participate in the study, two controls of the same ethnic group, paired by sex and age, were selected.

The Hepatitis B diagnosis in the cases, was confirmed with the detection of HBsAg and anti-HBc markers (IgM and total) by ELISA. In addition, the serum levels of the ALT and AST enzymes and the HBeAg and Anti-HBe markers were evaluated in samples from cases with chronic infection and serum levels above the normal level of transaminases. In all samples with HBV infection markers, the presence of the Total Anti-HDV was evaluated.

An attempt was made to amplify the HBV and HDV genome by PCR and RT-PCR in all the samples from the cases, after extraction of the total DNA and viral RNA, respectively. Subsequently, the amplicons corresponding to the S (422-758nt), preS1 (2440-58nt) and preS2 (3006-213nt) regions of the HBV genome and the HDAg-coding region (887-1290nt) of the HDV genome were sequenced. A phylogenetic analysis was carried out using the Maximum Likelihood and Bayesian method for the characterization of the viral genotypes, and HBV escape variants were identified by amino acid sequence analysis.

A total of 75 cases of hepatitis B reported to Sivigila, and 150 controls were studied. Most of the cases presented markers of chronic hepatitis B (62.67%), one case with markers of reactivation (1.33%), six with resolution of the infection (8%), and 19 cases (25, 3%) without markers of HBV infection. The HBV genome was detected in 20/75 (26.67%) and the HDV genome in 18/75 (24%) samples of the cases. Serological and/or molecular markers of HDV infection were detected in 22/75 (29.33%) of the cases. In the controls, a prevalence of Anti-HBc of 27.33% was found and three cases of hidden HBV infection were identified.

In the phylogenetic analysis, the F genotype was characterized in 13 samples (five F1b subgenotypes, seven F3 subgenotypes, and one F4 subgenotype) and the D genotype in seven sequences. The Q3L and P36T mutations were identified in PreS1, and the A17G, L94Q, Y100C, Y100S, T114P, G145A, and W199G mutations were characterized in the S domain. HDV genotype III was characterized in 8/18 samples and genotype I in 10/18 samples.

The results of the study show that HBV and HDV infection represent a public health problem in these indigenous communities, particularly those belonging to the departments of Amazonas and Guaviare. It is noteworthy the high prevalence of coinfection/superinfection by HBV and HDV (24%) in the study population. We identified for the first time in Colombia the HDV genotype I and the presence of new HBV genotypes, F3, F4 and D, in indigenous communities. This study demonstrates the need to address this public health problem in indigenous communities from an interdisciplinary perspective to strengthen prevention through vaccination, diagnosis, active search and follow-up of cases. **Keywords:** HBV, HDV, indigenous people, Colombia.

Marco teórico

Virus de la Hepatitis B

El Virus de la Hepatitis B (VHB) está clasificado en la familia *Hepadnaviridae*, género *Orthohepadnavirus* (1). Es un virus envuelto, con un diámetro de 42 nm y un genoma de ADN, de doble cadena parcial, de aproximadamente 3,2 kb. El genoma presenta dos “*enhancers*” (Enh1 y Enh2), cuatro promotores (core, S1, S2 y X), cuatro marcos de lectura abiertos (ORF), una señal de poliadenilación y dos secuencias repetitivas (DR1 y DR2) (Figura 1) (1).

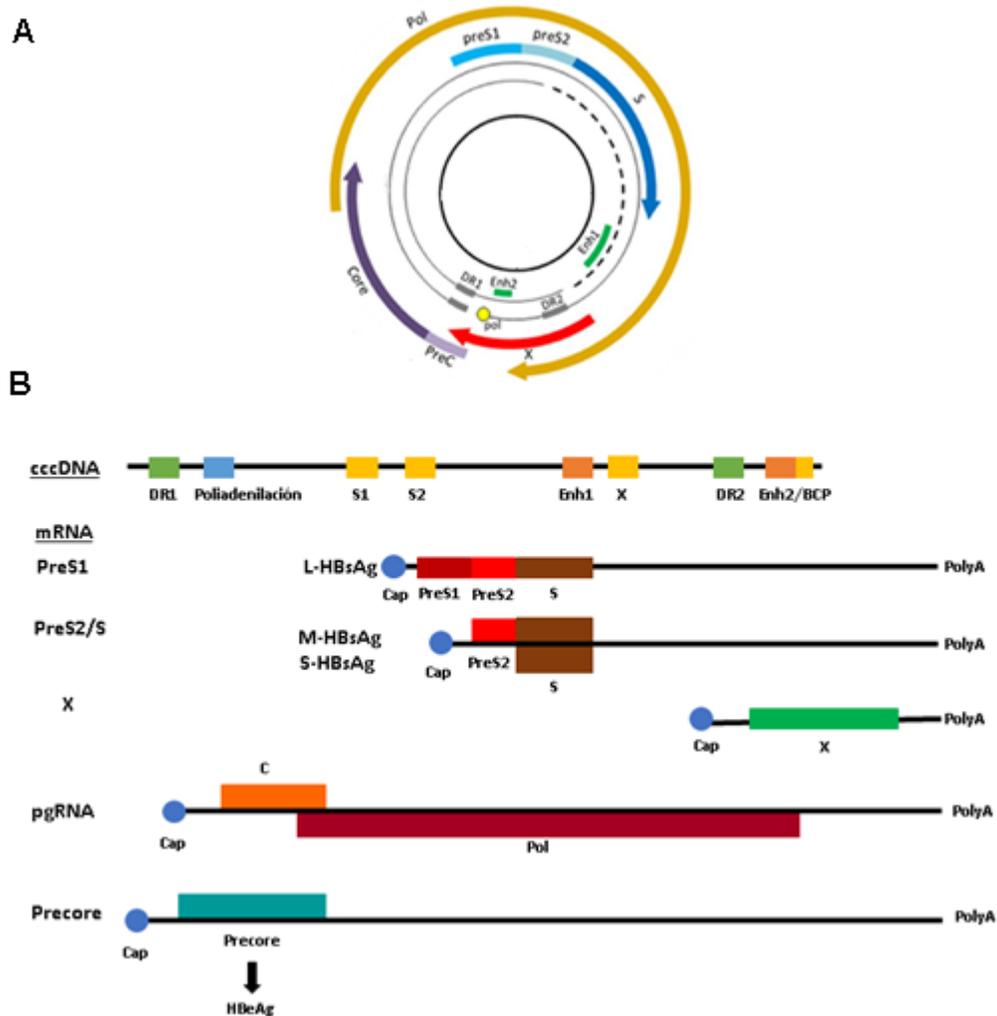


Figura 1. Organización genómica de VHB.

A. Los ORFs de VHB se encuentran representados en semicírculos. **B.** Se representan los cinco mARN que se transcriben a partir del cccADN. Figura adaptada de Minor M et al., 2014 y Karayiannis et al., 2017 (1,2).

El ORF Core/Pre-Core codifica las proteínas Core, 21 KDa, y el antígeno e (HBeAg), 25 KDa (2). Core es la subunidad estructural de la cápside, tiene un dominio C-terminal que permite la interacción con la polimerasa viral en complejo con la estructura secundaria ϵ del ARN pregenómico (pgARN) y un dominio N-terminal que participa en la formación de homodímeros para el ensamblaje de la cápside de simetría icosaédrica (2). También se ha descrito que la proteína Core regula la replicación de VHB y el transporte de la nucleocápside al núcleo de la célula blanco (4-9). El HBeAg es dispensable para la replicación; sin embargo, es una proteína que hace parte de los mecanismos de inmunotolerancia y de inmunomodulación, importantes en el desarrollo de una infección crónica (Tabla 1) (1–3).

El ORF P codifica la polimerasa viral conformada por cuatro dominios (1). El dominio terminal tiene función primasa para iniciar la síntesis de la cadena negativa de ADN viral. El dominio espaciador es variable y permite la conformación de la estructura terciaria de la polimerasa para interactuar con la región ϵ . El dominio polimerasa con actividad transcriptasa reversa (RT) y DNA polimerasa, y el dominio RNasa H (4).

El ORF X codifica para la proteína X, la cual tiene funciones pleiotrópicas como regulación positiva de la transcripción de los mARN a partir del genoma viral, transactivación de genes celulares, e interacción con proteínas celulares de regulación de proliferación celular, reparación del ADN celular y apoptosis (5).

El ORF S incluye las regiones PreS1, PreS2 y S que codifican para las tres isoformas del HBsAg (L, M y S). El L-HBsAg está conformado por los dominios PreS1, PreS2 y S; el M-HBsAg por los dominios PreS2 y S y el S-HBsAg por el dominio S (1). El dominio S presente en las tres isoformas del HBsAg se caracteriza por presentar una región hidrofóbica altamente conservada, importante en el reconocimiento antigénico. En esta región se encuentra el determinante “a” que es el epítoto inmunodominante del HBsAg y altamente conservado (Tabla 1) (6).

Tabla 1. Proteínas de VHB.

Se presentan las principales funciones de las proteínas Core, HBeAg, polimerasa viral, X y HBsAg. Elaboración propia.

Proteínas de VHB	Función
Core	Subunidad estructural de la cápside
HBeAg	Inmunomodulación
Polimerasa	Transcripción reversa, síntesis de la cadena positiva y negativa de ADN, degradación del pgARN (excepto 18 nt)
X	Transactivador que regula la expresión de VHB y de genes celulares. Modula la transducción de señales de vías como Tp53, Wnt/ β -catenina, JNK entre otros.
HBsAg	Antígeno de superficie con tres isoformas (S-HBsAg, M-HBsAg y L-HBsAg). L-HBsAg: dominio de unión al receptor NTCP (PreS1) M-HBsAg: dominio de unión a la nucleocápside (PreS2) S-HBsAg: dominio de unión al glypican-5 (S)

Ciclo de replicación de VHB

El S-HBsAg se une a proteoglicanos de heparán sulfato como el glypican-5 durante la fase de adhesión de la partícula viral al hepatocito, y luego el L-HBsAg, específicamente el dominio PreS1, interactúa con el receptor polipéptido cotransportador de Na⁺-taurocolato (NTCP) para mediar la entrada del virión por endocitosis (7). Por mecanismos que aún no han sido completamente dilucidados la nucleocápside es transportada a la membrana nuclear (7) y durante este proceso se da la descapsidación y se libera el ADN circular relajado (rcADN) en el núcleo (**Figura 2**) (1).

En el núcleo del hepatocito, el rcADN es reparado por polimerasas celulares formando un ADN circular de doble cadena conocido como ADN circular covalentemente cerrado (cccADN), que es muy estable dado que forma un minicromosoma por interacción con las histonas celulares H1, H2ab y H3 y las proteínas X y Core (7). La transcripción de los cinco mRNA a partir del cccADN es mediada por la ARN polimerasa II celular: pgARN, ARN precore, ARN 2,4 kb, ARN 2,1 kb y ARN 0,7 kb (8).

La estructura secundaria ϵ del pgARN es reconocida por el dominio TP de la polimerasa viral y forman un complejo (1). La proteína Core se dimeriza y reconoce este complejo para su encapsidación (1). ϵ posee una secuencia 5'-UUC-3' necesaria para que el dominio TP de la polimerasa realice el "priming" gracias a un dGTP que está unido al residuo Y63 y que usado para formar un 5'-dGAA-3'(7). El complejo Pol-dGAA se transloca al DR1 para la síntesis de la cadena negativa de ADN complementaria; luego el pgARN es degradado parcialmente por el dominio RNasa H de la polimerasa.

Posteriormente, la secuencia del pgARN se transloca del DR1 al DR2 para iniciar la síntesis parcial de la cadena positiva de ADN para dar lugar al rcADN (9).

Las nucleocápsides con el rcADN presentes en el citoplasma celular pueden ser transportadas de nuevo al núcleo para la reparación y generación de más copias de cccADN o puede adquirir la envoltura en el retículo endoplásmico donde se encuentran las isoformas del HBsAg y salir de la célula por medio del sistema excretorio (1,10).

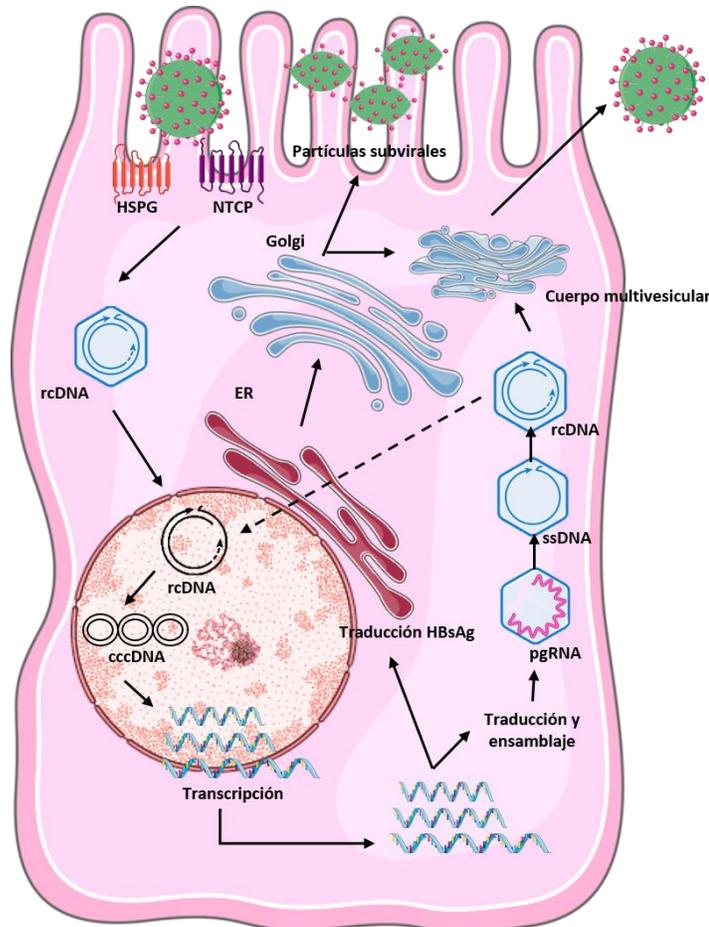


Figura 2. Ciclo de replicación del Virus de la Hepatitis B.

Esquema de los principales pasos de la replicación de VHB. Elaboración propia.

Partículas subvirales

Durante el ciclo de replicación del VHB se producen viriones conocidas como partículas Dane. Adicionalmente, se producen partículas subvirales (PSV) (11), conformadas por la bicapa lipídica y el HBsAg en ausencia de la nucleocápside, que se producen 10.000 a 100.000 veces más que los viriones. Recientemente se han descrito

partículas que poseen cápside pero sin genoma, que se producen 100 veces más, y las partículas que contienen pgARN, ARN, o ADN de cadena sencilla de VHB, que se producen en menor cantidad (11) (**Figura 3**).

Las PSV suelen tener una mayor cantidad de S-HBsAg y una menor proporción de L-HBsAg (12). Estas partículas cumplen un papel importante en la evasión del sistema inmune gracias al reconocimiento por anticuerpos neutralizantes anti-HBsAg (11), además en la respuesta de linfocitos B y T con perfil de agotamiento en la infección crónica (12).

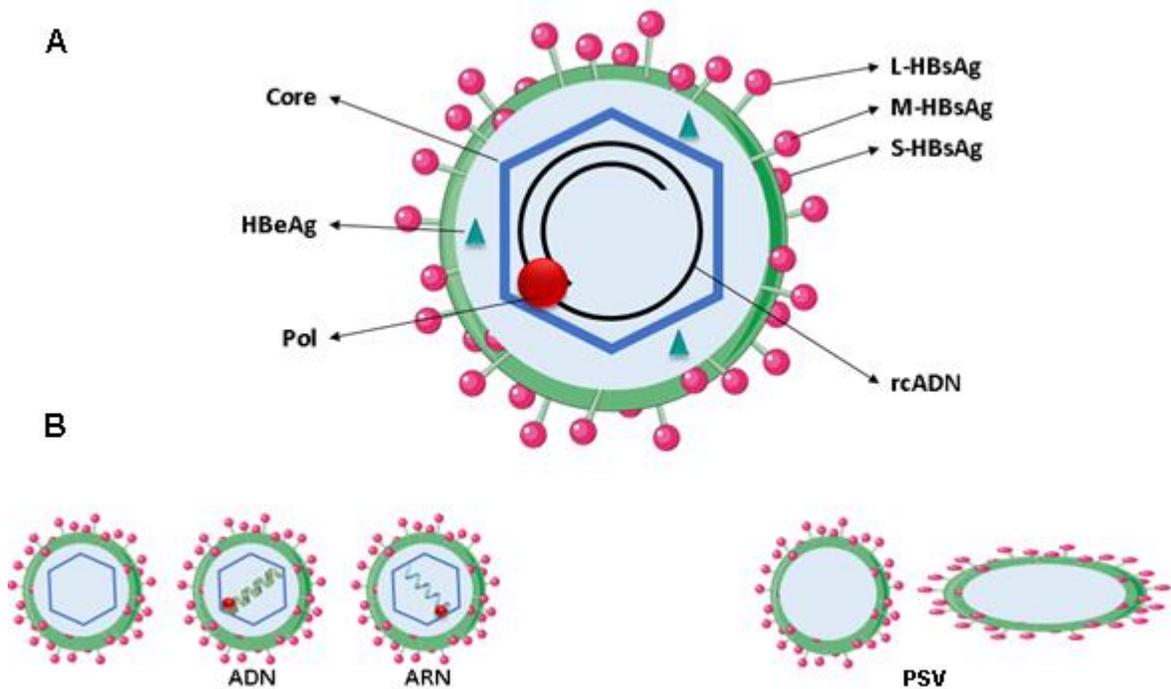


Figura 3. Representación de las diferentes partículas subvirales que se generan durante la replicación del VHB.

En la parte superior se observa la partícula Dane y en la parte inferior los diferentes tipos de partículas subvirales (PSV). Imagen adaptada y modificada de S. Tsukuda and K. Watashi et al., 2020 (7).

Historia natural de la infección por VHB

El VHB es un virus hepatotrópico que puede causar infección transitoria o infección crónica, con riesgo de progresión a cirrosis y/o carcinoma hepatocelular (CHC) (2). Las rutas de transmisión de VHB son horizontal, sexual y parenteral y la transmisión vertical (8).

El desarrollo de la infección crónica depende de la edad de contagio, los niños menores de un año progresan a infección crónica en el 90% de los casos, los menores de 5 años entre el 20-60% y los adultos en menos del 5% (13). Los principales marcadores para el diagnóstico de la infección se describen en la siguiente tabla (**Tabla 2**).

Tabla 2. Marcadores de la infección por VHB.

Información adaptada de Villar et al., 2015 (14)

Marcador	Significancia clínica en el diagnóstico
HBsAg	Primer marcador que aparece con la infección de VHB. Cuando HBsAg persiste por más de seis meses indica una infección crónica.
Anti-HBc IgM	Marcador serológico de infección aguda o reciente.
Anti-HBc Total	Anticuerpos que indican exposición al VHB previa o infección activa según el perfil de otros marcadores de infección.
HBeAg	Indica una infección activa con altas tasas de replicación viral.
Anti-HBe	Detectable en casos de resolución de la infección y en casos de infección crónica luego de la seroconversión de HBeAg a anti-HBe.
Anti-HBs	Detectable en casos de resolución de la infección o en individuos vacunados.
ADN VHB	Primer marcador de infección. La carga viral puede variar según la fase de la infección.

Durante la infección transitoria, se presentan niveles altos de carga viral (>20.000 UI/ml), HBsAg+, HBeAg+, Anti-HBc IgM+, y puede haber aumento de los niveles séricos de las enzimas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). Luego del aclaramiento viral, se detectan los marcadores serológicos Anti-HBc Total, Anti-HBe y Anti-HBs (15).

Cuatro fases de infección crónica con un perfil serológico diferencial han sido descritas (16) (**Figura 4**) :

- Infección crónica HBeAg+, alta carga viral, y niveles normales de ALT y AST.
- Hepatitis crónica HBeAg+, niveles fluctuantes de carga viral, necro-inflamación hepática y fibrosis y aumento del nivel sérico de ALT y AST.
- Infección crónica HBeAg-, Anti-HBe+, baja carga viral (<200UI/ml) y nivel normal de ALT y AST.
- Hepatitis crónica HBeAg-, Anti-HBe+, niveles fluctuantes de carga viral y de ALT y AST.

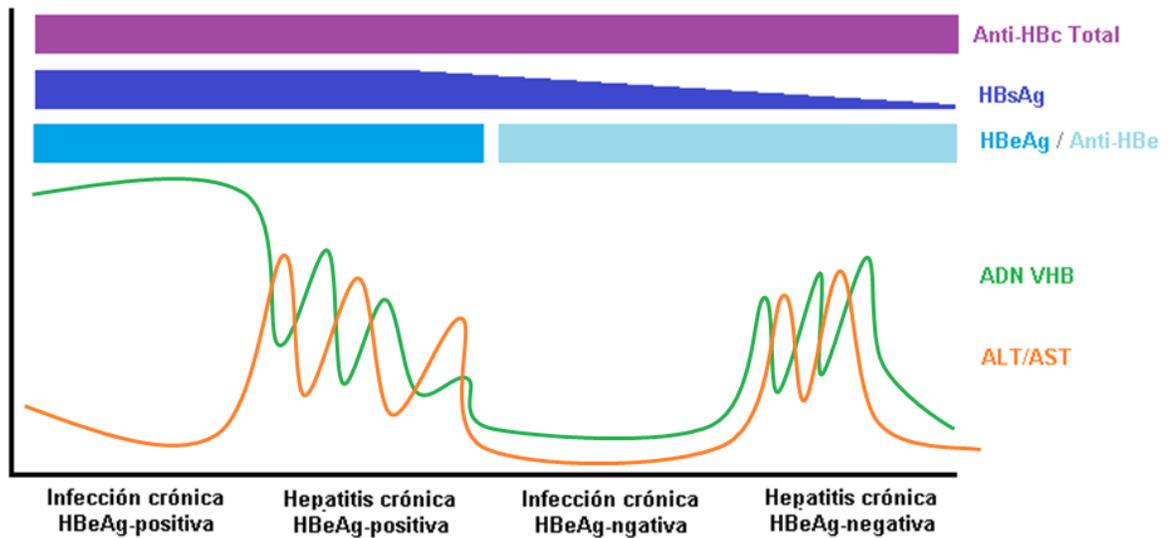


Figura 4. Fases de la infección crónica por VHB.

Se muestra la relación entre diferentes marcadores serológicos, las enzimas de función hepática alanina aminotransferasas (ATL) y aspartato aminotransferasa (AST) y carga viral (ADN VHB). Figurada adaptada de Lau et al., 2020 (17).

Existen diversos factores que pueden afectar este desenlace clínico, tales como el genotipo de VHB, mutaciones en el genoma viral, la carga viral y edad del paciente, entre otros (18). La progresión a fibrosis y cirrosis en los pacientes HBeAg+ es de 2-5,5% por año y de 8 a 20% en cinco años. La seroconversión temprana a Anti-HBe+ es una señal de posible remisión y de buen pronóstico, aunque depende del grado de daño hepático (8).

Infección Oculta por VHB (OBI)

En el año 1979 se describió por primera vez la Infección Oculta por VHB (OBI), que se caracteriza por una baja carga viral (<200 UI/ml), HBsAg- y en el 80% de los casos Anti-HBc+ (19). De acuerdo al perfil serológico que presente la persona infectada, el OBI se puede dividir en diferentes categorías (20):

- OBI seropositivo: En casos HBsAg-, Anti-HBc+ y Anti-HBs+ se puede haber perdido el HBsAg después de la resolución clínica o durante la infección crónica (20).
- OBI seronegativo: en casos HBsAg-, Anti-HBc- y Anti-HBs- que se presenta en 1-20% de OBI. Los individuos pueden perder estos anticuerpos Anti-HBc progresivamente a lo largo del tiempo (OBI seronegativo secundario), o nunca haberlos desarrollado (OBI seronegativo primario) (20).

Se han planteado diversos mecanismos de patogénesis de OBI, como mutaciones en la secuencia del determinante “a” o en las regiones PreS1 y PreS2 que generan cambios estructurales en el HBsAg y por tanto no es detectable en los inmunoensayos (21). Se ha propuesto que mutaciones en los promotores del genoma de VHB y variaciones en el “*splicing*” pueden reducir el nivel de expresión del HBsAg por debajo del límite de detección (21). Por último, diferentes patrones de metilación del cccADN y desacetilación de las histonas en el minicromosoma de VHB se han asociado con el desarrollo de OBI (21,22).

Rendón y colaboradores llevaron a cabo un estudio en 50 muestras de explante hepático obtenido de pacientes con hepatopatías terminales sometidos a trasplante entre 2002-2008 en un hospital de Medellín. Los casos de OBI fueron identificados en muestras de pacientes HBsAg- en las que se amplificaron al menos dos regiones del genoma viral (S, X y/o Core). En total se caracterizaron 5/50 (10%) casos de OBI (22). En muestras de donantes de un banco de sangre en Medellín se identificaron 6 casos de OBI a partir de 302 muestras con marcadores HBsAg-/anti-HBc+ (23). Casos de OBI también se describieron en 8,7% de muestras de pacientes con coinfección VIH-VHB (24).

Vacuna contra la infección por VHB

El programa ampliado de inmunizaciones (PAI) fue implementado en América en 1977 por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (25). Actualmente, el programa nacional de vacunación incluye la vacuna monovalente y la pentavalente para hepatitis B, difteria, tosferina, tétano y *Haemophilus influenzae* tipo B (26).

En Colombia la vacunación para hepatitis B inició en 1992 en niños menores de cinco años del departamento de Amazonas usando el esquema de tres dosis de vacuna recombinante monovalente. En 2001 este esquema fue modificado por la dosis del recién nacido (primeras 12 horas del nacimiento) con una vacuna monovalente, y tres dosis a los dos, cuatro y seis meses de vida con la vacuna pentavalente (27).

La cobertura de vacunación de la primera dosis en recién nacidos fue de 80,60% en 2019 en el país; sin embargo, esta cobertura puede variar según el departamento: Guaviare 93,70%, La Guajira 93,40%, Antioquia 66,50%, Amazonas 59,70% y Vaupés 37,0% de cobertura (28). En el informe de evaluación del avance en el cumplimiento de la meta de eliminación de la Hepatitis B en niños y niñas de 5 a 10 en Colombia publicado en el 2020, el 89,9% de los niños tenía carné de vacunación y la cobertura se estimó en 94,5% para la dosis del recién nacido, y entre 95-96,2% para las otras dosis (29).

En otros estudios llevados a cabo con niños del departamento de Amazonas después de la implementación de la vacuna recombinante del recién nacido en el 2001, encontraron una alta cobertura de vacunación, entre el 88-98% (30–32). Sin embargo, reportan que sólo el 25-30,7% de los neonatos fueron vacunados en las primeras 24 horas de vida (30–32). De la Hoz y colaboradores describieron que cuando la administración de la primera dosis superó los dos meses, se asoció con un mayor riesgo de ser HBsAg positivo, especialmente los que fueron vacunados después de los dos años (OR=12,5, 95% CI 1,2—125,7) (31).

Variantes de escape

Como se anotó anteriormente, las 3 isoformas, L-HBsAg, M-HBsAg y S-HBsAg presentan determinante “a” en el dominio S, conformado por los aminoácidos 124-147; este determinante corresponde a un región inmunodominante reconocida por los anticuerpos generados en respuesta a la vacuna o a una infección natural (33). Se han

identificado mutaciones puntuales y deleciones en las regiones S, PreS1 y PreS2 que se han asociado con la disminución de la afinidad de los anticuerpos Anti-HBs y por tanto a casos de infección en individuos vacunados, lo que se conoce como variante de escape (33).

El primer reporte de variante de escape de VHB se realizó por Carman y colaboradores en 1990 en un niño de nacionalidad italiana, nacido de una madre HBsAg+/HBeAg+, que contaba con inmunoprofilaxis y esquema de vacunación (34). Desde entonces se han reportado diversas variantes de escape, siendo el cambio de arginina por glicina en la posición 145 (G145R) una de las mutaciones más descritas en la literatura (35).

Tabla 3. Mutaciones en el HBsAg descritas en estudios realizados en Colombia.

Mutación	Implicación Biológica	Referencia
N37D	-	Rendon JC et al., 2017
Q51E	-	Rendon JC et al., 2017
N52K	-	Peláez-Carvajal D et al., 2018
C60Y	-	Rendon JC et al., 2017
G70T	-	Rendon JC et al., 2017
R73H	-	Rendon JC et al., 2017
C76F	-	Rendon JC et al., 2017
C99*	-	Rendon JC et al., 2017
Y100H	-	Rios-Ocampo WA et al., 2014
Q101H	-	Rendon JC et al., 2017
L109R	Posible mutación de escape	Bautista-Amorocho H et al., 2014
P120Q	Mutación de escape	Bautista-Amorocho H et al., 2014
G130E	-	Jaramillo CM et al., 2017
M133L	-	Rendon JC et al., 2017
K141N	-	Rios-Ocampo WA et al., 2014
G145R	Mutación de escape	Jaramillo CM et al., 2017
C149R	-	Bautista-Amorocho H et al., 2014
W156*	Mutación de escape, OBI	Jaramillo CM et al., 2017
L158G	-	Mora MVA et al., 2010
G159R	Mutación de escape	Bautista-Amorocho H et al., 2014
F161Y	-	Mora MVA et al., 2010
V184A	-	Rios-Ocampo WA et al., 2014
I195M	-	Rendon JC et al., 2017
W196S	-	Rendon JC et al., 2017
I255M	-	Rendon JC et al., 2017
F259V	-	Rendon JC et al., 2017

A1392G	Mutación Sinónima	Rios-Ocampo WA et al., 2014
C1602A	Mutación Sinónima	Rios-Ocampo WA et al., 2014
A1623G	Mutación Sinónima	Rios-Ocampo WA et al., 2014
C1638T	Mutación Sinónima	Rios-Ocampo WA et al., 2014
Δ3113-35	Posible mutación de escape, por determinar	Peláez-Carvajal D et al., 2018

En algunas mutaciones de aminoácido no se conoce la implicación biológica. Elaboración propia.

En el estudio de Jaramillo y colaboradores en comunidades indígenas del Amazonas se reportó la circulación de aislados de VHB con las mutaciones de escape G145R en una madre y de la mutación W156*, que genera un codón de parada del HBsAg, en un niño (33). También en casos de OBI, Rendón y colaboradores reportaron en pacientes con hepatopatías terminales las mutaciones N37D en PreS1, en la región de unión al receptor, y Q51E, N52K, C60Y, G70T, I255M, F259V, C76F, C99*, I195M, W196S, R73H, en el dominio S; las últimas tres reportadas anteriormente en la literatura (22).

En el estudio de Peláez-Carvajal y colaboradores en el cual se incluyeron 495 muestras de suero de casos con diagnóstico de hepatitis B remitidos al Laboratorio de Virología del INS, se identificaron las mutaciones L180M y M204V asociadas a resistencia a lamivudina, entecavir, y telbivudina y I169L asociada con resistencia a ETV, P120Q reportada como variante de escape y la deleción Δ3113-35, región que codifica para el HBsAg (36).

Asimismo, en seis muestras de donantes de sangre con OBI se identificaron las mutaciones sinónimas en el ORF S, C1602A, C1638T, A1623G y los cambios en los aminoácidos Y100H, V184A y K141N. También las mutaciones en dominio RT de la polimerasa viral rtL108P, rtR110G, rtL180M, rtR192C, rtI187V y rtT150S (23).

Epidemiología de la infección por VHB

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima 296 millones de personas con infección crónica por VHB y alrededor de 820.000 muertes relacionadas con este virus (37). En 2016 se estimó una prevalencia global para hepatitis B del 3,9% (IC 95: 3,4-4,6%) con acceso a diagnóstico el 10% y tratamiento el 5% de los casos (8).

La infección por VHB es más prevalente en el Sudeste Asiático, en África, especialmente en la región subsahariana, en la región occidental del Pacífico; en China se encuentran cerca del 50% de los casos de hepatitis B a nivel mundial (38,39). En la región del este del Mediterráneo se ha descrito una prevalencia promedio del 3,3%, y prevalencias mayores en Pakistán (4,5%), Yemen (12,7%), Sudan (8,2%), y Somalia (5,6%) (39). En Latino América y el Caribe se estima una prevalencia de baja a intermedia, con regiones endémicas en Haití y en la Cuenca Amazónica (39,40).

Epidemiología de la infección por VHB en Colombia

En el año 2021 se notificaron 1.999 casos de hepatitis B en el sistema de vigilancia epidemiológica (SIVIGILA) del Instituto Nacional de Salud (INS). Según la notificación, en la última década (2011-2021) la incidencia promedio de la infección por VHB presenta un rango entre 2,5-4,68 por 100.000 habitantes. Sin embargo, algunas entidades territoriales como Amazonas y Guaviare han tenido históricamente incidencias altas de Hepatitis B, tal como en el 2021 con incidencias de 29,8 y 28,3, respectivamente (**Figura 5**) (41).

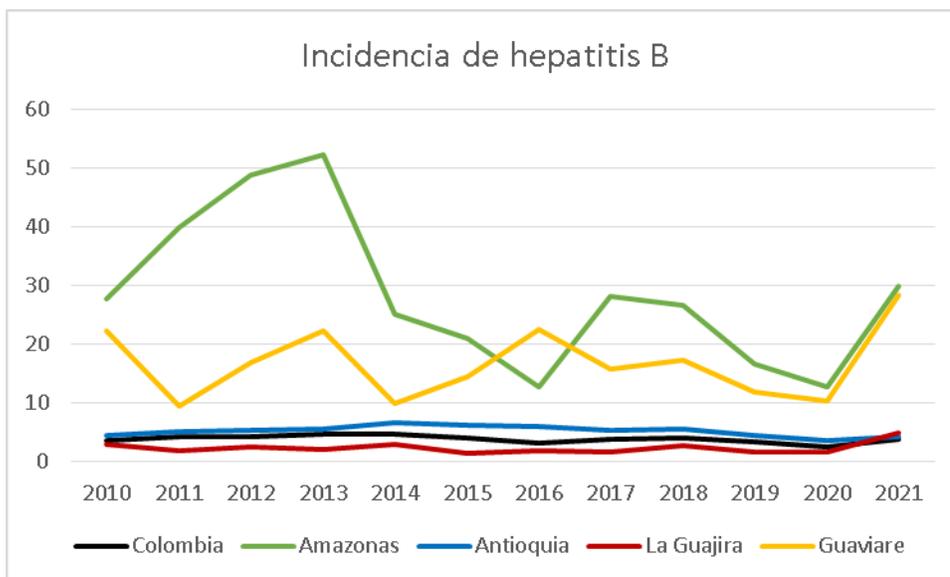


Figura 5. Incidencia de la infección por VHB en Colombia en el periodo 2010-2020.

Datos tomados de los Informes de Evento del INS 2010-2021. Incidencia por 100.000 habitantes. Se muestra la incidencia de hepatitis B en Colombia (negro) y en los departamentos Amazonas (verde), Antioquia (azul), La Guajira (rojo) y Guaviare (Amarillo). Elaboración propia.

Además de la notificación, la epidemiología de la Hepatitis B se ha descrito en diferentes estudios como el realizado en el año 2019 en el que se incluyeron 5.771 personas. El estudio de la Fundación Antioqueña de Infectología incluyó población general, población LGBT, habitantes de calle, reclusos, trabajadores sexuales, jóvenes vulnerables y usuarios de drogas inyectables (42). La frecuencia de infección por VHB fue mayor en usuarios de drogas inyectables (5,94% $p < 0,01$), en HSH (0,63% $p < 0,05$), y en población afrocolombiana (2,78% $p < 0,01$). En el análisis multivariado encuentran que la probabilidad de estar infectados con VHB es 5 veces mayor en HSH, habitantes de calle y en jóvenes vulnerables; 3,7 veces en trabajadores sexuales y 33,7 veces en usuarios de drogas intravenosas comparado con población general (42).

En otros estudios en poblaciones como donantes de sangre en Medellín se encontró una prevalencia de infección por VHB de 0,2% (43), en pacientes con cirrosis y/o carcinoma hepatocelular del 10,7-58,1% (44,45), y en personas con infección por VIH una prevalencia de VHB del 12-38,6% (24,46) (Tabla 4).

Los estudios en poblaciones indígenas han sido de particular interés por la alta prevalencia, especialmente en la Amazonía (47). En 1989 fue reportado un brote de casos de falla hepática aguda en un internado de niños y adolescentes indígenas por lo cual se llevó a cabo un estudio en estas comunidades, y se encontró una prevalencia de infección por VHB de 50% en niños <10 años y 71% en >10 años (48). Posteriormente se realizó un segundo estudio en la misma comunidad en el cual se reportó una prevalencia del 61% en niños indígenas menores de 15 años (49).

Luego de ocho años de la implementación de la vacuna recombinante, se realizó un estudio con 2.145 niños del departamento de Amazonas. La prevalencia de Anti-HBc fue de 6,2% y de HBsAg de 1,1%, siendo mayor la prevalencia en las zonas rurales comparada con las urbanas y en niños de etnia indígena (31). En un estudio realizado entre 2011-2012 en niños indígenas menores de 11 años en diferentes comunidades del departamento se encontró una prevalencia de Anti-HBc del 3,6% y de Anti-HBc+/HBsAg+ del 0,5% (27,33). Adicionalmente, se encontró una prevalencia del 30,9% para Anti-HBc y de Anti-HBc+/HBsAg+ 9% en las madres (37).

Recientemente fue publicada la evaluación del avance en el cumplimiento de la meta de eliminación de la Hepatitis B en Colombia (29). En el análisis se incluyeron

muestras obtenidas de niños y niñas de 5 a 10 años de 36 municipios seleccionados de 16 departamentos. De los 3.203 niños del estudio, el 45,1% correspondían a etnia afrodescendiente, el 13,3% etnia indígena y el 41,6% no perteneciente a alguna etnia. Todas las 3.203 muestras del estudio fueron negativas para HBsAg por prueba rápida (29).

Tabla 4. Estudios de prevalencia de Hepatitis B en diferentes poblaciones de Colombia.

Elaboración propia.

Año	Población	Muestra	Prevalencia			Referencia
			HBsAg (%)	Anti-HBc (%)	ADN-VHB (%)	
2020	Niños y niñas de 5 a 10 años de edad de 36 municipios	3203	0,00			Ríos-Hincapié et al., 2022
2019	Población general	2624	0,15			Cardona-Arias et al., 2020
	HSH	1100	0,27			
	Sin hogar	1061	0,37			
	Trabajadoras sexuales	380	0,26			
	Jóvenes vulnerables	260	0,39			
	Personas que se inyectan	202	5,94			
No especificado	Indígenas	697	5,66	28,43		Alvarado-Mora et al., 2011
	Trabajadoras sexuales					
	Personal de salud					
	Desplazados					
2011-2013	Indígenas > 18 años Amazonas	862	2,6		39,13 (9/23)	di Filippo et al., 2015
2011-2012	Indígenas < 11 años Amazonas	1275	0,5	3,6	8,3	Jaramillo et al., 2017
	Madres indígenas Amazonas	572	9	30,9	3,1	
2011	Donantes de sangre (OBI)	302	-		1,99	Rios-Ocampo et al., 2014
2009-2010	VIH+	275	12	29,20	10,91	Bautista-Amorocho at al., 2014
2009	Población general	2077	0,20	0,04		Cadavid-Betancur et al., 2017
2007-2010	Donantes de sangre en Medellín	65535	0,2			Bedoya et al., 2012
2007	Niños 1-12 años Amazonas	2145		6,2		De la Hoz et al., 2008
2002-2008	Cirrosis y/o CHC (OBI)	50	-		10	Rendon et al., 2017
2005-2007	Cirrosis y/o CHC	131	10,7			Cortes-Mancera et al., 2011

2000-2007	Cirrosis y/o CHC	43			53,49	Navas et al., 2011
2002-2004	VIH+	251	2,1	38,6		Hoyos-Orrego et al., 2006
1992	Indígenas edad 8-15 años Amazonas	198		61		Hoz et al., 1992
1988-1991	Indígenas	404	18	66		Durán et al., 1991

Genotipos de VHB

Se han descrito diez genotipos del VHB (A-J), con una diversidad genética de más del 8%, y 40 subgenotipos con una divergencia genética de más del 4% (50). El genotipo A es más prevalente en África Sub-Sahariana, el occidente de África y el norte de Europa; los genotipos B y C en Asia, el genotipo D en África, Europa, el Mediterráneo e India; el genotipo E en África, el genotipo F en América, el genotipo G en Francia, Alemania y Estados Unidos; y el genotipo H en Centro América. El genotipo I fue reportado en Vietnam y Laos, y el genotipo J en Japón (51,52).

El genotipo F es autóctono de América y es el genotipo más frecuente en Latinoamérica, exceptuando en México y Brasil donde los principales genotipos son el H y A, respectivamente (53). En Suramérica, el subgenotipo F3 es el más prevalente en Colombia y Venezuela, el subgenotipo F2b también se ha reportado en Venezuela. El subgenotipo F1b ha sido reportado en comunidades indígenas en la cuenca Amazónica en Colombia, Perú y Brasil, y también se distribuye en Chile y Argentina (53–55). Por el contrario, el subgenotipo F1a se ha descrito en Centroamérica, principalmente en Costa Rica y El Salvador (53).

En Brasil son más prevalentes los genotipos A y D; sin embargo, en el norte de este país en regiones rurales donde habitan comunidades indígenas, se ha reportado el subgenotipo F2a (56). Adicionalmente, en Sao Pablo y Paraná, donde residen un número importante de descendientes de migrantes hay circulación de los genotipos B y C (53). En Bolivia y en el norte de Argentina se ha descrito la circulación del subgenotipo F4 y en las áreas urbanas de Argentina es prevalente el genotipo D (57).

El genotipo de VHB se ha relacionado no sólo con la distribución geográfica, sino también con diferencias en el desarrollo clínico de la enfermedad, resistencia a antivirales

y el pronóstico de los casos (50,58). Por ejemplo, se ha descrito que en los casos de infección por el genotipo C hay una mayor elevación del nivel de ALT, riesgo de progresión a CHC y una menor probabilidad de seroconversión comparando con la infección por genotipo B (59). Mientras que se ha descrito una mayor progresión a infección crónica por el genotipo A (60). También se ha descrito una mayor mortalidad en pacientes con infección por VHB genotipos D y F, en comparación con el genotipo A (40,61); así como una menor respuesta al tratamiento con interferón alfa (62).

Distribución de los genotipos de VHB en Colombia

En el país se han reportado los genotipos A, subgenotipos A1, A2, genotipo C, genotipo D, subgenotipo D3, genotipo E y genotipo F, subgenotipos F1a, F1b, y F3 (Tabla 5).

Tabla 5. Genotipos y subgenotipos de VHB reportados en Colombia.

Población de estudio		N	No. De secuencias obtenidas	Genotipo	Prevalencia (%)	Referencia
Pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis Viral	Sueros HBsAg+ remitidos al INS	495	28	A2	14,3%	Peláez-Carvajal D et al., 2018
				F3	85,7%	
Donantes de sangre y	Donantes de sangre de Bogotá y Bucaramanga	50 (Colombia)	50 (Colombia)	A	2%	Devesa M et al., 2008
				C	2%	
				D	8%	
				F3	86%	
	Donantes de sangre y personas asintomáticas HBsAg+	56	11	A	72,7%	Rendón JC et al., 2016
Donantes de sangre (HBsAg- /Anti-HBc+)	302	6	F3	100%	Rios-Ocampo WA et al., 2014	
Donantes de sangre (HBsAg+)	143	21	F3	100%	Alvarado-Mora MV et al., 2011	
Indígenas	Madres y niños indígenas Departamento de Amazonas	31 niños y 159 madres (anti-HBc+)	7	A	14,28%	Jaramillo CM et al., 2017
				F1a	14,28%	
				F1b	71,43%	

	Indígenas > 18 años Departamento de Amazonas	23 (HBsAg + prueba rápida)	9	F1b	100%	di Filippo et al., 2015
Pacientes con cirrosis y/o CHC	Explantes hepáticos de pacientes con Cirrosis y/o CHC (HBsAg-)	50	5	A2	20%	Rendon JC et al., 2017
				D4	20%	
				F1	20%	
	Pacientes con diagnóstico de Cirrosis y/o CHC	131	7	F3	100%	Cortes-Mancera F et al., 2011
Población Afro	Población Afro Departamento de Chocó	60	23	A1	52,17%	Alvarado-Mora et al., 2012
				D3	4,3%	
				E	39,13%	
				F3/A1	4,3%	
	Maternas Afro Departamento de Chocó	9	9	E	100%	Alvarado-Mora MV et al., 2010
Personas VIH+	Personas VIH+	275	15	A	6,2%	Bautista-Amorocho H et al., 2014
				F3	93,8%	

INS: Instituto Nacional de Salud. CHC: carcinoma hepatocelular. Elaboración propia.

En el estudio de Peláez-Carvajal y colaboradores se logró amplificar por el ORF S y dominio RT en 66/495 muestras, y secuenciar 28 muestras. Se identificaron los subgenotipos F3 (85,7%) y A2 (13,3%) (36). Las muestras del subgenotipo F3 provenían de los departamentos de Guainía, Magdalena, Meta, Guaviare, Cauca, Atlántico, Caldas, Boyacá y Córdoba, y las muestras del subgenotipo A2 de los departamentos de Guaviare, Meta y Cundinamarca (36).

Rendón y colaboradores a partir de la amplificación del ORF S del VHB y genotipificación por RFLP y secuenciación, reportaron los genotipos A (72,7%) y F (27,3%) (63) en donantes de sangre. También se identificó el genotipo F3 tanto de donantes con OBI de la ciudad de Medellín (23), como en donantes de sangre de Bogotá y Bucaramanga (64).

En poblaciones indígenas del departamento de Amazonas donde se ha reportado una alta prevalencia de la infección por VHB, Jaramillo y colaboradores reportaron el subgenotipo F1b (71,43%) en las comunidades de San Juan de Atacuari, Naranjales, Puerto Esperanza y Boyahuazu, el subgenotipo F1a (14,28%) en San Juan de Atacuari

y el genotipo A (14,28%) en Tarapacá (33). di Filippo y colaboradores identificaron el genotipo F1b en un estudio en indígenas mayores de 18 años en las comunidades Doce de octubre, Nazareth, Puerto Esperanza, San Juan de Atacuari, Santa Sofía, Puerto Rico y Santarem del departamento de Amazonas (54).

En población afro del departamento del Chocó se han realizado dos estudios. Durante el 2007 se analizaron 60 muestras positivas para HBsAg, de las cuales se amplificó el ORF S en el 48,3%. En esta población los autores describen el genotipo A, subgenotipo A1 (52,17%), el genotipo E (39,13%), el genotipo D, subgenotipo D3 (4,3%), y una muestra recombinante F3/A1 (4,3%) (65). Adicionalmente, en el periodo 2006-2007, se realizó un estudio con nueve muestras positivas para la amplificación de la región S del genoma de VHB que provenían de maternas afro. Cinco de estas muestras pudieron ser secuenciadas y clasificadas como genotipo E (66).

Virus de la Hepatitis Delta

El VHD fue descubierto en la década de 1970 por Rizzetto y colaboradores, quienes reportaron el antígeno delta (HDAg) en pacientes con hepatitis B y se consideró como un nuevo antígeno de VHB (67). Posteriormente, se identificaron las partículas virales por microscopía electrónica y el VHD fue clasificado en el género *Deltavirus* (68). En la reunión del ICTV en 2020 el género *Deltavirus* se clasificó en la familia *Kolmioviridae* (69).

El VHD es un virus de 36nm de diámetro, con una envoltura lipídica con las tres isoformas del HBsAg. El genoma viral es un ARN circular de cadena sencilla y polaridad negativa, con regiones complementarias formando una estructura secundaria en forma de bastón, de aproximadamente 1,7 kb (**Figura 6**) (70).

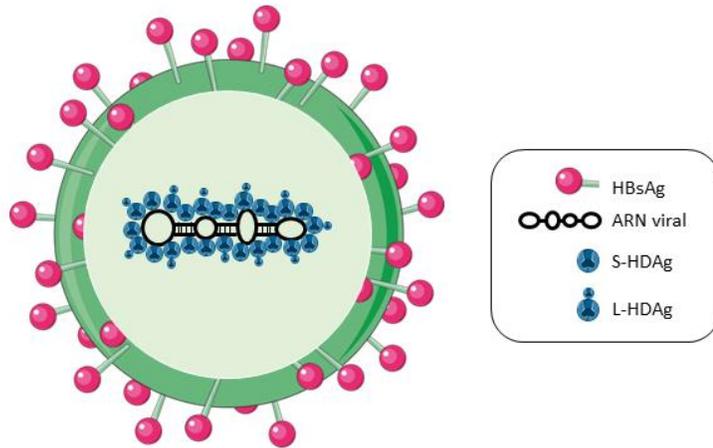


Figura 6. Representación de la partícula viral del VHD.

Elaboración propia.

El ARN de VHD posee un ORF que codifica para el HDAg pequeño (S-HDAg) de 195 aminoácidos (24 kDa). La enzima celular adenosina deaminasa-1 edita el nucleótido en la posición 196 del ARN antigenómico, modificando el codón de parada UAG a UGG, cambiando el marco de lectura y dando lugar a la isoforma larga (L-HDAg) con 19 aminoácidos adicionales en el extremo C-terminal (27 kDa) (70). Ambos HDAg tienen un dominio para la dimerización durante el ensamblaje y dos dominios de unión al ARN (71).

El S-HDAg permite la formación de la ribonucleoproteína por interacción con el genoma viral y regula positivamente la replicación interactuando con factores de transcripción. El L-HDAg por el contrario, regula negativamente la replicación del genoma viral, sufre un proceso postranscripcional en el cual se adiciona un grupo de isoprenil en un residuo de cisteína en la región C-terminal que es esencial para interactuar con el HBsAg y el posterior ensamblaje (70). Adicionalmente, el genoma de VHD posee un dominio de 85 nucleótidos con actividad ribozima necesario para el auto-clivaje durante la replicación del genoma viral (70).

Ciclo de replicación de VHD

El VHD usa el mismo receptor celular que el VHB, NTCP (70). Al entrar por endocitosis al hepatocito, VHD pierde su envoltura y la ribonucleoproteína es traslocada al núcleo gracias a un dominio de localización nuclear en el S-HDAg (72–74) (Figura 7).

La síntesis del ARN genómico se lleva a cabo en el nucleoplasma por la ARN polimerasa II celular y el antígenómico en el nucleolo por actividad de la ARN polimerasa I celular (75).

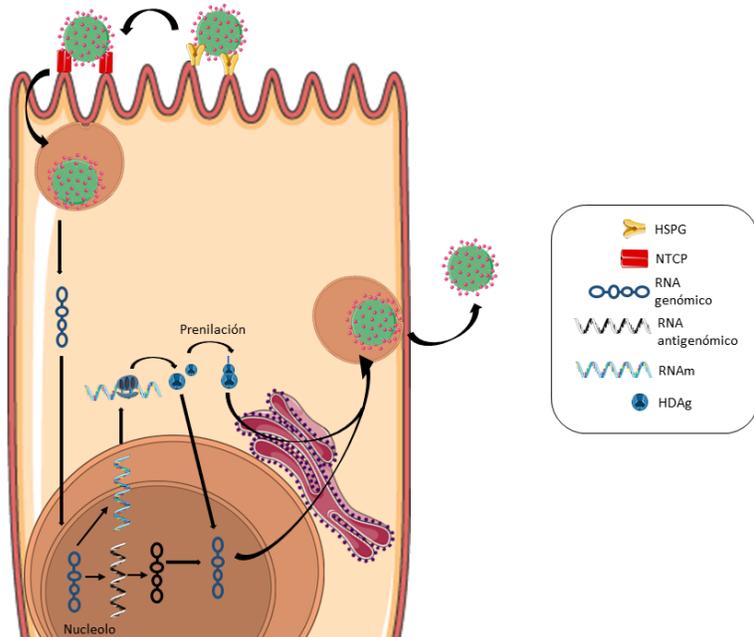


Figura 7. Ciclo de replicación del VHD.

Figura adaptada de Hughes et al., 2011 (70).

La replicación del genoma viral se realiza mediante un mecanismo de círculo rodante, en el cual se sintetiza una cadena de ARN lineal con varias copias concatenadas. Cada una de estas copias tiene el dominio con actividad ribozima para el auto-clivaje, generando moléculas de ARN antígenómico individuales, que son circularizadas por ligasas celulares y estos ARN circulares sirven como molde para sintetizar el ARN genómico (76).

El ARN genómico sirve como molde para sintetizar el ARN mensajero que da lugar al S-HDAg. A partir del ARN antígenómico luego de ser editado por ADAR1, se genera el ARN genómico que sirve como molde para el ARN mensajero para la síntesis al L-HDAg (70).

Luego de la síntesis del S-HDAg se transloca al núcleo para regular positivamente la replicación, mientras que el L-HDAg regula negativamente la replicación del genoma de VHD y favorece el ensamblaje (70). Los S-HDAg y L-HDAg forman octámeros que

interactúan con el ARN genómico, similar a la forma en la que se empaqueta el ADN celular en las histonas (77,78). El L-HDAg sufre una modificación postraduccional, en la cual se da una isoprenilación en la cisteína del C-terminal, señal necesaria para la interacción con el HBsAg y el ensamblaje de la partícula viral (79) (Figura 7).

Historia natural de la infección por VHD

El VHD se transmite principalmente por vía parenteral (70), aunque también se transmite por vía sexual (80). Teniendo en cuenta que el VHD es un tipo de virus satélite de VHB, por su dependencia de HBsAg para el ensamblaje de las partículas virales, se han definido dos tipos de infección: coinfección y superinfección. La coinfección corresponde a la infección simultánea de VHB y VHD; mientras que la superinfección se presenta en individuos con infección crónica por VHB, que posteriormente se infectan con VHD (77). (Figura 8).

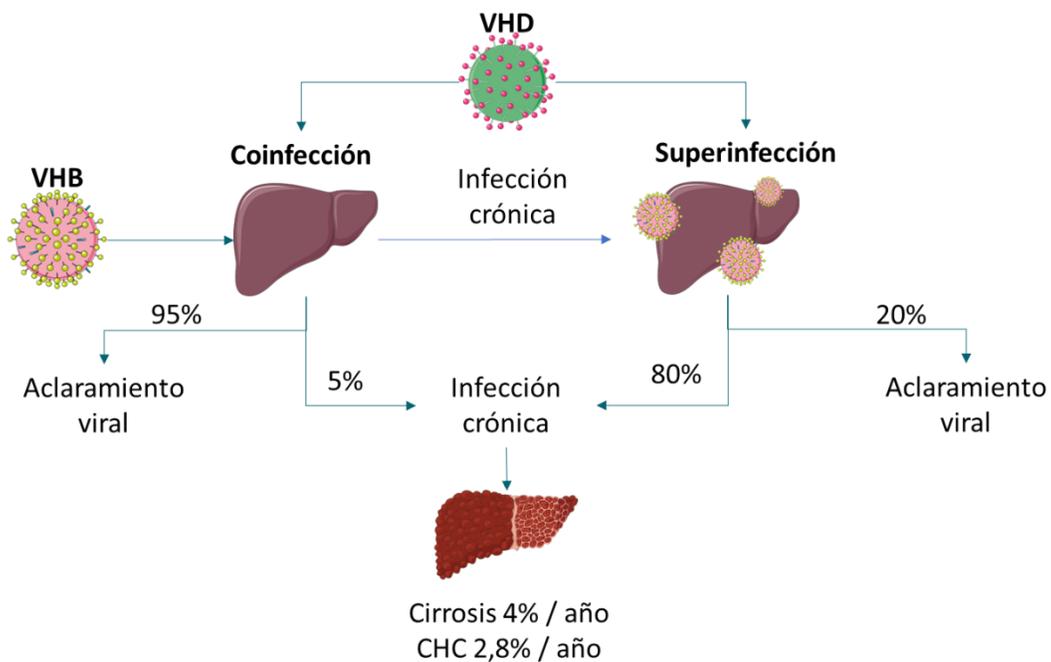


Figura 8. Coinfección y superinfección VHB/VHD.

Figura adaptada de Turon-Lago et al; 2020 (84).

La coinfección suele ser más severa que la monoinfección por VHB y puede presentarse una falla hepática aguda en el 2-3% y progresión a infección crónica en el 5% de las personas con coinfección VHB/VHD (70,81). En el caso de una superinfección,

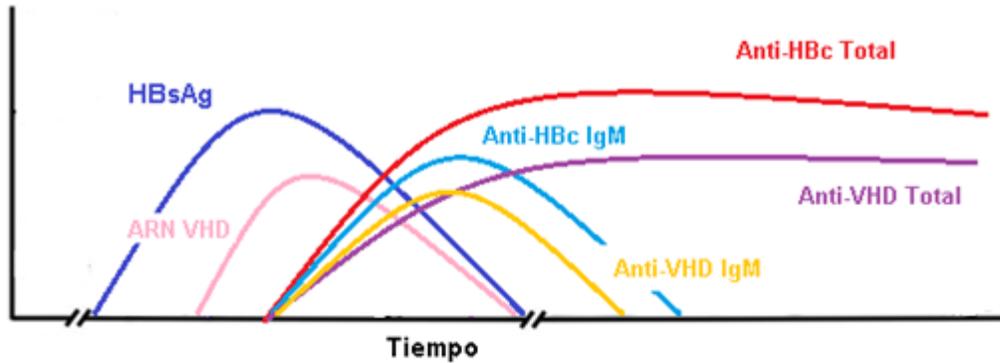
se desarrolla infección crónica por VHD en el 80% de los pacientes, y suele presentarse un cuadro de hepatitis más severa con mayor grado de fibrosis, y mayor progresión a cirrosis y CHC, comparado con la mono infección por VHB (70) (**Figura 8**).

Dado que el desenlace y manejo clínico difiere, se debe determinar si se trata de coinfección o superinfección. En el primer caso el individuo presenta marcadores de hepatitis B aguda HBsAg+, Anti-HBc IgM+, y Anti-VHD Total y/o IgM+, carga viral de VHD+ (82). Adicionalmente, se presentan niveles séricos elevados de ALT y/o AST y en una proporción de los casos el ADN de VHB es detectable (**Figura 9**) (83).

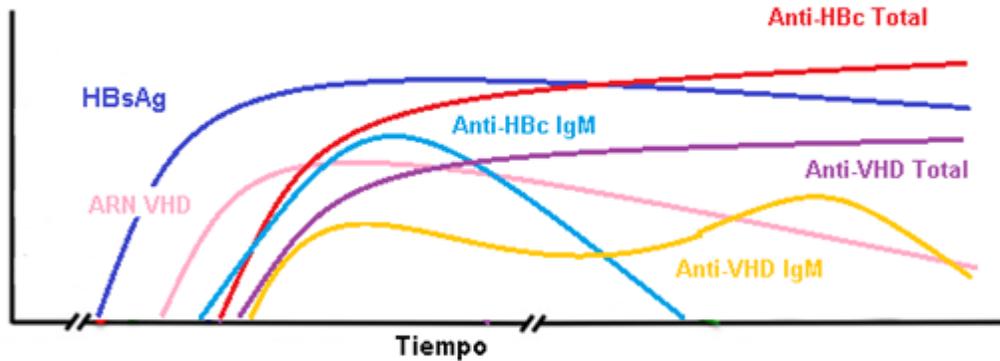
En el caso de una superinfección el individuo presenta marcadores de infección crónica por VHB, HBsAg+, Anti-HBc IgG+ e IgM - y usualmente la carga viral de VHB es baja o indetectable, acompañada de detección del ARN de VHD y Anti-VHD Total y/o IgM (82). Se ha descrito que el marcador Anti-VHD IgM se puede reactivar durante la infección crónica, por lo cual no es indicativo necesariamente de infección aguda, sino que se puede correlacionar con una infección activa (82). Asimismo, algunos estudios han encontrado que los anticuerpos Anti-VHD IgM persisten durante la progresión de la infección y desaparecen en los casos de aclaramiento viral (84), y que se asocian con la actividad histológica y bioquímica por lo cual podría ser un marcador de mal pronóstico clínico (83) (**Figura 9**).

Se ha descrito que la baja carga viral de genoma de VHB en los casos de coinfección y superinfección, se debe a la regulación negativa de VHD sobre la replicación de VHB (85,86). Como se mencionó anteriormente, el genoma de VHB posee dos *enhancers* Enh1 y Enh2 y se ha reportado que el S-HDAg y L-HDAg pueden unirse a estas secuencias regulando negativamente la transcripción a partir del cccADN (85). Adicionalmente, el L-HDAg puede actuar como transactivador del gen celular que codifica la proteína de resistencia a mixovirus 1 (MxA), potenciando la producción de interferón alfa (85).

Coinfección por VHB y VHD con aclaramiento viral



Coinfección por VHB y VHD que se cronifica



Superinfección por VHB y VHD

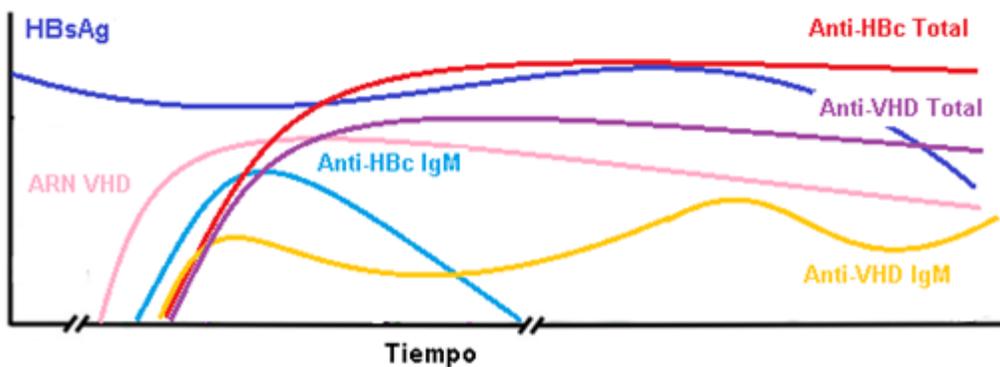


Figura 9. Marcadores serológicos de coinfección y superinfección por VHB y VHD.

Figura adaptada de Usai et al., 2022 (83).

Dado que VHB y VHD presentan el HBsAg en la envoltura de los viriones y usan el mismo receptor, las dos infecciones se previenen con la vacuna recombinante de Hepatitis B que corresponde al determinante “a” del HBsAg (77). Usualmente la infección

por VHD es tratada con IFN- α , sin embargo, en los últimos años se han desarrollado y explorado otras estrategias terapéuticas como: 1) el IFN lambda pegilado actualmente en ensayos clínicos fase 2 (83); 2) Bulevirtide que es un lipopéptido que se une al NTCP e inhibe la entrada de VHB y VHD, se encuentra en ensayos clínicos en fase 2 y 3 y con autorización condicional por parte de Agencia Europea de Medicamentos (83); 3) Lonafarnib que inhibe la prenilación del L-HDAg, modificación necesaria para la interacción con el HBsAg y para el ensamblaje de la partícula viral, fue designado como terapia innovadora por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos y medicamento de prioridad por EMA, se encuentra en el estudio global de fase 3 (83,87). Adicionalmente, *in vitro* se han evaluado pequeñas moléculas, polímeros de ácidos nucleicos y ARN de interferencia que evitan el clivaje durante la replicación del genoma de VHD (88,89).

Epidemiología de la infección por VHD

Se estima que alrededor del 4,5% de las personas con Hepatitis B crónica en el mundo, están infectadas con el VHD (90). Las regiones endémicas para hepatitis B suelen tener una mayor prevalencia de VHD, especialmente en África, la cuenca amazónica, la zona mediterránea de Europa, el Medio Oriente y algunas regiones de Asia (70,91).

Miao y colaboradores cuantificaron la prevalencia global de la infección por VHD usando diferentes modelos matemáticos y utilizando los datos de 634 estudios de 48 países, incluyendo Colombia. Los investigadores describen una prevalencia de 0,8% en población general y 13,02% en población seropositiva para HBsAg, lo que corresponde a 48-60 millones de personas infectadas a nivel mundial (92).

La prevalencia de la hepatitis delta en Suramérica es heterogénea: en Chile, Uruguay, Argentina y el Sur de Brasil, la prevalencia es < 2% en personas con infección crónica por VHB (93). Mientras que en la Cuenca Amazónica compartida por Brasil, Colombia, Perú, Ecuador y Venezuela, existe una alta endemidad para la infección por VHB y VHD (93).

Gracias a la implementación de medidas de prevención como la vacunación contra hepatitis B, la prevalencia de VHD ha disminuido especialmente en población joven (70).

Sin embargo, existen poblaciones de alto riesgo como las comunidades indígenas, pacientes sometidos a hemodiálisis y personas que se inyectan (PID) (94). Miao y colaboradores encontraron en el metaanálisis que la prevalencia de VHD es del 4,75% (2,34-7,95) en PID HBsAg- y 40,41% (31,82-49,30) en PID HBsAg+, con un OR=15,44 (95%CI, 8,68–27,49) comparado con población general (92). Adicionalmente, las migraciones hacia América y Europa en los últimos años han modificado el panorama epidemiológico de la infección por VHD, por las personas procedentes de regiones endémicas para VHB/VHD (90,95).

Epidemiología de la infección por VHD en Colombia

Históricamente, numerosos casos de falla hepática aguda asociados a VHD se han reportado en Colombia, Brasil, Venezuela y Perú (96), tal como la “hepatitis de Labrea” reportada en la región del Amazonas en Brasil (97–99) y la “hepatitis de la Sierra Nevada de Santa Marta” en el norte de Colombia (100). El último brote de hepatitis delta en Colombia se registró en el periodo 2004-2005 en municipio de Inírida, departamento de Guainía, con seis casos fatales asociados a hepatitis fulminante (101). Según los informes de evento del INS se han notificado en el SIVIGILA tan solo siete casos de hepatitis delta en el periodo 2016-2021 (41).

En un estudio realizado con 697 individuos de los departamentos de Amazonas, Chocó, Magdalena y San Andrés, encontraron 173 individuos HBsAg y/o Anti-HBc positivos, con las frecuencias más altas de seroprevalencia en Amazonas y Magdalena ($p=0,033$). De las 173 muestras positivas para marcadores de infección por VHB, 9 (5,20%) fueron positivas para Anti-VHD (ocho muestras de Amazonas y una de Magdalena) (102).

Di Filippo y colaboradores realizaron una búsqueda activa de casos de VHB en población indígena >18 años de 19 comunidades del departamento de Amazonas en el periodo 2011-2013. Un total de 23/861 indígenas fue positivos para HBsAg por prueba rápida. En la población de estudio se detectaron marcadores serológicos Anti-VHD en el 43,5% de las muestras de participantes HBsAg positivos y se logró detectar el ARN de VHD en 30,43% (54) (Tabla 6).

Tabla 6. Estudios de prevalencia de la infección por el VHD en Colombia.

Periodo	Población	Ubicación	n (HBsAg+)	Anti-VHD	ARN-VHD	Referencia
2011-2013	Indígena	Amazonas	23	43,5% (10/23)	30,4% (7/23)	Di Filippo et al., 2015
2011	Indígenas, personal médico y desplazados*	Amazonas, Magdalena	173	5,2% (9/173)		Alvarado-Mora et al., 2011
2007	Casos hepatitis fulminante	Amazonas	7		71,4% (5/7)	Alvarado-Mora et al., 2011

*En este estudio los resultados no se encuentran discriminados por población de estudio.

Elaboración propia.

Distribución de los genotipos de VHD

A la fecha se han descrito ocho genotipos de VHD que divergen entre sí en el 40% de la secuencia (70,103). El genotipo I presenta una distribución global, el genotipo II se encuentra distribuido principalmente en Japón, Taiwán y Rusia, el genotipo III en Sur América, el genotipo IV en Japón y Taiwán y los genotipos V-VIII principalmente en África (70,104).

De acuerdo a estudios de filogeografía se ha descrito que el genotipo de VHD más prevalente en la Suramérica es el III con un ancestro común localizado entre 1952 y 1972 (95% HPD) siguiendo un posible patrón de diseminación desde Brasil hacia Venezuela y posteriormente Colombia (104). También se ha identificado el genotipo I en la región y recientemente se ha reportado la presencia del genotipo VIII de VHD en Maranhão, Brasil (105,106).

Algunos estudios reportan una relación entre el genotipo de VHD y el desarrollo clínico de la infección. El genotipo I se ha asociado con un menor porcentaje de remisión y con complicaciones hepáticas cuando se le compara con el genotipo II (107). El genotipo III se ha asociado con casos de falla hepática aguda y una mayor mortalidad en la población de la cuenca amazónica y en la Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia (100,108).

Distribución de los genotipos de VHD en Colombia

En 2007 se caracterizaron 5 secuencias del genotipo III del VHD en muestras obtenidas de indígenas del Amazonas (109). Y en el estudio de di Filippo y colaboradores

se identificaron 7 secuencias que agruparon con el genotipo III de VHD de muestras de indígenas del departamento de Amazonas (54).

Planteamiento del problema

En la revisión sistemática de Russell y colaboradores, reportan que el rango de prevalencia de HBsAg en estudios realizados en comunidades indígenas y afrodescendientes de Latinoamérica es de 0-29,5% y para Anti-HBc de 0-78%. Adicionalmente, reportan prevalencias para Anti-VHD entre 0,1-8,3% y entre 6,0-43,5% en individuos positivos para HBsAg (110). Estos resultados muestran que esta es una problemática en indígenas de Latinoamérica (*Figura 10*).

Aunque en Colombia se cuenta con la vacuna de hepatitis B desde 1992 y a partir de 1995 como parte del esquema del PAI, en el 2000 se reportó un brote de infección por VHB/VHD en la comunidad Alto Paca, en el departamento del Vaupés, en el que fallecieron nueve indígenas por falla hepática y se identificaron por lo menos 20 casos positivos para Anti-VHD (111). Posteriormente, en 2005 se reportó un brote en Inírida, Guainía, con seis casos con coinfección VHB/VHD y desenlace fatal (101).

En el país se han realizado estudios como el de García y colaboradores y el de Jaramillo y colaboradores, en niños nacidos después de 2001 de comunidades indígenas del departamento de Amazonas (27). Este estudio se llevó a cabo durante el periodo 2011-2012 y se incluyeron 1275 niños menores de 11 años. El 3,6% fueron Anti-HBc+ y el 0,5% HBsAg+/Anti-HBc+. El estudio permitió estimar que los recién nacidos que recibieron la primera dosis en las primeras 48 horas de vida tuvieron hasta un 95% menos riesgo de infectarse. Adicionalmente, los niños nacidos de madres Anti-HBc+ tienen una mayor probabilidad de infectarse (OR=7,8, 95% CI 3,3–10,2) (27,33).

La problemática de las condiciones para el acceso a la vacuna y tiempo de administración de la dosis del recién nacido, también se evidenció recientemente en niños y niñas de 5 a 10 años, en zonas con probable circulación de VHB en Colombia. La cobertura de vacunación de las dosis del recién nacido en esta población de estudio fue del 94,2%, pero discriminado por etnia, la cobertura es del 86,6 % en los niños indígenas (29). Adicionalmente, sólo el 68,7% de los niños recibieron la dosis del recién nacido en las primeras 24 horas de vida (29). Lo que demuestra la necesidad de estrategias de prevención dirigidas a estas comunidades y estudios acerca de la infección por VHB y VHD indígenas de Colombia.

La prevalencia de HBsAg varía entre 0,5-18% y de Anti-HBc entre 3,6-66% en población indígena del departamento de Amazonas, con las mayores prevalencias en indígenas nacidos antes de la implementación de la vacuna (31,33,48,49,54). A la fecha, hay un solo estudio de VHD en población indígena del departamento de Amazonas, en el que se describe una prevalencia de Anti-VHD del 43,5%, y detección del genoma de VHD en el 70% de los casos Anti-VHD+ (54).

Estos estudios realizados hace más de 10 años aportan evidencia de que la infección por VHB y VHD siguen siendo un problema de salud pública en comunidades indígenas del departamento de Amazonas. Sin embargo, poco se conoce de la situación actual en comunidades indígenas de otras regiones del país. Razón por la cual se formuló este estudio en el marco del proyecto “Caracterización molecular y factores asociados a la infección por el Virus de la Hepatitis B en población indígena de Colombia: un estudio de casos y controles”.

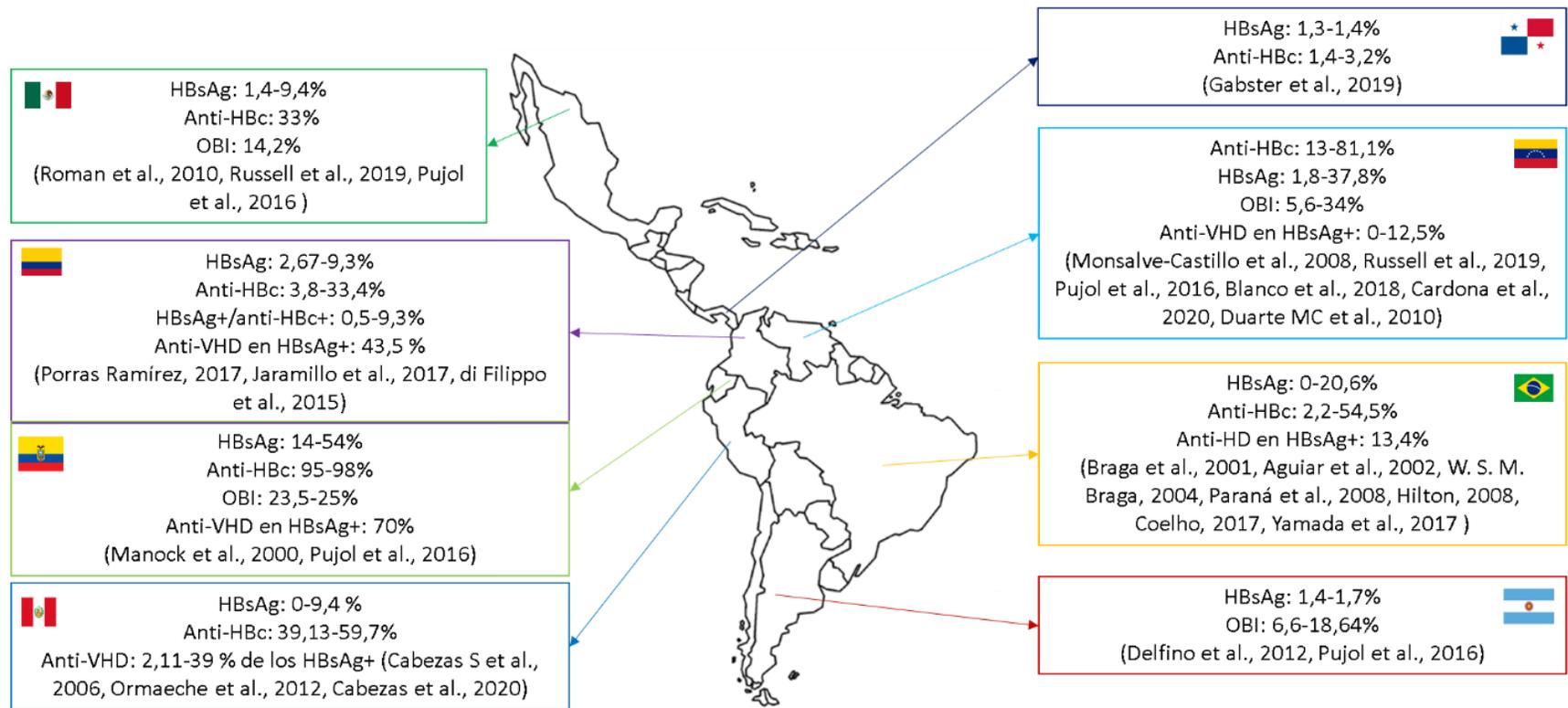


Figura 10. Reporte de casos de infección por VHB y/o VHD en comunidades indígenas de Latinoamérica.

Elaboración propia a partir de la información de Castro-Arroyave et al., 2022 (47).

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar los marcadores serológicos y moleculares de la infección por VHB y VHD en poblaciones indígenas de cuatro departamentos de Colombia.

Objetivos específicos

- Describir marcadores serológicos para la infección por VHB y VHD en la población de estudio.
- Identificar los casos de coinfección y superinfección por el virus de la hepatitis D en la población de estudio.
- Caracterizar los genotipos de VHB y VHD y variantes de escape de VHB en la población de estudio.

Materiales y Métodos

Población de estudio

Se seleccionaron los departamentos de Amazonas y Guaviare por ser departamentos con alta incidencia de infección por hepatitis B. Y adicionalmente, los departamentos de Antioquia y La Guajira por la experiencia de los grupos de investigación Epidemiología y GEPIDH en comunidades y organizaciones indígenas de estas regiones (Figura 11).



Figura 11. Ubicación geográfica de los departamentos que hacen parte del estudio.

Tipo de estudio

El diseño del estudio es de casos y controles. Se definió como caso, indígena mayor de 18 años de edad notificado al SIVIGILA como caso de hepatitis B durante el periodo 2015-2022 en uno de los departamentos del estudio. Para cada caso se seleccionaron dos controles negativos para HBsAg por prueba rápida (Ad. Bio) pareados por sexo, edad, etnia indígena y departamento de procedencia. Adicionalmente, uno de los criterios de inclusión de los casos o y controles es hablar y entender español.

De acuerdo con la incidencia 2010-2021 reportada por el INS para cada uno de los departamentos, se estimó una proporción de casos y controles del 50% en

Amazonas, 25% en Guaviare, 15% en La Guajira y 10% en Antioquia. Se calculó un tamaño de muestra que permitiera medir un OR igual o superior a 2,5, asumiendo una frecuencia de exposición en el grupo control del 20%, un nivel de confianza del 95% y un poder del 80%, usando el programa Epi Info™ 7.2.1.0, para un total de 67 casos y 134 controles.

Muestreo

Los casos fueron identificados y se anotó la probable localización geográfica a partir de los registros suministrados por la Secretaría de Salud correspondiente con previa firma de acuerdos de confidencialidad. Posteriormente, se realizaron las salidas de campo y con ayuda de las alianzas interinstitucionales en cada uno de los departamentos se inició el muestreo comenzando por los casos ubicados cerca de la cabecera municipal, con el apoyo de los promotores de salud de hospitales y centros de salud de cada municipio.

Los individuos que cumplían con los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio, diligenciaron el consentimiento informado, previa explicación del estudio y de sus derechos. Luego se entrevistó al participante para dar respuesta a las preguntas de la encuesta con las características sociodemográficas y posibles factores de riesgo.

Toma de muestra

Se obtuvo en tubo seco una muestra de sangre por punción venosa de 14 mL de los casos notificados de Hepatitis B y de los controles negativos para HBsAg por prueba rápida. La obtención del suero se realizó por separación de fases centrifugando a 3500 rpm por 15 minutos por personal del laboratorio departamental respectivo, y conservadas entre -20°C y -70°C. Las muestras fueron enviadas al laboratorio del Grupo Gastrohepatología de la Universidad de Antioquia, por servicio especial de mensajería con triple embalaje y con hielo seco para asegurar una temperatura de congelación, donde fueron almacenadas a -70°C para su posterior análisis.

Marcadores serológicos para la infección por VHB

Alícuotas de 1000µl de suero fueron analizadas en el Laboratorio Docente Asistencial e Investigativo de la Universidad de Antioquia para la detección de los marcadores HBsAg, anti-HBc IgM y Total por quimioluminiscencia, y pruebas de función hepática ALT y AST, por Test UV, según la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio) modificado con buffer TRIS sin piridoxal fosfato. Las muestras que fueron positivas para HBsAg y Anti-HBc y que presentaron niveles elevados de ALT y/o AST, fueron analizadas para HBeAg y anti-HBe, con el método de quimioluminiscencia.

Adicionalmente, las muestras de los controles también se analizaron para el marcador anti-HBc Total por quimioluminiscencia en el Laboratorio Docente Asistencial e Investigativo de la Universidad de Antioquia.

Extracción y detección del genoma de VHB

El ADN total se obtuvo a partir de las muestras de suero utilizando un estuche comercial (QIAamp DNA Blood mini kit, QIAGEN), siguiendo las instrucciones del fabricante. Alícuotas de 20µL del ADN fueron almacenadas a -20°C.

Para la PCR anidada de la región S se utilizan los *primers* YS1 - YS2 en la primera ronda (112) y S3s - S3as para la segunda ronda (113) (**Anexo 1**); los cuales amplifican un fragmento de 336 pb (posición genómica: 422-758 nt con respecto al genoma de referencia NC_003977.2). Las condiciones de amplificación y ciclaje fueron adaptadas de protocolos previamente publicados en la literatura y estandarizados en el Grupo de Gastrohepatología de la Universidad de Antioquia (33,54) (**Anexo 2**).

Las condiciones de la primera ronda son volumen final 25µL, buffer 1X, MgCl₂ 4mM, dNTPs 0,2mM (Promega), primer YS1 y YS2 0,4 µM, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 1,25U. Dado que la cuantificación de la extracción de ADN total a partir de suero es baja y no indica la carga viral de la muestra, se usaron 5µL de ADN producto de la extracción. El ciclaje fue 94°C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 53°C durante 1 minuto, extensión a 72°C por 1.30

minutos y 72°C por 6 minutos, usando el termociclador C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad).

Las condiciones de la segunda ronda son volumen final 50µL, buffer 1X, MgCl₂ 2mM, dNTPs 0,2mM (Promega), primers S3a y S3as 0,4 µM, Taq DNA polimerasa (Thermo) 1,25 U y 5 µL de producto de amplificación de la primera ronda. El ciclaje fue 94°C por 4 minutos. Seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 50°C por 1 minuto y 15 segundos y extensión a 72°C por 1 minuto y 30 segundos, y una extensión final de 72°C por 5 minutos.

El protocolo de amplificación para las regiones PreS1 y PreS2 corresponde a una PCR anidada utilizando los *primers* P1-P2 en la primera ronda para amplificar el genoma completo del VHB (114) (**Anexo 1**), con modificaciones al protocolo previamente estandarizada en el Grupo de Gastrohepatología (**Anexo 3**). El volumen final de la reacción fue de 50µL con buffer 1X, MgCl₂ 1,5mM, dNTPs (Promega) 0,2mM, primers P1 y P2 a 1µM, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 5 U y 5 µL de ADN. Se diseñó un ciclaje touchdown 94°C por 4 minutos 10 ciclos de 94°C por 40 segundos, 55°C un minuto, 72°C por 3 minutos, 10 ciclos de 94°C por 40 segundos, 60°C un minuto, 72°C por 5 minutos, 10 ciclos de 94°C por 40 segundos, 62°C un minuto, 72°C por 7 minutos, 10 ciclos de 94°C por 40 segundos, 62°C un minuto, 72°C por 9 minutos, y una extensión final de 72°C por 10 minutos.

Para la segunda ronda se usaron los *primers* 2440p-58n para amplificar un fragmento final de 830 pb (posición genómica: 2440-58 nt con respecto al genoma de referencia NC_003977.2) de PreS1 previamente estandarizado en el Grupo de Gastrohepatología de la Universidad de Antioquia (33) (**Anexo 1**). Las condiciones de amplificación fueron adaptadas (33) (**Anexo 4**). En la segunda ronda el volumen final de la reacción fue de 50µL con buffer 1X, MgCl₂ 1,5mM, dNTPs (Promega) 0,2mM, primers a 0,4µM, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 1,5 U y 5 µL de producto amplificado de primera ronda. El ciclaje fue de 95°C por 3 minutos seguido de 35 ciclos de 95°C por 40 segundos, 55°C por 30 segundos y extensión a 72°C por un minuto, y una extensión final de 72°C por 10 minutos.

La región PreS2 se amplificó con los *primers* p3006f-p213r que amplifican un fragmento de 407 pb (posición genómica: 3006-213 nt con respecto al genoma de

referencia NC_003977.2) previamente diseñados en el Grupo de Gastrohepatología de la Universidad de Antioquia (**Anexo 1**) (33). El volumen final de la reacción fue de 50µL con buffer 1X, MgCl₂ 1,5mM, dNTPs (Promega) 0,2 mM, primers a 0,4 µM, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 1,5 U y 5 µL de producto amplificado de primera ronda. El ciclaje fue 95°C por 3 minutos seguido de 35 ciclos de 95°C por 40 segundos, 59°C por 30 segundos y extensión a 72°C por un minuto, y una extensión final de 72°C por 10 minutos (**Anexo 5**).

Los productos de amplificación fueron visualizados en geles de agarosa al 1,5% por electroforesis (Thermo Scientific) y teñidos con bromuro de etidio (BrEt 0,5mg/mL) al 0,1% v/v. El corrido se llevó a cabo a 100 Voltios durante 1 hora en solución buffer TAE 1X. Para la visualización del gel se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb (Thermo Scientific), como control negativo se utilizó agua libre de nucleasas y como control positivo el ADN de la muestra HPTU-01-005, caso de hepatitis B. Los geles fueron fotodocumentados con el equipo 2UV transiluminator (Digital Imaging System).

PCR cuantitativa para VHB

Con el fin de determinar la eficiencia de la PCR utilizando los primers S3s-S3as (422-758 nt) se adquirió el plásmido pL-HBsAg (Addgene) (115). Se realizó la transformación de bacterias competentes siguiendo el protocolo sugerido por Addgene. Posteriormente se realizó una Miniprep a partir de 5 mL de medio con el Kit GeneJET Plasmid (Thermo Scientific) siguiendo las indicaciones de la casa comercial. El ADN se cuantificó por espectrofotometría (NanoDrop 2000-Thermo Scientific) y se determinó el número de copias por µl en la plataforma NEBCalculator.

Se realizaron diluciones seriadas de 10⁸-10¹ copias del plásmido/µl y se realizó una PCR en tiempo real (qPCR). El volumen final de la reacción fue 25µL con SYBR Mix 12,5 ul (Thermo Scientific), primers S3a y S3as a 0,3 µM, y 2 µL de ADN. El ciclaje fue 50°C por 2 minutos y 95°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 50°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos, y una extensión final de 72°C por 1 minuto (**Anexo 6**).

Según los Cq obtenidos se realizó una regresión lineal con un R² mayor a 0,95. De acuerdo con el valor de la pendiente se halló la eficiencia:

$$\%E = \left(10^{\left(\frac{1}{\text{Pendiente}}\right)} - 1\right) \times 100$$

Siguiendo los parámetros de la regresión lineal se cuantificó la carga viral de las muestras positivas para PCR convencional. Adicionalmente, se determinó el límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ). El LOD se definió como la concentración más pequeña que puede ser detectada, y LOQ la concentración más baja que se pudo cuantificar sin perder la linealidad de la curva estándar.

Marcadores serológicos para la infección por VHD

Las muestras de los casos fueron analizadas con una ELISA competitiva para determinar la presencia de anticuerpos anti-VHD Totales (DIA.PRO) siguiendo las instrucciones de la casa comercial. De cada muestra se analizaron dos replicas.

Extracción y detección del genoma de VHD

El ARN viral se obtuvo a partir de las muestras de suero utilizando el kit comercial QIAamp Viral RNA Mini (QIAGEN), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Alícuotas de 30µL del ARN fueron almacenadas a -70°C.

La detección del genoma viral se realizó por RT-PCR anidada utilizando los primers 8531U-1302D y HDV-E-HDV-A (**Anexo 1**) específicos para una región que codifica para el HDAg (posición genómica: 877nt-1290nt con respecto al genoma de referencia NC_003977.2). Las condiciones de amplificación y ciclaje fueron adaptadas de protocolos estandarizados en el laboratorio del Grupo de Gastrohepatología (54) (**Anexo 7**). Para la RT se usó un volumen final de 30 µL, Buffer RT 1X, dNTPs 0,67 mM (Promega), primer 1302D 0,67 µM, RevertAid RT (Thermo Scientific) 20 U y 10 µL de ARN. Dado que se usó ARN Carrier en la extracción, este podría sobreestimar la cuantificación, que no necesariamente refleja la carga viral de la muestra. Siguiendo las recomendaciones del inserto, se llevó a cabo un ciclaje de 42°C por 60 minutos, y 70°C por 10 minutos.

La reacción de primera ronda se llevó a cabo en un volumen final de 50 μ L con Buffer 1X, $MgCl_2$ 2 mM, dNTPs 0,2 mM (Promega), primer 8531U y 1302D a 0,5 μ M, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 1,25 U y 10 μ L de cADN producto de la RT. El ciclaje fue de 95°C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 56°C durante 30 segundos, extensión a 72°C por 1 minuto y 72°C por 10 minutos.

La reacción de segunda ronda se llevó a cabo en un volumen final de 50 μ L con Buffer 1X, $MgCl_2$ 2 mM, dNTPs 0,2 mM (Promega), primer HDV-E y HDV-A a 0,5 μ M, Taq DNA polimerasa (Thermo Scientific) 1,25 U y 10 μ L de cADN producto de la RT. El ciclaje fue de 95°C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 56°C durante 30 segundos, extensión a 72°C por 1 minuto y 72°C por 10 minutos.

Todos los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 1,5% por electroforesis (ThermoScientific) y teñidos con bromuro de etidio (BrEt 0,5mg/mL) al 0,1% v/v. El corrido se llevó a cabo a 100 Voltios durante 1 hora en solución buffer TAE 1X. Para la visualización del gel se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb (Thermo Scientific), como control negativo se utilizó agua libre de nucleasas y como control positivo la muestra previamente caracterizada en el laboratorio de Gastrohepatología con el código VHD+2020 (116). Los geles fueron fotodocumentados con el equipo 2UV transiluminator (Digital Imaging System).

PCR cuantitativa para VHD

Con el fin de determinar la eficiencia de la PCR utilizando los primers HDV-E-HDV-A (877nt-1290nt) se adquirió el plásmido pSVL(D3) (Addgene) (116). Se realizó la transformación de bacterias competentes siguiendo el protocolo sugerido por Addgene. Posteriormente se realizó una Miniprep a partir de 5 mL de medio con el Kit GeneJET Plasmid (Thermo Scientific) siguiendo las indicaciones de la casa comercial. Se cuantificó por espectrofotometría (NanoDrop 2000-Thermo Scientific) y se determinó el número de copias por μ l en la plataforma NEBCalculator.

Se realizaron diluciones seriadas de 10^5 - 10^1 copias/ μ l y se llevó a cabo una qPCR. El volumen final de la reacción fue de 25 μ L con SYBR Mix 12,5 μ L (Thermo

Scientific), primers HDV-E y HDV-A 0,3 µM, y 2 µL de ADN. El ciclaje fue de 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 56°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 30 segundos, y una extensión final de 72°C por 1 minuto (**Anexo 8**).

Según los Cq obtenidos se realizó una regresión lineal con un R² mayor a 0,95. De acuerdo con el valor de la pendiente se halló la eficiencia:

$$\%E = \left(10^{\left(\frac{1}{\text{Pendiente}} \right)} - 1 \right) \times 100$$

Siguiendo los parámetros de la regresión lineal se cuantificó la carga viral de las muestras positivas para PCR convencional. Adicionalmente, se determinó el LOD y LOQ. El LOD se definió como la concentración más pequeña que pudo ser detectada, y LOQ la concentración más baja que se pudo cuantificar sin perder la linealidad de la curva estándar.

Análisis Filogenéticos

Las muestras que fueron positivas para la detección del genoma de VHB y VHD se amplificaron nuevamente con la enzima de alta fidelidad Taq Platinum (Invitrogen). La purificación y secuenciación de los productos de PCR fue realizada por Macrogen Inc (Seoul, Korea) utilizando el método de dideoxinucleótidos automatizado de Sanger (BigDye™ terminator).

Las secuencias se verificaron con BLASTN (NCBI). Con el programa SeqMan de DNASTAR se creó una secuencia consenso. Se diseñó un data set con las secuencias obtenidas y secuencias representativas de todos los genotipos del VHB y genotipos del VHD disponibles en GenBank y secuencias de los diferentes estudios que se han llevado a cabo en Colombia. El alineamiento se realizó con Clustal W y/o Muscle.

Para determinar el modelo de sustitución que más se ajustara, se utilizó MEGA X. Posteriormente, se realizaron análisis filogenéticos por el método de Máxima Verosimilitud y un Bootstrap de 1000 réplicas. Adicionalmente, se utilizó Mr. Bayes para realizar los análisis por el método bayesiano.

Análisis estadísticos

Para los análisis se usó estadística descriptiva, para determinar los promedios, desviaciones estándar y frecuencias reportadas se utilizó el programa RStudio v. 2022.02.1+461.

Consideraciones éticas

Esta investigación se acoge a las guías internacionales para investigación con seres humanos expresadas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su última versión. Igualmente se acogen a la normatividad nacional expresada en las resoluciones 008430 de 1993 y 2378 de 2008 del Ministerio de Salud y Protección Social. De acuerdo con lo dispuesto en la primera de estas resoluciones, esta investigación se puede clasificar como de riesgo mínimo, pues no incluye ningún tipo de intervención o procedimiento experimental que ponga en riesgo la salud y la vida de los participantes. El proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia.

Resultados

Características sociodemográficas de la población de estudio

El estudio se realizó entre octubre de 2018 y mayo de 2022. Durante este periodo se realizaron tres salidas de campo en el departamento de Amazonas, tres salidas en Guaviare y una salida en La Guajira. Dado que no se realizó trabajo comunitario no fue necesario realizar una consulta previa. Se realizaron diferentes alianzas interinstitucionales para realizar la captación de casos y controles en cada una de las regiones durante la emergencia sanitaria por la pandemia de COVID-19. Adicionalmente, se diseñó un protocolo de bioseguridad aprobado por la Universidad de Antioquia para retomar el trabajo de campo.

Las bases de datos con la información de los casos notificados del SIVIGILA fueron proporcionadas por las Secretarías de Salud de Amazonas, Antioquia y Guaviare, en las cuales se identificaron 122 casos notificados de hepatitis B (HBsAg) en indígenas durante el periodo 2015-2022.

El departamento de Amazonas tuvo el mayor número de casos, con un total de 58, de los cuales, 20 pudieron ser contactados e ingresados al estudio el (34,5%). Adicionalmente, a partir de los reportes de las IPS y EPS del departamento se incluyeron 17 participantes para un total de 37 casos en Amazonas. El departamento del Guaviare reportó 54, logrando captar el 20,4% (11/54), y además se incluyeron 4 casos de los reportes de las IPS y EPS del departamento. Antioquia, fue el departamento con menos casos notificados (10 casos) y se logró ingresar al estudio el 30% (3/10), y dos casos reportados por las IPS y EPS de Antioquia.

En el caso de La Guajira, las bases de datos fueron proporcionadas por la EPS indígena Anas Wayuu, teniendo en cuenta que por la intervención de la Superintendencia de Salud, no fue posible desde la Secretaría de Salud de La Guajira. La entidad promotora de salud compartió los datos de 37 casos diagnosticados por prueba rápida, y se logró captar el 48,6% (18/37).

En total se incluyeron 75 casos de los cuales el 49,3% (37/75) fueron del departamento de Amazonas, el 24% (18/75) de La Guajira, el 20% (15/75) de Guaviare, y el 6,7% (5/75) de Antioquia. En la **Tabla 7** se presentan las etnias

indígenas más frecuentes en cada uno de los departamentos, los Tikuna (23/37) en Amazonas, Wayuu en La Guajira (18/18), Nukak en Guaviare (11/15) y Embera Katio en Antioquia (2/5). La edad promedio de los casos es 33,0 años (DS± 10,6 años) y la proporción de mujeres es mayor que la de hombres, 82,7% y 17,3%, respectivamente.

En el estudio se incluyeron 150 controles seleccionados de manera concurrente con la identificación de los casos y pareados por sexo, edad, etnia y departamento; de los cuales el 49,3% (74/150) fueron del departamento de Amazonas, el 24% (36/150) de La Guajira, el 20% (30/150) de Guaviare, y el 6,7% (10/150) de Antioquia. La edad promedio es 33,1 años (DS± 10,5 años) en los controles.

Tabla 7. Características sociodemográficas de los casos notificados de Hepatitis B y controles incluidos en el estudio.

	Casos		Controles	
	n = 75		n= 150	
Sexo	No.	%	No.	%
Femenino	62	82,7	124	82,7
Masculino	13	17,3	26	17,3
Edad (años)				
Promedio	33,0		33,1	
Comunidades indígenas por departamento				
Amazonas	37	49,3	74	49,3
Tikuna	23	30,7	50	33,3
Yaguas	10	13,3	13	8,7
Andoque	2	2,7	1	0,7
Cocama	2	2,7	8	5,3
Tanimuca	0	0,0	2	1,3
La Guajira	18	24,0	36	24,0
Wayuu	18	24,0	36	24,0
Guaviare	15	20,0	30	20,0
Nukak	11	14,7	16	10,7
Jiw	2	2,7	9	6,0
Tukano	1	1,3	3	2,0
Yuruti	1	1,3	0	0,0
Cubea	0	0,0	2	1,3
Antioquia	5	6,7	10	6,7

Embera Katio	2	2,7	1	0,7
Embera	1	1,3	1	0,7
Embera Chami	1	1,3	5	3,3
Embera Dovida	1	1,3	3	2,0

Marcadores serológicos de la infección por VHB

En los casos se confirmó la presencia del marcador HBsAg en el 64% (48/75) y el marcador Anti-HBc IgM y/o Total en el 72% (54/75). De acuerdo con estos resultados serológicos, se identificó un caso de posible reactivación (HBsAg+/Anti-HBc IgM+/Anti-HBc Total +), 47 casos de infección crónica (HBsAg+/Anti-HBc IgM-/Anti-HBc Total+) (**Tabla 8**) y dos casos de OBI (HBsAg-/Anti-HBc Total+/ADN-VHB+); además, seis casos con marcadores de resolución clínica (HBsAg-/Anti-HBc IgM +/- /Anti-HBc Total+/ADN-VHB-). Adicionalmente, se identificaron 19 casos con marcadores negativos de infección por VHB (HBsAg-/Anti-HBc Total-/ADN-VHB-) a pesar de haber sido notificados al SIVIGILA (**Tabla 9**).

Tabla 8. Marcadores serológicos de infección por VHB en los casos notificados y confirmados para HBsAg.

Marcador serológico	Reactivación	Crónica	Total
HBsAg	+	+	
Anti-HBc IgM	+	-	
Anti-HBc Total	+	+	
No. de casos	1	47	48

Tabla 9. Marcadores serológicos y detección del genoma de VHB en los casos notificados al SIVIGILA negativos para HBsAg en el estudio.

Marcador	Resolución		OBI	Sin Marcadores	Total
HBsAg	-	-	-	-	
Anti-HBc IgM	+	-	-	-	
Anti-HBc Total	+	+	-	-	
ADN-VHB	-	-	+	-	
No. de casos	1	5	2	19	27

OBI: Infección oculta de VHB

De los casos que presentaron marcadores serológicos de infección por VHB, el 31,2% (15/48) presentaron niveles elevados de ALT >49UI/mL y/o AST >34UI/mL (Figura 12). El nivel sérico de AST y ALT presentó un rango de 34,63-1563 UI/mL y 51,40-494,20 UI/mL, respectivamente (Figura 12).

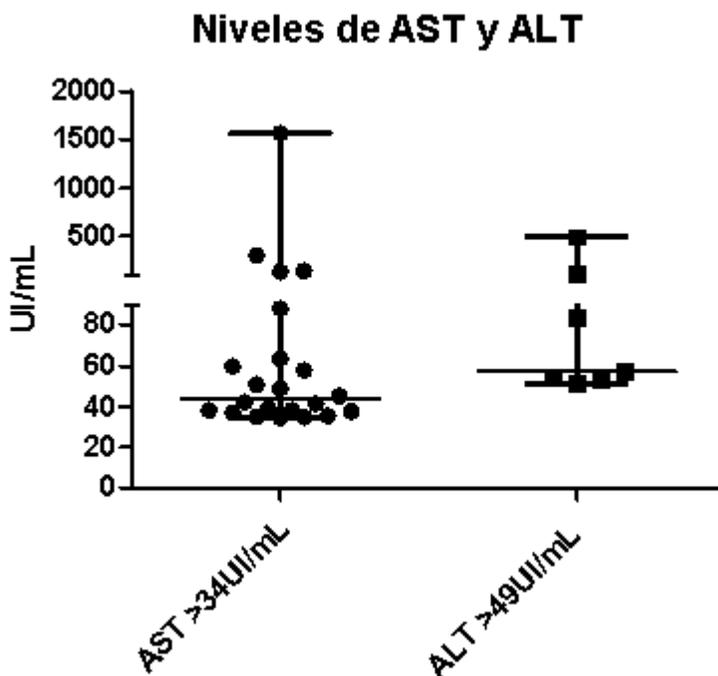


Figura 12. Niveles de AST y ALT en casos de Hepatitis B crónica.

Niveles de AST y ALT en casos HBsAg+/Anti-HBc+ cuantificados por el método IFCC modificado (AST>34 UI/mL y ALT>49 UI/mL).

A estos 15 casos con niveles séricos de enzimas hepáticas elevadas se realizó detección de los marcadores HBeAg y Anti-HBe. Un caso fue positivo para HBeAg, diez casos positivos para Anti-HBe y un caso positivo para ambos, HBeAg y Anti-HBe. De tres casos no había suficiente suero para este análisis. Estos resultados sugieren que posiblemente se trata de un caso de reactivación (HBsAg+/Anti-HBc IgM +/- Anti-HBc Total+/- ADN-VHB+/Anti-HBe+), un caso de hepatitis B crónica HBeAg positiva, un caso de reaparición de HBeAg, y nueve casos de hepatitis B crónica HBeAg negativos (Tabla 10).

Tabla 10. Marcadores serológicos de casos de infección crónica por VHB que presentan niveles séricos elevados de ALT y/o AST.

Marcador serológico/Clasificación del caso	Reactivación	Hepatitis B crónica HBeAg +	Hepatitis B crónica con reaparición del HBeAg	Hepatitis B crónica HBeAg-	Total
HBsAg	+	+	+	+	
Anti-HBc IgM	+	-	-	-	
Anti-HBc Total	+	+	+	+	
AST/ALT Elevados	+	+	+	+	
HBeAg	-	+	+	-	
Anti-HBe	+	-	+	+	
No. de casos	1	1	1	9	

AST 34,63-1563 UI/mL y ALT 51,4-494,2 UI/mL. Marcadores HBeAg y anti-HBe con el método de quimioluminiscencia.

Detección del genoma de VHB

Se realizó extracción de ADN total a partir de las 75 muestras de suero de los casos. Luego del ensayo de PCR, en 20/75 (26,67%) de las muestras se amplificó la región ORF S de VHB (422nt-758nt) (Figura 13). Estos resultados se confirmaron repitiendo la amplificación con una enzima de alta fidelidad (Platinum Taq DNA polymerase, Invitrogen).

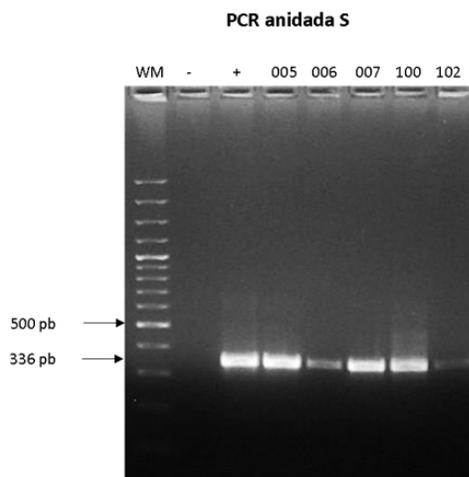


Figura 13. Figura representativa de la amplificación del ORF S del VHB.

Muestras de suero de los casos de indígenas notificados como positivos para hepatitis B en el SIVIGILA. Gel de agarosa al 1,5%. WM: Marcador de peso molecular de 100pb. -: Control negativo agua libre de nucleasas. +: Control positivo muestra HPTU-01-005.

A partir de las 20 muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHB (ORF S), se realizó el ensayo de PCR de las regiones PreS1 (2440-58 nt) y PreS2 (3006-213 nt), con amplificación de la región PreS1 en 3 muestras (15,0%) y la región PreS2 en 6 muestras (30,0%) (**Figura 14**).

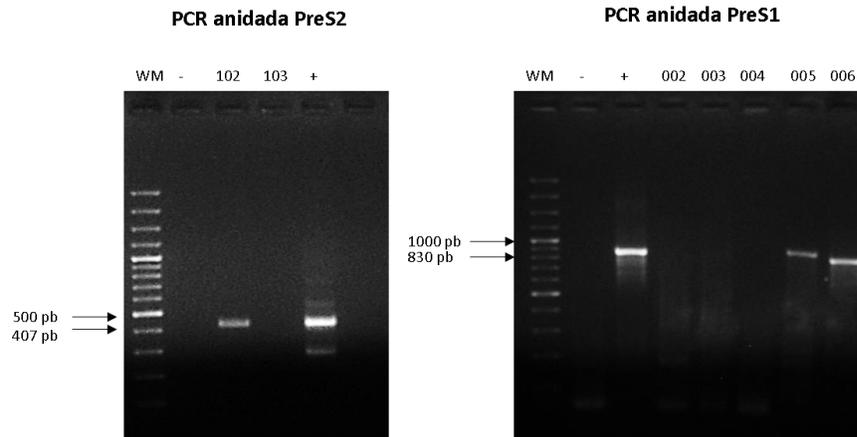


Figura 14. Figura representativa de la amplificación de las regiones PreS1 y PreS2 del VHB.

Muestras de suero de los casos de indígenas reportados como positivos para hepatitis B a los cuales se les logró detectar el genoma de VHB ORF S. La banda esperada es de 407pb para PreS2 y 830pb para PreS1. Gel de agarosa al 1,5%. WM: Marcador de peso molecular de 100pb. -: Control negativo agua libre de nucleasas. +: Control positivo muestra HPTU-01-005.

Cuantificación de la carga viral de VHB

Con el fin de realizar una cuantificación absoluta se realizaron diluciones seriadas del plásmido pL-HBsAg de 10^9 - 10^4 copias/ μ L. De acuerdo con los resultados de Cq obtenidos en la qPCR, se realizó una regresión lineal con un $R^2=0,99$ en la cual se obtuvo una pendiente de -3,46 y un intercepto de 38,98. De acuerdo con la pendiente obtenida, se estimó una eficiencia del 94,46%. Con la curva estándar realizada se determinó un límite de detección de LOD= 1 copia/ μ L y un límite de cuantificación LOQ=10 copias/ μ L.

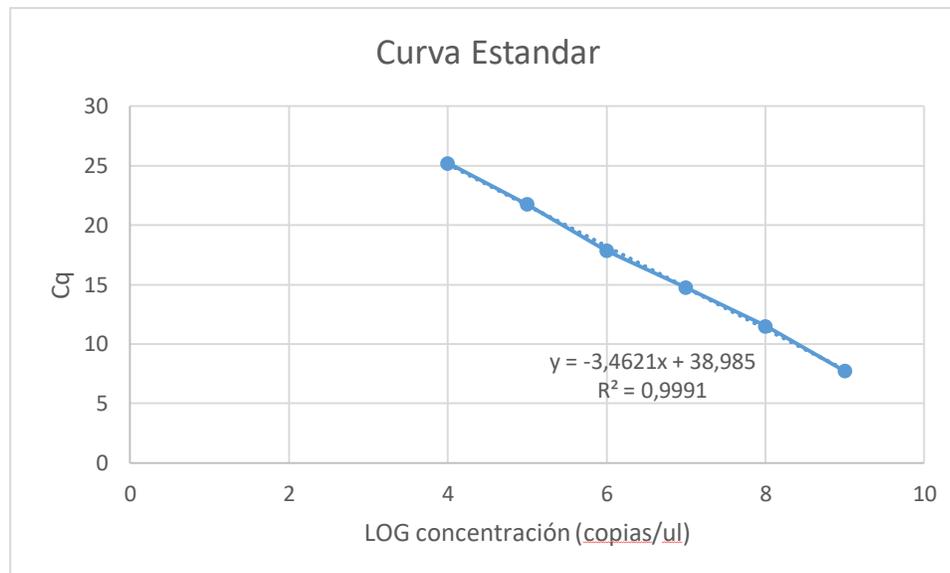


Figura 15. Regresión lineal de la qPCR del ORF S de VHB a partir del plásmido pL-HBsAg. Se realizan diluciones seriadas de 10^9 - 10^4 copias/ μ L del plásmido pL-HBsAg.

Adicionalmente, se realizó el ensayo de qPCR con las muestras por triplicado y se logró cuantificar la carga viral en 16 muestras (**Anexo 9**), de los cuales dos tuvieron una carga viral >2000 copias/ μ L (**Figura 16**). En cuatro muestras de casos no se logró cuantificar la carga viral, porque el número de copias está por debajo del límite de detección de la prueba o porque se ha degradado el ADN extraído. De los casos a los cuales se les realizó detección de HBeAg, se logró detectar y cuantificar el genoma de VHB en tres, una HBeAg positiva con una carga viral de $1,0 \times 10^9$ copias/ μ L y dos HBeAg negativas con $6,9 \times 10^5$ y $0,68$ copias/ μ L. Aunque la cantidad de muestras no es representativa, se observa que el caso HBeAg positivo presenta una mayor carga viral.

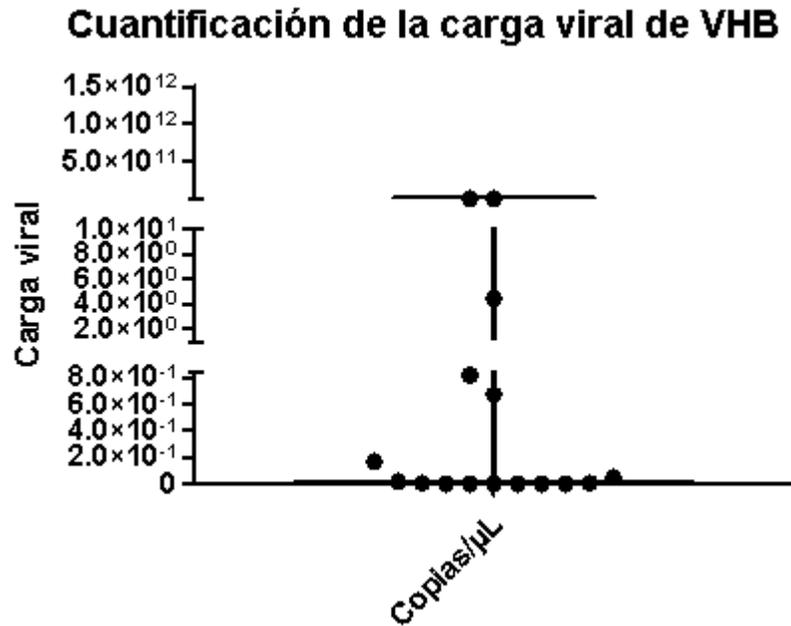


Figura 16. Cuantificación de la carga viral de VHB en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHB, ORF S.

Cada muestra se analiza por triplicado y se toma en cuenta el promedio de los dos Cq más homogéneos.

Identificación de los genotipos y subgenotipos de VHB

La caracterización de los genotipos y subgenotipos de VHB se realizó mediante secuenciación de los amplicones de la PCR anidada del ORF S (336pb) utilizando una enzima de alta fidelidad. Se determinó en el programa Mega X que el mejor modelo de sustitución para este *dataset* es el modelo *Kimura-2-parameter* con distribución *G+I*. El primer análisis filogenético se llevó a cabo en Mega X usando el método de Máxima Verosimilitud con un Bootstrap de 1000 réplicas.

Se identificaron 13 secuencias que agruparon en el genotipo F, 5 del subgenotipo F1B, 6 del subgenotipo F3 y por último, dos secuencias no agruparon con ningún subgenotipo. Además, siete secuencias agruparon en el genotipo D (**Figura 17**). Dado que la región secuenciada es de 336 pb, no hay suficiente resolución para obtener valores de Bootstrap mayores a 70.

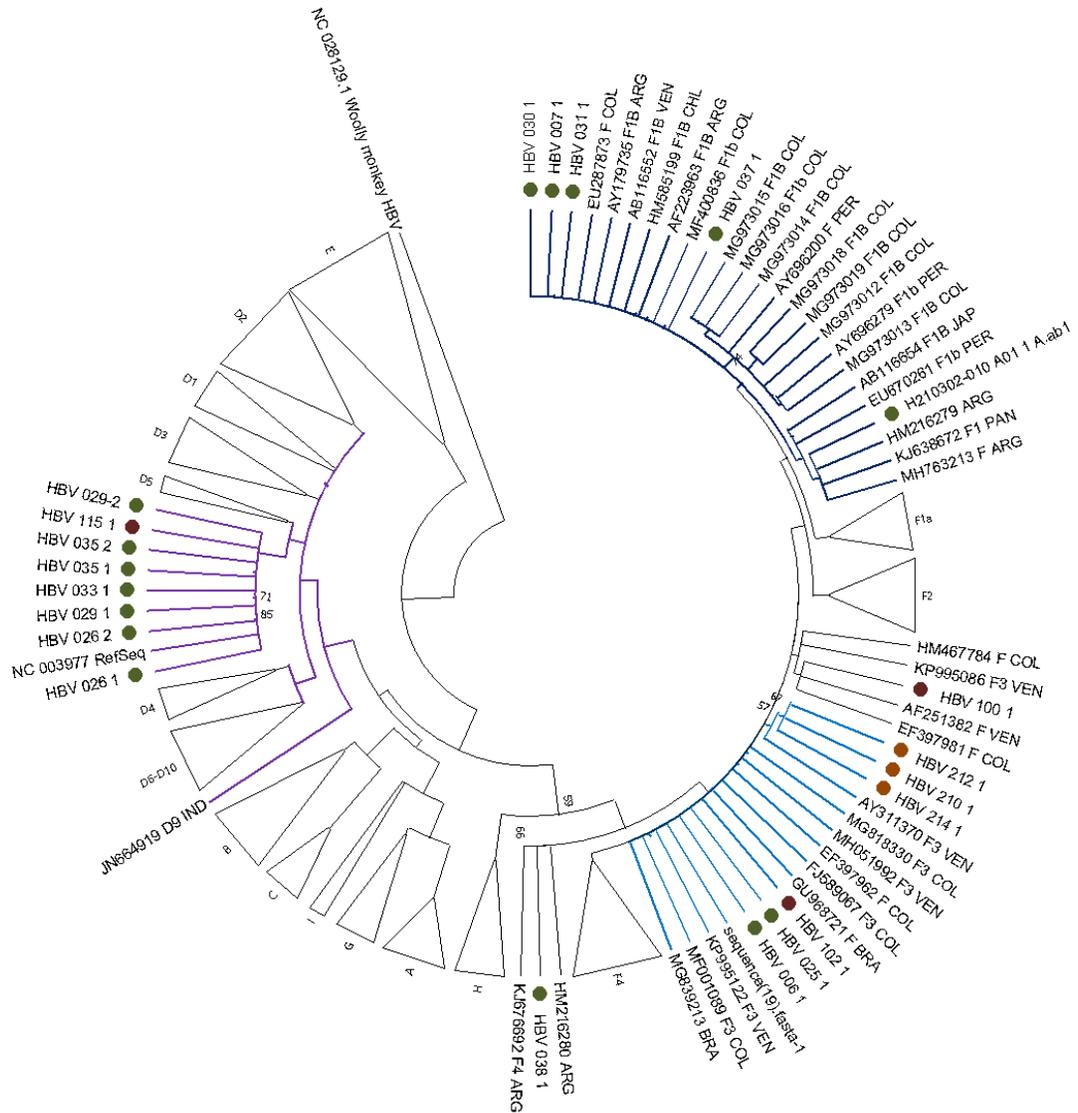


Figura 17. Análisis Filogenético de la región ORF S de VHB.

Análisis por Máxima Verosimilitud en Mega X con Bootstrap de 1000 con un modelo K2+G+I. Las secuencias del estudio están indicadas con un círculo, verde ● Amazonas, rojo ● Guaviare, naranja ● La Guajira. Las ramas del subgenotipo F1b se marcan azul oscuro, del subgenotipo F3 en azul claro y del genotipo D en morado. Las secuencias HBV-26-2, HBV-29-2 y HBV-35-2 corresponden a controles OBI.

Las cinco secuencias que agruparon en los dos análisis en el subgenotipo F1b pertenecen a casos del departamento de Amazonas (005-1, 007-1, 030-1, 031-1, y 037-1). De las siete secuencias que agruparon en el subgenotipo F3, tres corresponden a casos del departamento de La Guajira (210-1, 212-1, 214-1), dos

casos de Guaviare (100-1 y 102-1) y dos casos de Amazonas (006-1 y 025-1). De las siete secuencias que agruparon en el genotipo D, cinco corresponden a casos del departamento de Amazonas (026-1, 029-1, 033-1, 035-1 y 036-1) y dos a Guaviare (113-1, 115-1).

Las secuencias de casos de Amazonas clasificadas en el subgenotipo F1b, agrupan con otras secuencias de Colombia, Argentina y Venezuela. La secuencia 005-1 es la más distante de las secuencias del estudio que agruparon en F1b y agrupa con secuencias reportadas en Argentina.

En el subgenotipo F3 la secuencia 100-1 agrupa en un clado con secuencias de Colombia y Venezuela, las secuencias de La Guajira (210-1, 212-1 y 214-1) agrupan en un mismo clado con una secuencia de Venezuela y las otras secuencias de Amazonas y Guaviare (006-1, 025-1 y 102-1) agrupan con secuencias de Colombia y Brasil. Las secuencias de Amazonas que agruparon con el genotipo D son similares a secuencias reportadas en otros estudios en Colombia y también comparten similitud con secuencias reportadas en Brasil.

Posteriormente, con el fin de tener una mayor resolución filogenética, se secuenciaron las muestras en las que se logró amplificar PreS1 y/o PreS2. Al ensamblar las secuencias utilizando el programa DNASTar se evidencia una región no cubierta por las secuencias primarias durante el ensamblaje entre PreS2 y S, por lo cual esta región se elimina tanto del ensamble como de los alineamientos, con el fin concatenar las regiones secuenciadas (**Figura 18**).

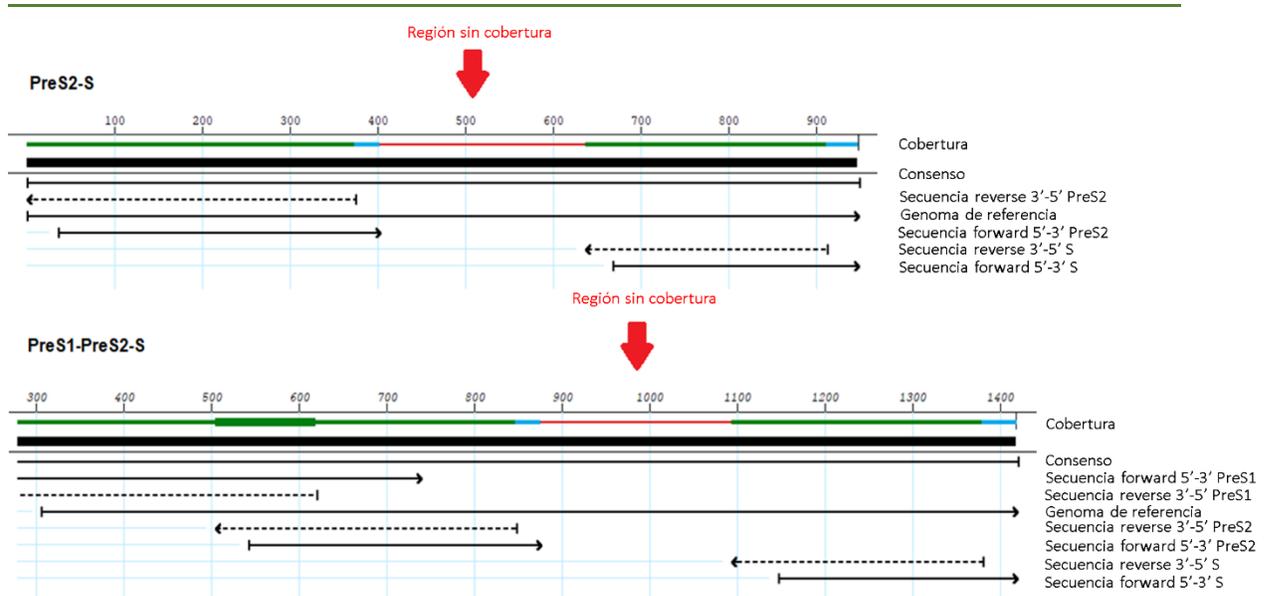


Figura 18. Ensamblaje de las secuencias PreS1, PreS2 y S del genoma de VHB.

Ensamblaje de PreS2-S (imagen superior) y PreS1-PreS2-S (imagen inferior) con el programa DNASTar. Se observa en rojo la región sin cobertura entre las secuencias PreS2-S que fue removido para los posteriores análisis.

Se logró la secuenciación de seis muestras para la región PreS2. En estos análisis, que incluyen una secuencia de 707pb se confirmó que estas seis muestras pertenecen al genotipo F con un Bootstrap de 100; una muestra agrupó con el subgenotipo F1b con un Bootstrap de 100, y cinco muestras con el subgenotipo F3, sin embargo, no se alcanzó un Bootstrap de >70 (**Figura 19A**).

La muestra 005-1 de Amazonas, forma un clado con secuencias F1b de Argentina, Chile, Venezuela y Perú. En el Subgenotipo F3 se encuentran dos secuencias de Guaviare (100-1 y 102-1) y tres de La Guajira (210-1, 212-1 y 214-1) que nuevamente agrupan con secuencias de Colombia y Venezuela.

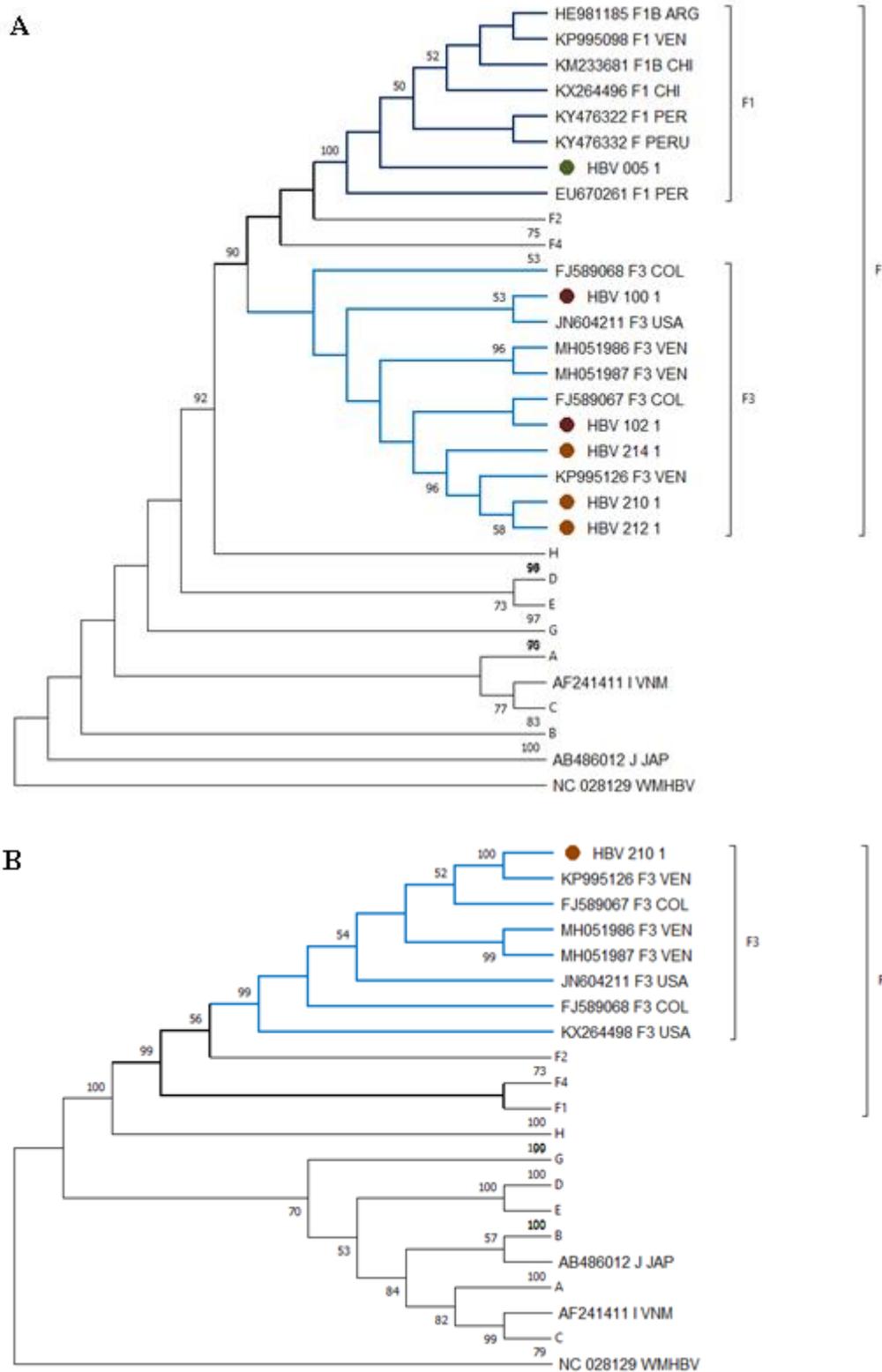


Figura 19. Análisis filogenético de la región PreS1, PreS2 y S de VHB.

A. Análisis por Máxima Verosimilitud de la región PreS2-S en Mega X con Bootstrap de 1000 con un modelo GTR+G. Las secuencias del estudio están indicadas con un círculo, verde ● Amazonas, rojo ● Guaviare, naranja ● La Guajira. Las ramas del subgenotipo F1b se marcan azul oscuro, del subgenotipo F3 en azul claro. **B.** Análisis por Máxima Verosimilitud de la región PreS1-PreS2 y S en Mega X con Bootstrap de 1000 con un modelo GTR+G+I. La secuencia del estudio está indicada con un círculo naranja ● La Guajira. Las ramas del subgenotipo F3 están marcadas en azul claro.

Sólo se logró obtener una muestra con la suficiente calidad para la secuenciación de PreS1. En este análisis que incluye una secuencia de 1419pb se confirma que la secuencia 210-1 de La Guajira pertenece al subgenotipo F3 con un Bootstrap de 99 (**Figura 19B**).

Adicionalmente, se corrió en el programa Mr. Bayes un análisis por el método bayesiano con las diferentes secuencias obtenidas, con 1 millón de generaciones para obtener parámetros ESS>200. En este análisis se logró confirmar las cinco secuencias del subgenotipo F1b con un soporte del 70%, siete secuencias del subgenotipo F3 con un soporte del 98%, una secuencia (038-1) del subgenotipo F4 con un soporte del 88%, y siete del genotipo D con un soporte del 66% (**Figura 20**).

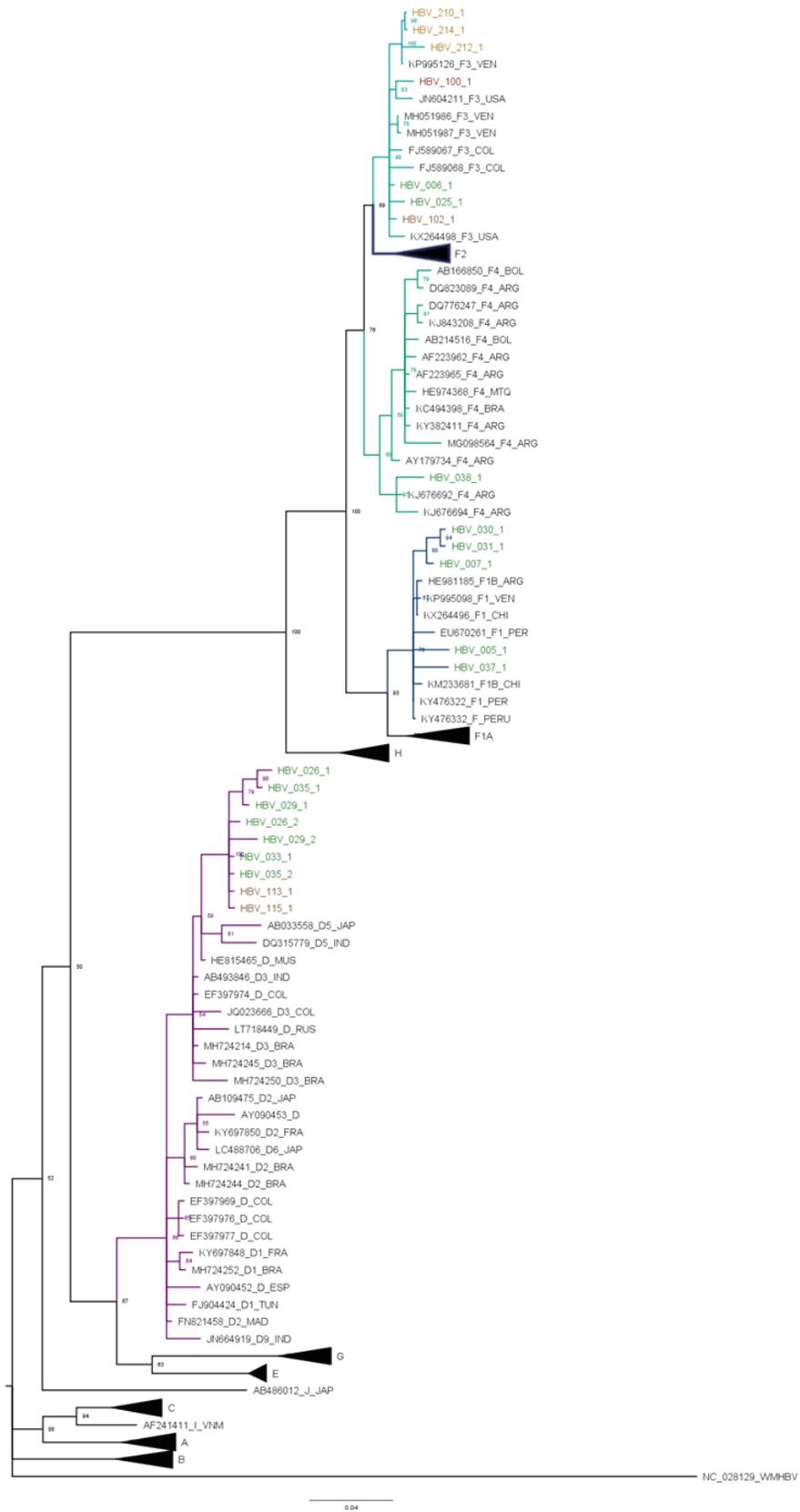


Figura 20. Análisis Bayesiano de la región PreS1, PreS2 y S de VHB.

Análisis bayesiano de las regiones S, S-PreS2 y S-PreS2-PreS1, llevado a cabo con Mr. Bayes, K2+G, MCMC 1 millón de generaciones, ESS>200. Las secuencias del estudio están indicadas con verde Amazonas, rojo Guaviare, naranja La Guajira. Las ramas del subgenotipo F1b se marcan azul oscuro, del subgenotipo F3 en azul claro, F4 en verde y D en morado.

En este análisis bayesiano se observa que en el subgenotipos F1b y F3 las secuencias del estudio no forman un clado monofilético, lo que sugiere múltiples introducciones de este subgenotipo en la población de estudio. La secuencia 038-1 agrupa en el subgenotipo F4 formando un clado con secuencias reportadas en Argentina. Las secuencias del estudio forman un clado monofilético en el genotipo D, y dado que se forman otros clados con secuencias previamente descritas en Colombia, sugiere que también existen múltiples introducciones del genotipo D en el país.

Tabla 11. Genotipos y subgenotipos de VHB y VHD caracterizados en la población de estudio.

Departamento	Genotipo/ Subgenotipo de VHB	No. de casos	Genotipo de VHD	No. de casos
Amazonas	F1b	5	I	4
	F3	2	III	7
	F4	1		
	D	5		
Guaviare	F3	2	I	2
	D	2	III	1
La Guajira	F3	3	I	3

Variantes de escape y mutaciones asociadas a resistencia

En el programa Geno2Pheno se analizaron cada una de las secuencias obtenidas del ORF S, utilizando como base el genoma de referencia de VHB NC_003977.2. Aunque se identificaron sustituciones, ninguna corresponde a una mutante de escape. Adicionalmente y dado que la región ORF S se solapa con parte de la secuencia del ORF P, se realizó un análisis para identificar posibles mutaciones de resistencia a los análogos de nucleósidos; sin embargo, no se logró identificar ninguna mutación asociada a resistencia.

Posteriormente, se realizó un alineamiento de aminoácidos en Mega X, para verificar posibles mutaciones de forma manual. En la región PreS1 en la muestra

210-1 de La Guajira se identificaron las mutaciones Q3L y P36T. En la región PreS2 no se detectaron posibles mutaciones de escape. En el dominio S se identificaron las mutaciones A17G (102-1), L94Q (005-1), Y100C (038-1), Y100S, T114P y G145A (037-1), y W199G (025-1).

Tabla 12. Sustituciones encontradas en el ORF S y Dominio RT de VHB.

Para cada una de las secuencias del ORF S obtenidas en el estudio se muestran las sustituciones en el ORF S y en el dominio RT. Como referencia se utilizó la secuencia NC_003977.2.

Muestra	PreS1 (1-108aa)	PreS2 (1-55aa)	S
210-1	Q3L		
210-1	P36T		
102-1			A17G
005-1			L94Q
038-1			Y100C
037-1			Y100S
037-1			T114P
037-1			G145A
025-1			W199G

La región amplificada (posición genómica: 422-758 nt con respecto al genoma de referencia NC_003977.2) cubre parcialmente el dominio RT de la polimerasa viral y no se detectaron posibles mutaciones en esta región en el alineamiento realizado.

Casos de Infección Oculta por VHB (OBI)

En el trabajo en campo ninguno de los controles fue positivo para la prueba rápida de HBsAg (Ad.Bio). Sin embargo, de los 150 controles, 41 (27,33%) fueron positivos para Anti-HBc Total; discriminado por departamento, 58,54% (24/41) de los controles del departamento de Amazonas, 31,71% (13/41) de Guaviare y 9,76% (4/41) de Antioquia fueron positivos para anti-HBc.

De estos 41 controles Anti-HBc+, se tenía suero disponible de 34. Luego de la extracción de ADN, se logró amplificar el genoma de VHB ORF S en 3/34 muestras del departamento de Amazonas (026-2, 029-2 y 035-2). Teniendo en cuenta el perfil de marcadores serológicos y moleculares, estos tres casos son clasificados como OBI. Con el fin de confirmar estos resultados y cuantificar la carga viral se realizó una qPCR. Los tres casos de OBI presentaron una baja carga viral <200 copias/μL en un rango de 0,16-0,81 copias/μL (Tabla 13).

Tabla 13. Cuantificación de la carga viral de VHB en las muestras de casos de OBI.

Código	Copias/uL	Copias/mL
26-2	0,28	279,50
29-2	0,16	155,80
35-2	0,81	813,36

Cada muestra se analiza por triplicado y se toma en cuenta el promedio de los dos Cq más homogéneos.

Estas tres muestras se incluyeron en el análisis filogenético, y las tres secuencias obtenidas agruparon en el genotipo D con otras secuencias de Amazonas y muy cercanas a sus respectivos casos (026-1, 029-1 y 035-1) (Figura 17).

Marcadores serológicos de la infección por VHD

Los 75 casos del estudio fueron evaluados para anticuerpos Anti-VHD. El 14,67% de las muestras (11/75) fueron positivas para Anti-VHD Total. Uno de estos casos presentó marcadores serológicos de una posible reactivación (HBsAg+/Anti-HBc IgM+/Anti-HBcTotal+/anti-HBe+/ADN-VHB) y los otros 10 casos presentaron marcadores de infección crónica por VHB (HBsAg+/Anti-HBc IgM-/Anti-HBc Total+). De los 11 casos positivos para Anti-VHD, el 63,64% (7/11) pertenecen al departamento de Amazonas, el 18,18% a Guaviare y el 18,18% (2/11) a Antioquia.

Detección del genoma de VHD

El ensayo de detección del genoma de VHD se realizó en las 75 muestras de los casos del estudio por RT-PCR anidada, usando como control positivo una muestra de suero de un paciente (VHD+2020). El 24% (18/75) de las muestras de suero fueron positivas para la detección del genoma de VHD (**Figura 21**). Estos resultados se confirmaron por amplificación con una enzima de alta fidelidad (Taq Platinum, Invitrogen).

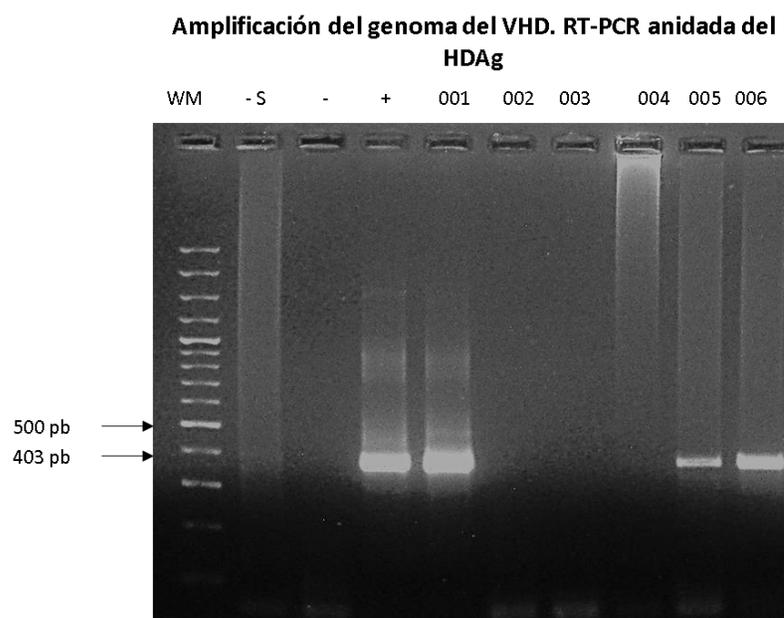


Figura 21. Detección del genoma de VHD, región que codifica para el HDAg.

Las muestras positivas presentan una banda de 403pb. Gel de agarosa el 1,5%, tinción con bromuro de etidio. WM: Marcador de peso molecular de 100pb. (-): Como control negativo se usó agua libre de nucleasas. (+): Como control positivo se usó la muestra VHD+2020.

De los casos positivos para VHD, el 61,11% (11/18) provenían del departamento de Amazonas, el 22,22% (4/18) de Guaviare y el 16,67% (3/18) de La Guajira.

En cuanto al perfil serológico y molecular, el 83,33% (15/18) presentaron marcadores de infección crónica por VHB (HBsAg+/Anti-HBc Total +) y en 7/13 se logró detectar simultáneamente el genoma de VHB y VHD. Adicionalmente, se detectó el genoma de VHD en un posible caso de reactivación (HBsAg+/Anti-HBc IgM +/Anti-HBc Total +/ ADN-VHB+); y en dos casos de La Guajira que fueron

negativos para HBsAg-/Anti-HBc- uno de los cuales también fue positivo para el genoma de VHB, lo que podría sugerir infección oculta secundaria (Tabla 14).

Tabla 14. Marcadores serológicos y moleculares de la infección por VHD en los casos notificados de VHB.

Marcador	Coinfección/superinfección*								Total
	+	+	+	+	-	-	+	+	
HBsAg	+	+	+	+	-	-	+	+	
Anti-HBc IgM	+	-	-	-	-	-	-	-	
Anti-HBc Total	+	+	+	+	-	-	+	+	
ADN-VHB	+	-	+	-	+	-	-	+	
Anti-VHD Total	+	+	-	-	-	-	+	+	
ARN-VHD	+	+	+	+	+	+	-	-	
No. de casos	1	6	7	2	1	1	3	1	

*No se puede descartar que se traten de coinfecciones que desarrollaron infección crónica por VHB y VHD.

Cuantificación de la carga viral de VHB

Con el fin de realizar una cuantificación absoluta se realizaron diluciones seriadas del plásmido pSVL(D3) de 10^5 - 10^1 copias/ μ L. De acuerdo con los resultados de Cq obtenidos en la qPCR, se realizó una regresión lineal con un $R^2=0,99$ y una pendiente de -3,72 y un intercepto de 38,59. De acuerdo con la pendiente obtenida, se estima una eficiencia del 85,83%.

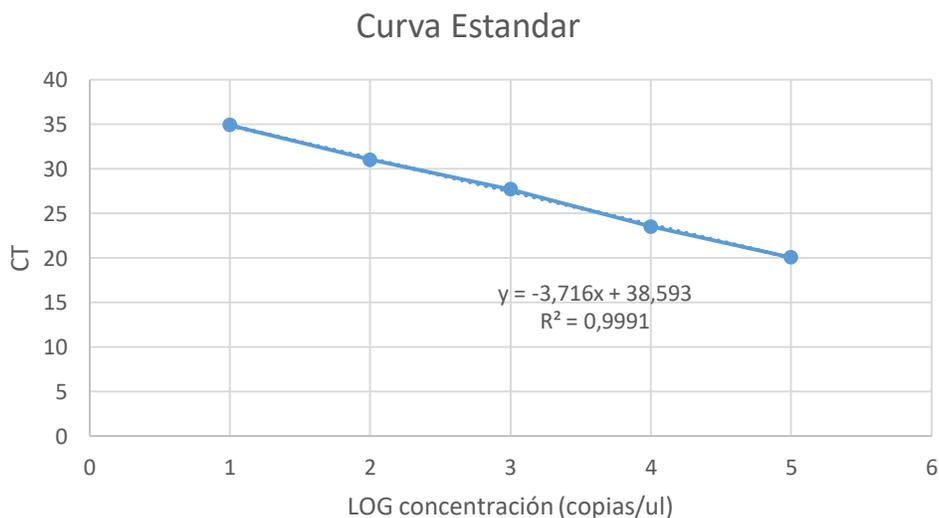


Figura 22. Regresión lineal de la curva estándar de la qPCR de la región que codifica para el HDAg de VHD.

Se realizan diluciones seriadas de 10^5 - 10^1 copias/ μ L del plásmido pSVL(D3).

Adicionalmente, se analizaron las muestras por triplicado para cuantificar la carga viral (**Anexo 10**). Las 18 muestras con resultados en el ensayo presentan una carga viral >2000 copias/mL (**Figura 23**). Es de anotar que para este ensayo no se ha estipulado una unidad de cambio de copias/mL a UI/mL, dado que no se contó con el estándar de la OMS.

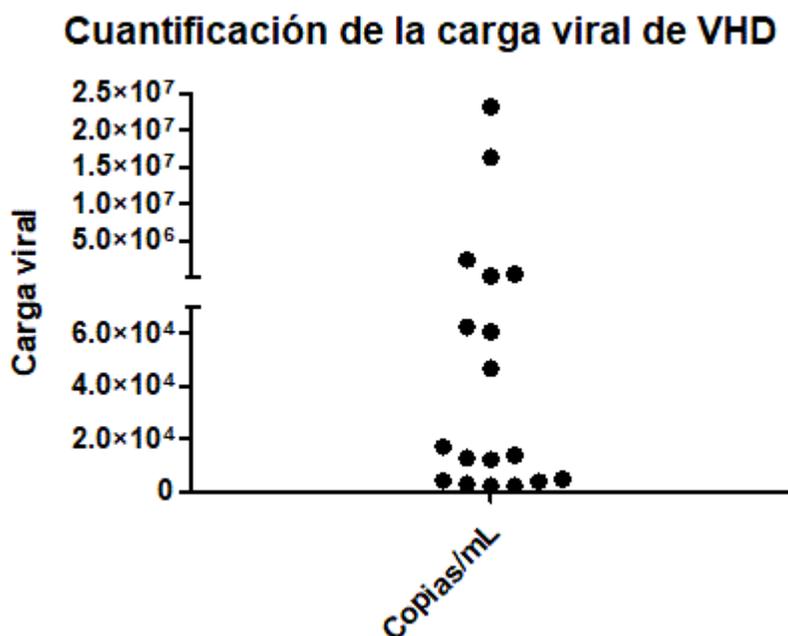


Figura 23. Cuantificación de la carga viral de VHD en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHD.

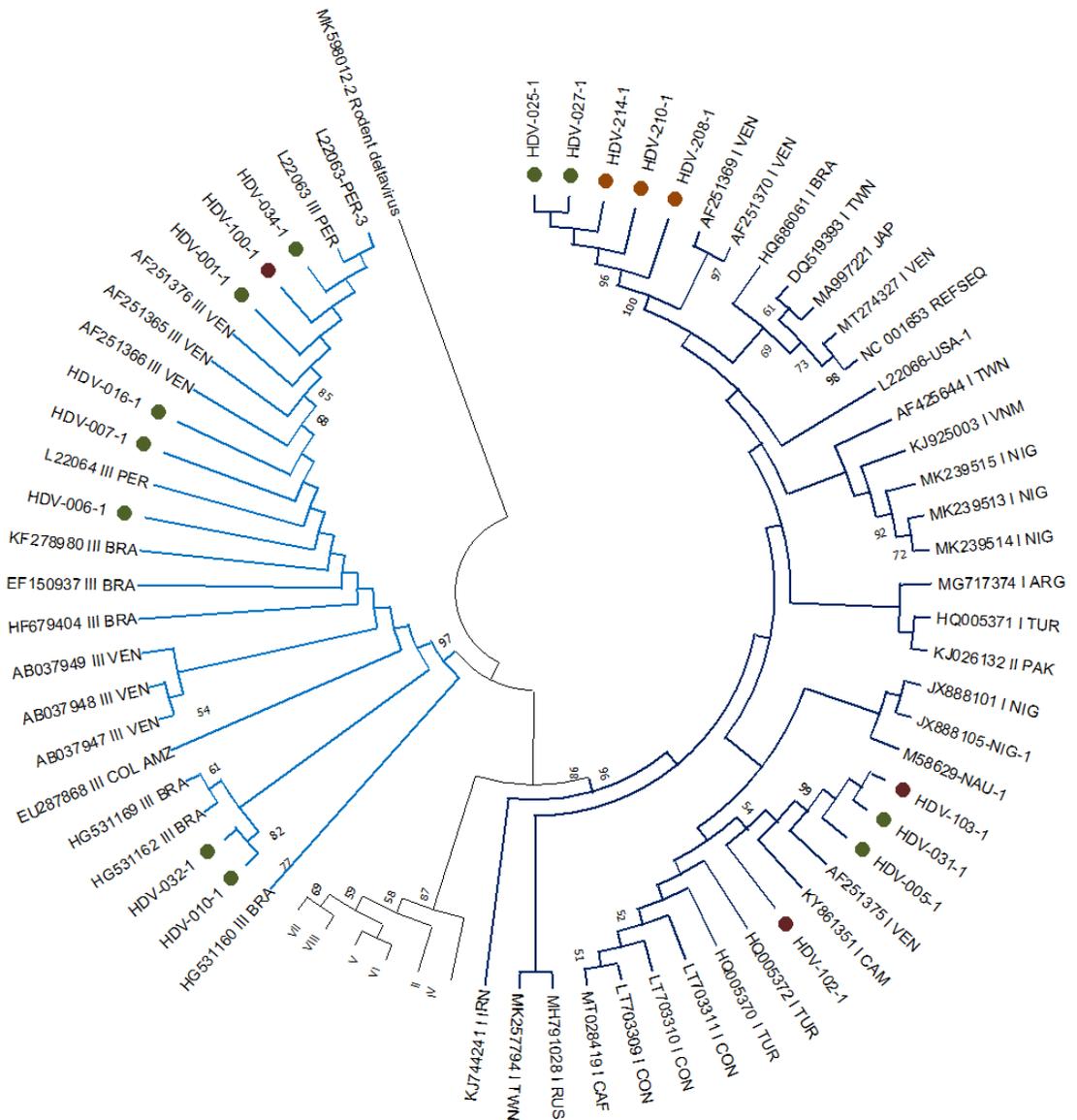
Cada muestra se analiza por triplicado y se toma en cuenta el promedio de los dos Cq más homogéneos.

Identificación de los genotipos de VHD

Para la caracterización de los genotipos de VHD, se secuenció el producto de la RT PCR anidada (403pb). Para los análisis filogenéticos se usó como grupo externo la secuencia del Virus de la Hepatitis Delta descrito en roedores MK598012.2, 97 secuencias obtenidas del Genbank para cada uno de los genotipos de VHD, y las secuencias obtenidas en este estudio.

Se determinó en el programa Mega X que el mejor modelo de sustitución para este dataset es el modelo Tiempo General Reversible (GTR) con distribución G+I. El análisis filogenético se llevó a cabo en Mega X usando el método de Máxima Verosimilitud con un Bootstrap de 1000 réplicas, en el cual se identificaron ocho secuencias que agruparon con el genotipo III y nueve secuencias con el genotipo I; en ambos casos con un valor de Bootstrap >70. Adicionalmente, los resultados se confirmaron por el método Bayesiano (Figura 24).

A



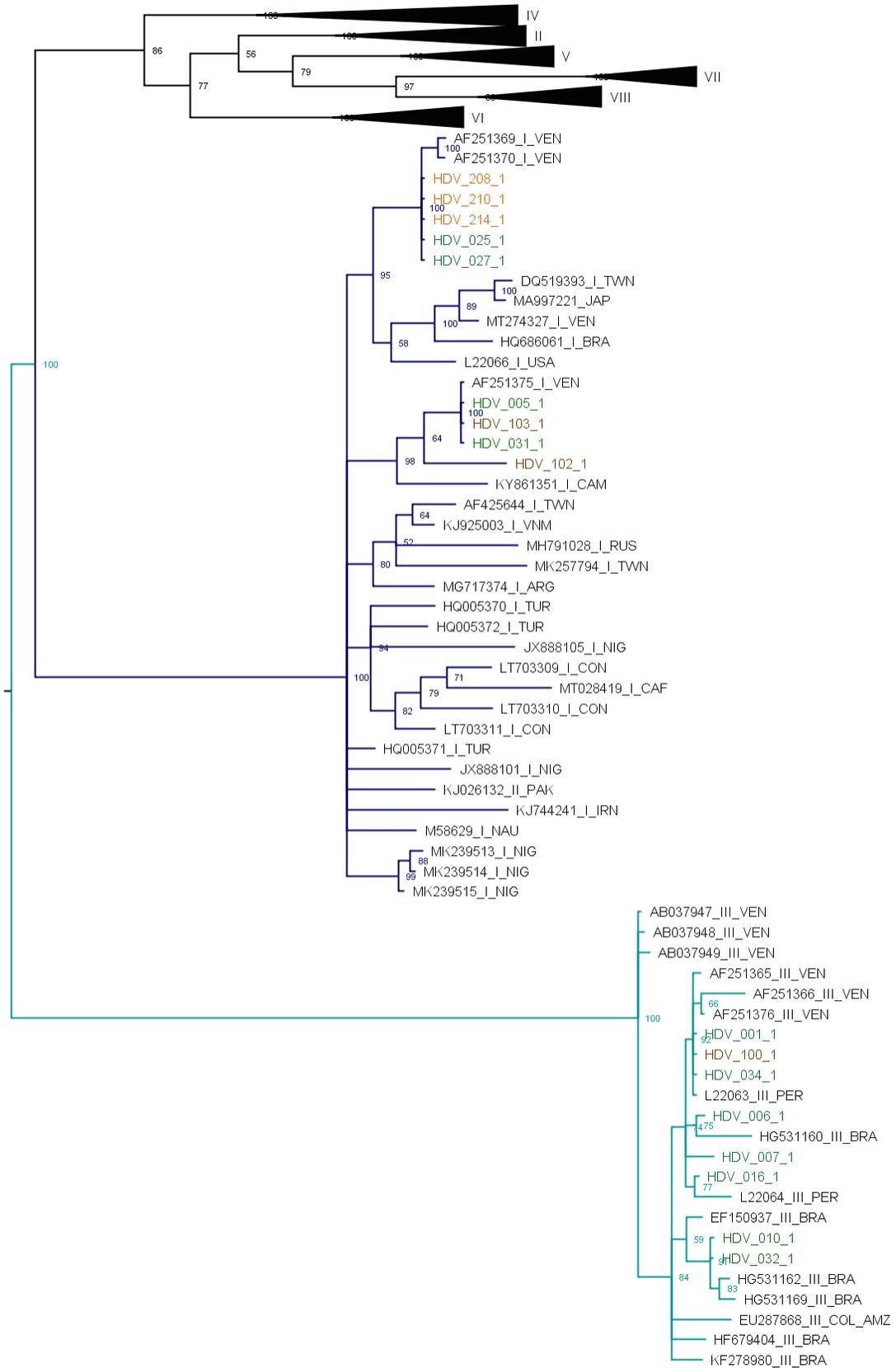


Figura 24. Análisis Filogenético de la región que codifica para el HDAg de VHD.

A. Análisis por Máxima Verosimilitud en Mega X con Bootstrap de 1000 con un modelo GTR+G+I. Las secuencias del estudio están indicadas con un círculo, verde ● Amazonas, rojo ● Guaviare, naranja ● La Guajira. Las ramas del genotipo I se marcan azul oscuro, del genotipo III en azul claro. **B.** Análisis bayesiano llevado a cabo con Mr. Bayes, MCMC 1,5 millón de generaciones, ESS>200. Las secuencias del estudio están indicadas en verde Amazonas, café Guaviare, naranja La Guajira. Las ramas del genotipo I se marcan azul oscuro, del genotipo III en azul claro.

Las secuencias del estudio que fueron caracterizadas en el genotipo I de VHD agrupan con secuencias descritas principalmente en Venezuela y Brasil. Se logró identificar la circulación de genotipo I de VHD en los tres departamentos, Amazonas (005-1, 025-1, 027-1), Guaviare (102-1, 103-1) y La Guajira (208-1, 210-1, 214-1). Las secuencias que agruparon en el genotipo III son principalmente de casos del departamento de Amazonas (001-1, 006-1, 007-1, 010-1, 016-1, 032-1, 034-1) y una del departamento de Guaviare (100-1), las cuales son similares a secuencias reportadas en Perú, Brasil y Venezuela.

En las nueve muestras en las que se logró amplificar simultáneamente el genoma de VHB y VHD se identificaron la co/superinfección con los genotipos VHB F1b/ VHD III en 1/9 muestras, VHB F1b/ VHD I en 2/9, VHB F3/ VHD III en 2/9 y VHBF3/VHD I en 4/9 muestras, para VHB y VHD respectivamente (**Tabla 15**).

Tabla 15. Genotipos de VHB y VHD en casos Coinfección/superinfección en la población de estudio

Subgenotipo de VHB	Genotipo de VHD	No. Casos
F1b	I	2
F1b	III	1
F3	I	4
F3	III	2
Total		9

Discusión

El objetivo de este estudio fue caracterizar los marcadores serológicos y moleculares de la infección por VHB y VHD en indígenas de Amazonas, Guaviare, Antioquia y La Guajira. Se incluyeron 75 casos notificados al Sivigila y 150 controles. El 49,3% (37/75) corresponden a casos del departamento de Amazonas, el 24% (18/75) de La Guajira, el 20% (15/75) de Guaviare y el 6,7% (5/75) de Antioquia.

La población de estudio se caracterizó por ser en su mayoría mujeres en edad reproductiva (82,7%), con un promedio de 33 años y un rango de 17-63 años. Sin embargo, diversos estudios como el metaanálisis publicado por Mitiko-Tengan y colaboradores, describen una mayor proporción de infección por VHB en hombres (117). En otros estudios también encuentran una mayor proporción de hombres infectados con VHB, como el de Baig con una razón de 3,8 hombres por 1 mujer (118). La mayor prevalencia en hombres está asociado al número de parejas sexuales y otras conductas sexuales (HSH), y al uso de drogas inyectables más frecuente en población masculina (42).

En los casos notificados al Sivigila también se describe una mayor proporción de hombres, con un promedio del 57,5% en el periodo 2015-2021 (119). En otros estudios como el realizado en población de riesgo por la Fundación Antioqueña de Infectología en Bogotá, Medellín, Cali, Quibdó y Pereira, la proporción de hombres fue de 58,07% (42). Y en el estudio realizado en indígenas >18 años, la frecuencia de HBsAg + detectada por prueba rápida en hombres fue de 52,2% (54).

La proporción de hombres y mujeres observada en el presente estudio se debe probablemente a la forma de notificación de casos de Hepatitis B al Sivigila en el país dado que principalmente corresponden a mujeres en gestación identificadas a través de los programas de control prenatal, donantes de sangre, pacientes sintomáticos y pacientes que desarrollaron hepatopatías secundarias.

Teniendo en cuenta que la mayoría de casos de indígenas con Hepatitis B suelen ser asintomáticos, así como fue descrito por di Filippo y colaboradores (54), y según la experiencia del trabajo de campo de estos dos estudios, los indígenas

no suelen asistir con la misma frecuencia de otras poblaciones a consulta en instituciones de atención en salud, debido a que muchos viven en lugares apartados de las cabeceras municipales y de difícil acceso y además prefieren el manejo con medicina tradicional.

Los casos de la población de estudio fueron diagnosticados principalmente por prueba rápida para HBsAg y se desconoce la sensibilidad y especificidad de las pruebas rápidas utilizadas. Adicionalmente, la mayoría notificados al INS como Hepatitis B sin clasificar. En los informes de evento del INS también reportan un promedio de 47,7% de casos de Hepatitis B sin clasificar en el periodo 2015-2020, lo que demuestra las dificultades en las diferentes entidades territoriales del país para confirmar y clasificar los casos con otros marcadores de infección por VHB.

Adicionalmente, la representatividad en la notificación de casos de las comunidades indígenas es limitada dado que en promedio, el 2,9% del total de los casos del Sivigila corresponden a etnia indígena en el periodo 2015-2020 (41). Esta baja representatividad en el total de casos notificados a pesar de la evidencia de alta prevalencia de Hepatitis B en comunidades indígenas del departamento de Amazonas puede estar asociada a variables como problema de accesibilidad al sistema de salud, factores geográficos, de lenguaje, y factores culturales.

La seroprevalencia de HBsAg+ y Anti-HBc+ encontrada en los casos del presente estudio fue de 64% (48/75) y 72% (54/75), respectivamente. Se identificaron 1/75 caso de reactivación (HBsAg+/Anti-HBc IgM+/Anti-HBe+/ADN-VHB+) y 47/75 casos de infección crónica (HBsAg+/Anti-HBc IgM-/Anti-HBc Total+). La muestra 220-1 presentó marcadores serológicos HBsAg-/Anti-HBc IgM+/Anti-HBc Total+ y no se logró detectar el genoma de VHB, por lo cual se podría tratar de un caso de resolución, en el cual los niveles de HBsAg pueden disminuir gradualmente, y se podría observar un perfil HBsAg-/Anti-HBc IgM+ (120,121).

Con el fin de descartar falsos negativos por error en los ensayos serológicos o por inestabilidad de la muestra, se realizó una nueva toma de sangre en cinco casos notificados de La Guajira y se repitieron los análisis serológicos en tres muestras de casos notificados de Amazonas; en las 8 muestras se confirmó la ausencia de marcadores de infección por VHB. El 63,16% (12/19) de los casos sin

marcadores de infección provenían de La Guajira; la entidad prestadora de salud indígena en la región informó que la notificación se realizó con prueba rápida de HBsAg, por lo cual es importante verificar la sensibilidad y especificidad de la prueba y la posibilidad de un resultado falso positivo como se ha descrito con infecciones por parásitos como nematodos intestinales y cisticercosis prevalentes en estas comunidades (122). Aunque no contamos con los detalles técnicos de las pruebas rápidas utilizadas en La Guajira, se realizó un estudio donde describen que en el trabajo en campo con indígenas asintomáticos del departamento de Amazonas, la sensibilidad de la prueba rápida fue 19% (123).

La seroprevalencia de Anti-HBc encontrada en el grupo control fue de 27,33% en el presente estudio (41/150). Esta prevalencia es similar a la reportada por Jaramillo y colaboradores en madres negativas para HBsAg (Anti-HBc de 21,6%) de comunidades indígenas de Amazonas (33); mientras que la seroprevalencia fue de 2,9% en los niños indígenas negativos para HBsAg; aunque la metodología de muestreo del presente estudio difiere de la de Jaramillo y colaboradores (33).

La edad promedio de la población de estudio es 33 años con un rango de 17-63 años, por lo cual una proporción de la población posiblemente no fue vacunada, y los resultados obtenidos ratifican la necesidad de fortalecer la vacunación y el seguimiento en salud pública de estas infecciones en comunidades indígenas.

Los estudios en población nacida después de la implementación de la vacuna han demostrado una disminución importante en la prevalencia de HBsAg (27,31). En el estudio de Ríos-Hincapié y colaboradores en el que se evaluó el avance en el cumplimiento de la meta de eliminación de la Hepatitis no se detectó el HBsAg en ninguna de las muestras de los 3.203 niños <de 10 años de 36 municipalidades de alto riesgo de infección. Sin embargo, encuentran que aún existen poblaciones donde la cobertura de vacunación es baja, como en niños indígena (89%, en los tiempos del esquema 55,4%, $p < 0.001$), y niños extranjeros (86,3%, en los tiempos del esquema 55,4%, $p < 0.001$) (124). Estos resultados sugieren que factores culturales, y logísticos como las barreras para que los recién nacidos sean vacunados en las primeras 24 horas, pueden contribuir a las mayores prevalencias de hepatitis B reportadas en estas comunidades.

En las muestras obtenidas de 41 indígenas del grupo control HBsAg negativos por prueba rápida, y positivos para Anti-HBc por ELISA, se logró detectar el genoma de VHB en 3/41 que corresponden a OBI. El diagnóstico de OBI es de importancia clínica dado el riesgo de cirrosis o CHC (21). Además de la posibilidad de transmisión del virus y la probabilidad de reactivación de la infección en pacientes con trasplante o en inmunoterapia (21). El patrón serológico y molecular de los 38 controles HBsAg-/Anti-HBc+ indica la exposición a la infección por VHB, aunque estos individuos no desarrollaron una infección crónica y por tanto presentan posiblemente resolución clínica.

Por otra parte, casos de OBI en Colombia han sido reportados en diferentes poblaciones con una prevalencia que varía entre 0,97-8,7% (22,125). Los tres casos de OBI que se lograron identificar en el grupo control en el presente estudio presentan una baja carga viral <2000 copias/ μ L e infección por VHB genotipo D. Los tres controles pertenecen a Amazonas. En indígenas del departamento de Amazonas sólo se había reportado un caso OBI del genotipo F, subgenotipo F1b, y un caso genotipo A en el estudio de niños y madres indígenas (33). Dado que este es el primer reporte de genotipo D en casos de OBI en comunidades indígenas del Amazonas, demuestra la importancia de continuar la vigilancia epidemiológica y genómica de la introducción de nuevos genotipos de VHB.

El porcentaje de detección del genoma de VHB en los casos del presente estudio fue de 26,67% (20/75), de los cuales 10/20 presentaron marcadores serológicos y/o moleculares de infección por VHD. El porcentaje de amplificación del genoma de VHB de las muestras de este estudio se puede deber a los casos negativos para HBsAg en el 36% (27/75), cargas virales por debajo del límite de detección, y a la coinfección con VHD, que regula negativamente la replicación de VHB (70).

El ORF S es ampliamente utilizado para su detección, teniendo en cuenta que es una de las regiones más conservadas entre los diferentes genotipos del VHB. La región genómica amplificada incluye 336 pb entre las posiciones 422nt-758nt. Adicionalmente fue necesario amplificar las regiones PreS1 y PreS2 con el fin de obtener mayor resolución en los análisis filogenéticos, aunque la variabilidad

genética de estas representa una mayor dificultad técnica en su amplificación. El reducido porcentaje de amplificación por la variabilidad genética de PreS1 y PreS2 en las muestras del estudio, 3/20 y 6/20, respectivamente, fue descrito previamente en el estudio de Jaramillo y colaboradores, en el cual amplificaron las regiones PreS1 y PreS2 en 2/7 muestras (33).

El genotipo F fue caracterizado en el 65% (13/20) de las muestras secuenciadas de los casos del presente estudio, lo que concuerda con los reportes previos de estudios realizados en diferentes poblaciones en Colombia (36,53). El subgenotipo F1b ha sido descrito en comunidades indígenas de Amazonas en estudios previos (33,54). En el subgenotipo F1b encontramos secuencias reportadas por Jaramillo y colaboradores y di Filippo y colaboradores que corresponden a indígenas de Amazonas (33,54); cuatro de las secuencias del presente estudio agrupan en un mismo clado parafilético con una secuencia reportada por Alvarado-Mora y colaboradores (65).

Adicionalmente, se caracterizaron 7 secuencias en el subgenotipo F3. Tres muestras corresponden a casos de La Guajira y agrupan con secuencias de Venezuela, país limítrofe con este departamento. Peláez-Carvajal y colaboradores también identificaron la circulación del subgenotipo F3 en el departamento de Guaviare (36). Las secuencias de estudio caracterizadas en el subgenotipo F3 se agrupan en un clado con otras secuencias caracterizadas principalmente en donantes de sangre de la región andina (23,126,127), y en secuencias aisladas de tejido hepático de pacientes con cirrosis y/o CHC atendidos en el Hospital Pablo Tobón Uribe en Medellín (22,45).

Por el método bayesiano se logró caracterizar una secuencia del departamento de Amazonas en el subgenotipo F4. Aunque este subgenotipo no había sido reportado en comunidades indígenas de Colombia, éste ha sido descrito en Bolivia y Argentina (53), en indígenas de la comunidad Mbyá-Guaraní que habitan en Paraguay, sur de Brasil y Argentina (128).

El genotipo D de VHB se caracterizó en dos muestras de Guaviare y ocho muestras del departamento de Amazonas; las secuencias agruparon con el subgenotipo D3, pero no se alcanzó un Bootstrap >70. Hasta la fecha, el genotipo

D no había sido reportado en comunidades indígenas de Colombia, aunque si en donantes de sangre (22,64), y en población afro-colombiana del departamento del Chocó (65).

En una reconstrucción espacio temporal del genotipo D de VHB en el continente Americano realizada por Spitz y colaboradores se reporta este genotipo en Brasil en las regiones del Noreste, Centro-Oeste, Sudeste, y Sur, con presencia de los subgenotipos D1, D2, D3 y D4 (129). Adicionalmente, se describe que el ancestro común más cercano para el genotipo D en Suramérica coincide con las migraciones de Europeos y Árabes en los siglos XIX y XX, y para el subgenotipo D3 postulan múltiples introducciones principalmente del sur de Europa de países como Portugal, España e Italia (129).

En el presente estudio encontramos una mayor diversidad de genotipos de VHB (F1b, F3, F4 y D) en comparación con estudios previos en comunidades indígenas del país (33,54); lo que puede deberse a la inclusión de comunidades de otras zonas geográficas de Colombia, como La Guajira y Guaviare donde el genotipo más prevalente es el F3. Aunque el subgenotipo F1b sigue siendo prevalente en las comunidades indígenas de Amazonas (41,67%), también se demostró la presencia del subgenotipo F3 (16,67%), uno más frecuente en los cascos urbanos de la región andina de Colombia.

En los dos estudios previos realizados en población indígena del departamento de Amazonas se describe la circulación de los genotipos F, subgenotipos F1b y F1a, y A (33,54). El primer estudio se realizó en el periodo 2010-2011 y el segundo estudio en el periodo 2011-2013. Es posible que los genotipos F3 y D caracterizados en el presente estudio hayan estado circulando en la población y no hayan sido detectados previamente; aunque también es posible que se trate de una introducción reciente de estos genotipos a las comunidades indígenas del estudio.

Según el análisis de la región S, PreS1 y PreS2 en las 20 secuencias obtenidas de VHB, se identificaron las mutaciones Q3L y P36T en PreS1 y en el dominio S se caracterizaron las mutaciones A17G, L94Q, Y100C, Y100S, T114P, G145A, y W199G. Ya se han descrito mutaciones de escape en las posiciones 100,

114 y 145 (130), particularmente la mutación G145R ha sido reportada en diversos estudios a nivel global (131).

Sin embargo, es necesario continuar con la vigilancia genómica, dado que Jaramillo y colaboradores reportaron en 2017 las mutantes de escape G145R y W156* en una muestra de un niño y una madre del departamento de Amazonas (33); adicionalmente, Peláez-Carvajal y colaboradores reportaron la mutación P120Q en una muestra de un caso de Guaviare que se ha asociado con una disminución en la detección del HBsAg por inmunoensayo y escape a los anticuerpos (36).

En el presente estudio identificamos una alta frecuencia de coinfección/superinfección VHB/VHD, en total se encontraron marcadores serológicos y/o moleculares de infección por VHD en el 29,33% (22/75). Sin embargo, la frecuencia fue diferencial entre los departamentos, la prevalencia de marcadores serológicos y/o moleculares para VHD fue del 35,13% (13/37) en Amazonas, 26,67% (4/15) en Guaviare, 16,67% (3/18) en La Guajira y 40% (2/5) en Antioquia; aunque este último resultado debe interpretarse con precaución, dado el bajo número de muestras analizadas.

A la fecha, este es el primer estudio que reporta circulación del VHD en comunidades indígenas de La Guajira y Antioquia. En otros estudios como el de di Filippo y colaboradores, el 43,5% (10/23) de los indígenas presentaron anticuerpos Anti-VHD y en las muestras Anti-VHD+ detectaron el genoma de VHD en el 70% (7/10) (54). En ese estudio se realizó prueba rápida para HBsAg a 862 indígenas de 19 comunidades de Amazonas con un 2,6% (23/862) de positividad (54). El muestreo en el presente estudio fue diferente dado que se incluyeron 75 casos de hepatitis B notificados al SIVIGILA y se analizaron los marcadores Anti-VHD y ARN de VHD en todos los casos.

Según los marcadores detectados para la infección por VHD, de las muestras Anti-VHD Total+ el 63,64% (7/11) fueron positivas para la detección del genoma de VHD, lo que corrobora la frecuencia descrita por di Filippo y colaboradores en indígenas de Amazonas (54). Sin embargo, el 61,11% (11/18) de las muestras positivas para la detección del genoma de VHD, fueron negativas para Anti-VHD

Total. Es difícil identificar si este perfil se debe a la sensibilidad del kit de ELISA competitivo utilizado (Dia.Pro), o si es un fenómeno que ocurre en las personas infectadas, dado que la mayoría de los estudios que se han realizado previamente sólo realizan detección del genoma en las muestras Anti-VHD positivas (104,105,109,132). Aunque en el estudio de di Filippo y colaboradores amplifican el genoma de VHD en 7/23 muestras positivas para HBsAg y detectaron Anti-VHD IgM en 4/7 y Anti-VHD IgG en 3/7 (54).

Una alta prevalencia de coinfección/superinfección VHB/VHD también ha sido reportada en estudios en otras comunidades indígenas de Latinoamérica (132). En Venezuela, en las comunidades Yanomami y Piaroa que habitan la alta Orinoquía, se ha descrito prevalencia de Anti-VHD entre el 11,11-60,71%, y en los Yucpa del 50,46% (133–135). En Ecuador en la comunidad Waorani, se reporta una prevalencia de Anti-VHD del 31,91% (136), mientras que en comunidades indígenas de la región amazónica en Brasil, se describe un prevalencia del 13,4%, mientras que en la Amazonia Peruana entre el 2,11-39,02% (137,138).

Para determinar los casos de coinfección/superinfección se debe tener en cuenta que los anticuerpos Anti-VHD IgM reaparecen durante el curso de la infección crónica en algunos casos, y en la clínica se ha utilizado como marcador de infección activa y se correlaciona con el grado de inflamación hepática y daño histológico (139,140). En el estudio de Dimitrakakis y colaboradores incluyeron 72 pacientes usuarios de drogas intravenosas que fueron diagnosticados con coinfección por la presencia de HBsAg, Anti-HBc IgM y HDAg, y 23 pacientes sintomáticos con infección crónica por VHB con superinfección diagnosticados por la aparición del HDAg y Anti-VHD. En los pacientes con coinfección se detectaron anticuerpos Anti-VHD IgM en 56/72 y en los 23 casos de superinfección se detectaron anticuerpos Anti-VHD IgM (141).

En la población de estudio con marcadores moleculares de infección por VHD, un caso fue positivo para Anti-HBc IgM+/ADN VHB+/Anti-VHD+/ARN VHD+ y ALT y AST con niveles elevados; este patrón serológico y molecular sugiere una superinfección puesto que presenta marcadores de reactivación dado que es posible que el Anti-HBc IgM reaparezca durante la infección crónica. En 15/22 casos

se detectaron los marcadores Anti-HBc IgM-/Anti-HBc Total+/ARN-VHD+ que corresponden a posibles casos de superinfección (82).

Es interesante, en dos casos en los que no se detectaron los marcadores HBsAg/Anti-HBc de La Guajira, en uno se logró amplificar los genomas de VHB y VHD, y en el otro caso sólo se detectó ARN VHD. Según los perfiles serológicos y moleculares se podría tratar de dos casos de infección oculta secundaria (20). Un patrón similar fue descrito en el estudio realizado por Chemin y colaboradores en el cual reportan la presencia de Anti-VHD en 2/160 pacientes con infección por VHC pero sin ningún marcador serológico ni molecular de infección por VHB (142). Tal como el estudio lo describe, al no tener muestra de tejido hepático disponible para analizar la presencia de cccADN, no se puede descartar que se traten de casos de OBI.

En el presente estudio se caracterizó el genotipo III de VHD en 8/18 muestras que corresponde al genotipo más prevalente en Suramérica y hasta la fecha el único reportado en el país (54,109). Sin embargo, en 10/18 muestras se caracterizó el genotipo I de VHD. Este hallazgo representa el primer reporte de circulación del genotipo I en Colombia.

El genotipo I de VHD tiene una distribución global, y aunque en Sur América se había identificado únicamente el genotipo III, en 2001 Quintero y colaboradores reportaron por primera vez el genotipo I en indígenas Perijá en Venezuela; los autores sugieren que se debe a contacto con migrantes Europeos en el último siglo (143). En Brasil el genotipo I de VHD también fue reportado en 2006 en comunidades indígenas de los estados de Acre y Rondonia, donde este genotipo fue encontrado en el 55% (22/40) de las muestras secuenciadas (144). En 2015, se detectó el genotipo I de VHD en el 7,6% de las muestras de muestras de la seroteca del Centro de Investigación en Medicina Tropical de Rodonia, Brasil, (145).

Teniendo en cuenta que este es el primer reporte de genotipo I de VHD en Colombia, y que había sido caracterizado en casos en Venezuela y en Brasil, incluyendo en la región de la cuenca amazónica (143,145,146), es posible que la introducción se haya dado por la interacción con poblaciones de Venezuela y Brasil. Las relaciones filogenéticas de VHB y VHD con secuencias de Venezuela, Brasil, y

Perú, sugiere una interacción interétnica entre diferentes comunidades, más allá de los límites geopolíticos del país, hipótesis que ya había sido propuesta por di Filippo y colaboradores (54). López y Colaboradores también han descrito estas relaciones entre la comunidad Tikuna que habita en Brasil, Colombia y en Perú desde un análisis etnohistórico y etnográfico (147).

Estos resultados y la introducción de nuevos genotipos y subgenotipos de VHB y VHD sugieren que estas comunidades no sólo interactúan con otras poblaciones cercanas, como ha sido postulado por otros autores (147), también sugiere la creciente relación con personas procedentes de otras regiones del país y de otros países, para lo cual es necesario realizar análisis de filogeografía.

En cuanto a la coinfección/superinfección, en 9/20 casos detectamos el genoma de VHB y VHD simultáneamente. Diversos estudios han encontrado la coinfección /superinfección del genotipo III de VHD y genotipo F de VHB, subgenotipo F1b o F3 (148). En este estudio también caracterizamos la coinfección/superinfección de los genotipos F1b de VHB y III de VHD en 1/9 y el subgenotipo F3 de VHB y III de VHD en 2/9. Asimismo, identificamos F1b de VHB y I de VHD en 2/9, y F3 de VHB con el genotipo I de VHD en 4/9. La asociación entre el genotipo F de VHB y I de VHD también ha sido descrita en Venezuela en la comunidad Perijá (143). Aunque la coinfección con el genotipo D de VHB también se ha reportado en Sur América (96,149), no detectamos ningún caso en la población de estudio.

Este estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar hay un sesgo en la representatividad y número de casos de cada uno de los departamentos, puesto que es dependiente de los casos notificados al SIVIGILA, y la accesibilidad de los individuos según su lugar de vivienda. Pese a esta limitación, se logró caracterizar los marcadores serológicos y moleculares de la infección por VHB y VHD, y confirmar la circulación de ambos virus en los cuatro departamentos de estudio, con un tamaño de muestra superior al calculado en el estudio.

La estrategia de tamizaje fue mediante pruebas rápidas para HBsAg en los controles durante el trabajo de campo, y no se confirmó por inmunoensayo por limitaciones presupuestales del proyecto y por la cantidad de suero; por lo cual es

posible que se hayan incluido muestras de individuos HBsAg+ con un título de HBsAg por debajo del límite de detección de la prueba rápida. Adicionalmente, no se contó con la información clínica de la población de estudio, necesaria para una mejor caracterización de los casos.

La región amplificada y secuenciada para VHB ORF S es de 336pb, por lo cual no tuvo suficiente resolución filogenética para identificar los subgenotipos con Bootstrap >70; las metodologías usadas para las regiones PreS1 y PreS2 tuvieron una baja eficiencia, por lo cual se hace necesario nuevos protocolos para mejorar la amplificación de estas regiones y la amplificación del genoma completo del virus.

Perspectivas

Se evidenció la necesidad de una buena resolución filogenética para caracterizar los genotipos y subgenotipos que están circulando en comunidades indígenas del país, pero también para la identificación de mutaciones, no sólo en la región PreS1/PreS2/S, sino también en la región Pol y Core/Precore, que puedan tener un impacto clínico; por lo cual en el momento nos encontramos estandarizando metodologías para la amplificación del genoma completo de VHB y VHD.

Adicionalmente, con los resultados obtenidos se evidenció el alto subregistro de VHD, con siete casos notificados entre el 2016-2020 en todo el territorio nacional y ninguno en estos departamentos, pero con una prevalencia del 29,33% de marcadores serológicos y/o moleculares de VHD en la población de estudio; por lo cual es necesario estudiar la epidemiología de esta infección en diferentes comunidades indígenas del país y desarrollar nuevas pruebas serológicas y moleculares para facilitar el acceso al diagnóstico.

La importancia de estudios epidemiológicos que describan las altas prevalencias en estas comunidades y las características moleculares de VHB y VHD que están circulando en los indígenas del país, deben ser tenidas en cuenta para fortalecer la búsqueda activa de casos, aumentando los esfuerzos para prevenir, diagnosticar y brindar tratamiento a indígenas que son particularmente vulnerables por factores como discriminación, condiciones socioeconómicas desfavorables, aislamiento geográfico y diferencias culturales como del lenguaje, la tradición de los partos en casa, el acceso limitado a medicina occidental, lo que evitan que accedan al sistema de salud, y por lo cual se hace necesario una mirada multidisciplinaria y basada en las comunidades.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio aportan evidencia de la importancia de la infección por VHB y VHD como un problema de salud pública en las comunidades indígenas, en particular en las de los departamentos de Amazonas y Guaviare.

Se demostró una alta frecuencia de infección crónica en los casos de indígenas notificados al SIVIGILA (62,67%, 47/75) y una alta prevalencia de marcadores serológicos y/o moleculares de infección por VHD en los casos de la población de estudio (29,33%, 22/75). Adicionalmente, una alta prevalencia de Anti-HBc en los controles (27,33%, 41/150)

Estos resultados sugieren la necesidad de otros estudios poblacionales que permitan conocer la situación epidemiológica de la infección por VHB/VHD en comunidades indígenas del país.

Se confirmó la circulación del genotipo F, subgenotipo F1b, de VHB, y el genotipo III de VHD en comunidades indígenas de Amazonas, como previamente estaba descrito; Adicionalmente, se caracterizó el genotipo F, subgenotipos F3, en Amazonas, Guaviare y La Guajira; el genotipo D en Amazonas y Guaviare; y el genotipo F, subgenotipo F4, en Amazonas. Muy importante el primer reporte de circulación de genotipo I de VHD en Colombia y de VHD en comunidades indígenas de La Guajira y Antioquia.

La introducción de nuevos genotipos de VHB y VHD que habían sido caracterizados en otras poblaciones de Colombia, y/o en países como Venezuela y Brasil, y las relaciones filogenéticas halladas entre estas secuencias, sugieren interacción interétnica entre pueblos indígenas más allá de los límites geopolíticos del país, y con personas de otras regiones de Colombia. Aunque, es necesario realizar un análisis de genoma completo del VHB que permita una mayor resolución filogenética, y análisis filogeográficos para determinar las posibles introducciones de estos genotipos.

Por último, este estudio aporta a la epidemiología de la infección por VHB y VHD en comunidades indígenas en Colombia, que son más vulnerables por factores geográficos, culturales y socioeconómicos, y tienen un acceso limitado a los servicios de salud. Los hallazgos de este estudio demuestran la necesidad de abordar esta problemática desde una mirada interdisciplinaria y basada en las comunidades para fortalecer la prevención por medio de la vacunación, el diagnóstico y la búsqueda activa de casos, y seguimiento de estos.

Referencias

1. Karayiannis P. Hepatitis B virus: virology, molecular biology, life cycle and intrahepatic spread. *Hepato Int.* noviembre de 2017;11(6):500-8.
2. Tsai KN, Kuo CF, Ou JHJ. Mechanisms of Hepatitis B Virus Persistence. *Trends Microbiol.* enero de 2018;26(1):33-42.
3. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci U S A.* septiembre de 1990;87(17):6599-603.
4. Beck J, Nassal M. Hepatitis B virus replication. *World J Gastroenterol WJG.* 7 de enero de 2007;13(1):48-64.
5. Slagle BL, Bouchard MJ. Hepatitis B Virus X and Regulation of Viral Gene Expression. *Cold Spring Harb Perspect Med.* marzo de 2016;6(3):a021402.
6. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* febrero de 2005;32(2):102-12.
7. Tsukuda S, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Res.* 1 de octubre de 2020;182:104925.
8. Nguyen MH, Wong G, Gane E, Kao JH, Dusheiko G. Hepatitis B Virus: Advances in Prevention, Diagnosis, and Therapy. *Clin Microbiol Rev [Internet].* 18 de marzo de 2020 [citado 4 de abril de 2020];33(2). Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/33/2/e00046-19>
9. Nassal M. Hepatitis B viruses: Reverse transcription a different way. *Virus Res.* junio de 2008;134(1-2):235-49.

10. Watanabe T, Sorensen EM, Naito A, Schott M, Kim S, Ahlquist P. Involvement of host cellular multivesicular body functions in hepatitis B virus budding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12 de junio de 2007;104(24):10205-10.
11. Hu J, Liu K. Complete and Incomplete Hepatitis B Virus Particles: Formation, Function, and Application. *Viruses*. 21 de marzo de 2017;9(3):56.
12. Vaillant A. HBsAg, Subviral Particles, and Their Clearance in Establishing a Functional Cure of Chronic Hepatitis B Virus Infection. *ACS Infect Dis*. 11 de junio de 2021;7(6):1351-68.
13. World Health Organization. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2015 [citado 8 de abril de 2022]. 134 p. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/154590>
14. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni L de P. Update on hepatitis B and C virus diagnosis. *World J Virol*. 2015;4(4):323.
15. Idrovo V, Q C, Quintero P. Epidemiología e historia natural de la hepatitis B. *Rev Colomb Gastroenterol*. 1 de marzo de 2009;24:4s-12s.
16. Seto WK, Lo YR, Pawlotsky JM, Yuen MF. Chronic hepatitis B virus infection. *The Lancet*. noviembre de 2018;392(10161):2313-24.
17. Lau KCK, Burak KW, Coffin CS. Impact of Hepatitis B Virus Genetic Variation, Integration, and Lymphtropism in Antiviral Treatment and Oncogenesis. *Microorganisms*. octubre de 2020;8(10):1470.
18. Kao JH. Hepatitis B viral genotypes: Clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17(6):643-50.
19. Tabor E, Hoofnagle JH, Smallwood LA, Drucker JA, Pineda-Tamondong GC, Ni LY, et al. Studies of donors who transmit posttransfusion hepatitis. *Transfusion (Paris)*. diciembre de 1979;19(6):725-31.

-
20. Raimondo G, Locarnini S, Pollicino T, Levrero M, Zoulim F, Lok AS, et al. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* agosto de 2019;71(2):397-408.
 21. Yip T, Wong G. Current Knowledge of Occult Hepatitis B Infection and Clinical Implications. *Semin Liver Dis.* mayo de 2019;39(02):249-60.
 22. Rendon JC, Cortes-Mancera F, Restrepo-Gutierrez JC, Hoyos S, Navas MC. Molecular characterization of occult hepatitis B virus infection in patients with end-stage liver disease in Colombia. *PLoS ONE* [Internet]. 7 de julio de 2017 [citado 30 de marzo de 2020];12(7). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5501523/>
 23. Rios-Ocampo WA, Cortes-Mancera F, Olarte JC, Soto A, Navas MC. Occult Hepatitis B virus infection Among blood donors in Colombia. *Virology* [Internet]. 29 de noviembre de 2014 [citado 2 de abril de 2020];11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4256746/>
 24. Bautista-Amorocho H, Castellanos-Domínguez YZ, Rodríguez-Villamizar LA, Velandia-Cruz SA, Becerra-Peña JA, Farfán-García AE. Epidemiology, Risk Factors and Genotypes of HBV in HIV-Infected Patients in the Northeast Region of Colombia: High Prevalence of Occult Hepatitis B and F3 Subgenotype Dominance. Blackard J, editor. *PLoS ONE*. 2 de diciembre de 2014;9(12):e114272.
 25. an American Health Organization. Immunization [Internet]. PAHO. 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/en/topics/immunization>
 26. Romero M, Góngora DS, Caicedo ML, Benchabane D, Lopez JG. Cost-Minimization and Budget Impact Analysis of a Hexavalent Vaccine (Hexaxim®) in the Colombian Expanded Program on Immunization. *Value Health Reg Issues.* 1 de diciembre de 2021;26:150-9.

27. Garcia D, Porras A, Rico Mendoza A, Alvis N, Navas MC, De La Hoz F, et al. Hepatitis B infection control in Colombian Amazon after 15 years of hepatitis B vaccination. Effectiveness of birth dose and current prevalence. *Vaccine*. 3 de mayo de 2018;36(19):2721-6.
28. Ministerio de Salud y Protección Social. Coberturas en vacunación Departamental [Internet]. Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social; 2020. (Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI)). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/Vacunacion/Paginas/pai.aspx>
29. Organización Panamericana de la Salud, Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto Nacional de Salud, Asociación Profamilia. Evaluación del avance en el cumplimiento de la meta de eliminación de la Hepatitis B en niños y niñas de 5 a 10 años en zonas con probable circulación del virus en Colombia. Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social; 2020 mar. (Informe final de actividades y resultados).
30. Choconta-Piraquive LA, De la Hoz-Restrepo F, Sarmiento-Limas CA. Compliance with birth dose of Hepatitis B vaccine in high endemic and hard to reach areas in the Colombian amazon: results from a vaccination survey. *BMC Health Serv Res* [Internet]. 21 de julio de 2016 [citado 5 de junio de 2020];16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4955212/>
31. de la Hoz F, Perez L, de Neira M, Hall AJ. Eight years of hepatitis B vaccination in Colombia with a recombinant vaccine: factors influencing hepatitis B virus infection and effectiveness. *Int J Infect Dis*. 1 de marzo de 2008;12(2):183-9.
32. de la Hoz F, Perez L, Wheeler JG, de Neira M, Hall AJ. Vaccine coverage with hepatitis B and other vaccines in the Colombian Amazon: do health worker knowledge and perception influence coverage? *Trop Med Int Health* TM IH. abril de 2005;10(4):322-9.
33. Jaramillo CM, de La Hoz F, Porras A, di Filippo D, Choconta-Piraquive LA, Payares E, et al. Characterization of hepatitis B virus in Amerindian children

-
- and mothers from Amazonas State, Colombia. PLoS ONE [Internet]. 10 de octubre de 2017 [citado 30 de marzo de 2020];12(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5634536/>
34. Carman WF, Karayiannis P, Waters J, Thomas HC, Zanetti AR, Manzillo G, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *The Lancet*. agosto de 1990;336(8711):325-9.
 35. Pollicino T, Cacciola I, Saffioti F, Raimondo G. Hepatitis B virus PreS/S gene variants: Pathobiology and clinical implications. *J Hepatol*. agosto de 2014;61(2):408-17.
 36. Peláez-Carvajal D, Forero NJ, Escalante-Mora M, Laiton-Donato K, Usme-Ciro JA. Variabilidad genética en regiones codificantes del antígeno de superficie y el dominio de la transcriptasa inversa de la polimerasa del virus de la hepatitis B, Colombia, 2002-2014. *Biomédica*. 1 de agosto de 2018;38:37-50.
 37. WHO. Hepatitis B [Internet]. WHO; 2019 jul. (World Health Organization Fact Sheet 2018). Disponible en: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
 38. Wiesen E, Diorditsa S, Li X. Progress towards hepatitis B prevention through vaccination in the Western Pacific, 1990–2014. *Vaccine*. mayo de 2016;34(25):2855-62.
 39. Jefferies M, Rauff B, Rashid H, Lam T, Rafiq S. Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. *World J Clin Cases*. 6 de noviembre de 2018;6(13):589-99.
 40. Kao JH. Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus. *Korean J Intern Med*. septiembre de 2011;26(3):255-61.
 41. Instituto Nacional de Salud. INFORME DE EVENTO HEPATITIS B, C Y B-DELTA, COLOMBIA, 2020 [Internet]. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2020. (Informe de Evento). Report No.: 2020. Disponible en:

https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/HEPATITIS%20B,%20C%20Y%20COINFECCI%C3%93N%20B-DELTA_2020.pdf

42. Cardona-Arias JA, Correa JCC, Higueta-Gutiérrez LF. Prevalence of hepatitis B/C viruses and associated factors in key groups attending a health services institution in Colombia, 2019. *PLoS One*. 2020;15(9):e0238655.
43. Bedoya JAP, Cortés Márquez MM, Cardona Arias JA. Seroprevalence of markers of transfusion transmissible infections in blood bank in Colombia. *Rev Saúde Pública*. diciembre de 2012;46:950-9.
44. Navas MC, Suarez I, Carreño A, Uribe D, Rios WA, Cortes-Mancera F, et al. Hepatitis B and Hepatitis C Infection Biomarkers and TP53 Mutations in Hepatocellular Carcinomas from Colombia. *Hepat Res Treat*. 2011;2011:1-10.
45. Cortes-Mancera F, Loureiro CL, Hoyos S, Restrepo JC, Correa G, Jaramillo S, et al. Etiology and Viral Genotype in Patients with End-Stage Liver Diseases admitted to a Hepatology Unit in Colombia. *Hepat Res Treat* [Internet]. 2011 [citado 3 de abril de 2020];2011. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3177233/>
46. Hoyos-Orrego A, Massaro-Ceballos M, Ospina-Ospina M, Gómez-Builes C, Vanegas-Arroyave N, Tobón-Pereira J, et al. Serological markers and risk factors for hepatitis B and C viruses in patients infected with human immunodeficiency virus. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. diciembre de 2006;48(6):321-6.
47. Castro-Arroyave DM, Martínez-Gallego JA, Montoya-Guzmán M, Silva G, Rojas Arbeláez CA. Hepatitis B en indígenas de América Latina: una revisión de la literatura. *Rev Panam Salud Pública*. 23 de marzo de 2022;46:1.

48. Durán MM, Hoz FDL, Jaramillo LS, Rojas C, Buitrago B, Samper JB, et al. Seroepidemiología de la infección por el virus de la hepatitis B en niños de la Amazonía colombiana. *Biomédica*. 1991;11(1-4):43-8.
49. Hoz FDL, Durán MM, Gamarra A Iglesias, Velandia MP, Rojas MC. Factores de riesgo en la transmisión de la hepatitis B en la Amazonía colombiana. *Biomédica*. 1992;12(1):5-9.
50. Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. *World J Gastroenterol*. 2014;20(18):5427.
51. Liu CJ, Kao JH. Global Perspective on the Natural History of Chronic Hepatitis B: Role of Hepatitis B Virus Genotypes A to J. *Semin Liver Dis*. 8 de junio de 2013;33(02):097-102.
52. Allain JP. Epidemiology of Hepatitis B virus and genotype. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. mayo de 2006;36 Suppl 1:S12-17.
53. Alvarado-Mora MV, Pinho JRR. Distribution of HBV genotypes in Latin America. *Antivir Ther*. 2013;18(3 Pt B):459-65.
54. di Filippo Villa D, Cortes-Mancera F, Payares E, Montes N, de la Hoz F, Arbelaez MP, et al. Hepatitis D virus and hepatitis B virus infection in Amerindian communities of the Amazonas state, Colombia. *Virol J*. diciembre de 2015;12(1):172.
55. Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, Bulkow LR, Hurlburt KJ, Homan CE, et al. Hepatitis B Virus Genotypes in Alaska Native People with Hepatocellular Carcinoma: Preponderance of Genotype F. *J Infect Dis*. enero de 2007;195(1):5-11.
56. Santos AO, Alvarado-Mora MV, Botelho L, Vieira DS, Pinho JRR, Carrilho FJ, et al. Characterization of Hepatitis B virus (HBV) genotypes in patients from Rondônia, Brazil. *Virol J*. diciembre de 2010;7(1):315.

57. Piñeiro y Leone FG, Pezzano SC, Torres C, Rodríguez CE, Eugenia Garay M, Fainboim HA, et al. Hepatitis B virus genetic diversity in Argentina: Dissimilar genotype distribution in two different geographical regions; description of hepatitis B surface antigen variants. *J Clin Virol.* agosto de 2008;42(4):381-8.
58. Cooksley WGE. Do we need to determine viral genotype in treating chronic hepatitis B? *J Viral Hepat.* septiembre de 2010;17(9):601-10.
59. Xibing G, Xiaojuan Y, Juanhua W. PD-1 expression on CTL may be related to more severe liver damage in CHB patients with HBV genotype C than in those with genotype B infection. *J Viral Hepat.* abril de 2013;20(4):e1-2.
60. Suzuki Y, Kobayashi M, Ikeda K, Suzuki F, Arfase Y, Akuta N, et al. Persistence of acute infection with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. *J Med Virol.* mayo de 2005;76(1):33-9.
61. Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology.* diciembre de 2002;123(6):1848-56.
62. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol.* enero de 2011;26 Suppl 1:123-30.
63. Rendón JC, Cortés-Mancera F, Duque-Jaramillo A, Ospina MC, Navas MC. Analysis of hepatitis B virus genotypes by restriction fragment length polymorphism. *Biomédica.* 1 de agosto de 2016;36:79-88.
64. Devesa M, Loureiro CL, Rivas Y, Monsalve F, Cardona N, Duarte MC, et al. Subgenotype diversity of hepatitis B virus American genotype F in Amerindians from Venezuela and the general population of Colombia. *J Med Virol.* enero de 2008;80(1):20-6.
65. Alvarado-Mora MV, Romano CM, Gomes-Gouvêa MS, Gutierrez MF, Carrilho FJ, Pinho JRR. Phylogenetic analysis of complete genome sequences of

- hepatitis B virus from an Afro-Colombian community: presence of HBV F3/A1 recombinant strain. *Virology*. 24 de octubre de 2012;9:244.
66. Alvarado Mora MV, Romano CM, Gomes-Gouvea MS, Gutierrez MF, Carrilho FJ, Pinho JRR. Molecular epidemiology and genetic diversity of hepatitis B virus genotype E in an isolated Afro-Colombian community. *J Gen Virol*. 1 de febrero de 2010;91(2):501-8.
67. Rizzetto M, Canese MG, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut*. diciembre de 1977;18(12):997-1003.
68. Rizzetto M, Hoyer B, Canese MG, Shih JW, Purcell RH, Gerin JL. delta Agent: association of delta antigen with hepatitis B surface antigen and RNA in serum of delta-infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A*. octubre de 1980;77(10):6124-8.
69. ICTV. ICTV Taxonomy history: Deltavirus [Internet]. ICTV. 2020. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=202005347
70. Hughes SA, Wedemeyer H, Harrison PM. Hepatitis delta virus. *The Lancet*. 2 de julio de 2011;378(9785):73-85.
71. Zuccola HJ, Rozzelle JE, Lemon SM, Erickson BW, Hogle JM. Structural basis of the oligomerization of hepatitis delta antigen. *Structure*. julio de 1998;6(7):821-30.
72. Xia YP, Yeh CT, Ou JH, Lai MM. Characterization of nuclear targeting signal of hepatitis delta antigen: nuclear transport as a protein complex. *J Virol*. febrero de 1992;66(2):914-21.
73. Lucifora J, Delphin M. Current knowledge on Hepatitis Delta Virus replication. *Antiviral Res*. julio de 2020;179:104812.

74. Urban S, Neumann-Haefelin C, Lampertico P. Hepatitis D virus in 2021: virology, immunology and new treatment approaches for a difficult-to-treat disease. *Gut*. septiembre de 2021;70(9):1782-94.
75. Li YJ, Macnaughton T, Gao L, Lai MMC. RNA-Templated Replication of Hepatitis Delta Virus: Genomic and Antigenomic RNAs Associate with Different Nuclear Bodies. *J Virol*. julio de 2006;80(13):6478-86.
76. Wu HN, Lin YJ, Lin FP, Makino S, Chang MF, Lai MM. Human hepatitis delta virus RNA subfragments contain an autocleavage activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. marzo de 1989;86(6):1831-5.
77. Taylor JM. Infection by Hepatitis Delta Virus. *Viruses*. 16 de junio de 2020;12(6):E648.
78. Griffin BL, Chasovskikh S, Dritschilo A, Casey JL. Hepatitis delta antigen requires a flexible quasi-double-stranded RNA structure to bind and condense hepatitis delta virus RNA in a ribonucleoprotein complex. *J Virol*. julio de 2014;88(13):7402-11.
79. Glenn JS, Watson JA, Havel CM, White JM. Identification of a prenylation site in delta virus large antigen. *Science*. 29 de mayo de 1992;256(5061):1331-3.
80. Wu JC, Chen CM, Sheen IJ, Lee SD, Tzeng HM, Choo KB. Evidence of transmission of hepatitis D virus to spouses from sequence analysis of the viral genome. *Hepatology*. diciembre de 1995;22(6):1656-60.
81. Sagnelli C, Pisaturo M, Curatolo C, Codella AV, Coppola N, Sagnelli E. Hepatitis B virus/hepatitis D virus epidemiology: Changes over time and possible future influence of the SARS-CoV-2 pandemic. *World J Gastroenterol*. 14 de noviembre de 2021;27(42):7271-84.
82. Botelho-Souza LF, Vasconcelos MPA, dos Santos A de O, Salcedo JMV, Vieira DS. Hepatitis delta: virological and clinical aspects. *Virol J* [Internet]. 13 de

- septiembre de 2017 [citado 8 de noviembre de 2019];14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5597996/>
83. Usai C, Gill US, Riddell AC, Asselah T, Kennedy PT. Review article: emerging insights into the immunopathology, clinical and therapeutic aspects of hepatitis delta virus. *Aliment Pharmacol Ther.* abril de 2022;55(8):978-93.
 84. Farci P. Diagnostic and Prognostic Significance of the IgM Antibody to the Hepatitis Delta Virus. *JAMA J Am Med Assoc.* 21 de marzo de 1986;255(11):1443.
 85. Williams V, Brichler S, Radjef N, Lebon P, Goffard A, Hober D, et al. Hepatitis delta virus proteins repress hepatitis B virus enhancers and activate the alpha/beta interferon-inducible MxA gene. *J Gen Virol.* 1 de noviembre de 2009;90(11):2759-67.
 86. Shirvani-Dastgerdi E. Molecular interactions between hepatitis B virus and delta virus. *World J Virol.* 2015;4(2):36.
 87. Eiger BioPharmaceuticals. Lonafarnib/Ritonavir for HDV [Internet]. Lonafarnib/Ritonavir for HDV. Disponible en: <https://www.eigerbio.com/hepatitis-delta/>
 88. Yen L, Magnier M, Weissleder R, Stockwell BR, Mulligan RC. Identification of inhibitors of ribozyme self-cleavage in mammalian cells via high-throughput screening of chemical libraries. *RNA.* mayo de 2006;12(5):797-806.
 89. Chang J, Taylor JM. Susceptibility of Human Hepatitis Delta Virus RNAs to Small Interfering RNA Action. *J Virol.* septiembre de 2003;77(17):9728-31.
 90. Osiowy C, Swidinsky K, Haylock-Jacobs S, Sadler MD, Fung S, Wong D, et al. Molecular epidemiology and clinical characteristics of hepatitis D virus infection in Canada. *JHEP Rep.* mayo de 2022;4(5):100461.

91. Yurdaydin C, Toy M. Hepatitis Delta Virus Infection: A Large Burden After All? *J Infect Dis.* 27 de abril de 2020;221(10):1573-5.
92. Miao Z, Zhang S, Ou X, Li S, Ma Z, Wang W, et al. Estimating the Global Prevalence, Disease Progression, and Clinical Outcome of Hepatitis Delta Virus Infection. *J Infect Dis.* 27 de abril de 2020;221(10):1677-87.
93. Torres JR. Hepatitis B and hepatitis delta virus infection in South America. *Gut.* 1996;38 Suppl 2:S48-55.
94. World Health Organization. Hepatitis D [Internet]. 2019 jul. (Fact Sheets). Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d>
95. Brancaccio G, Shanyinde M, Puoti M, Gaeta GB, Monforte AD, Vergori A, et al. Hepatitis delta coinfection in persons with HIV: misdiagnosis and disease burden in Italy. *Pathog Glob Health.* 7 de marzo de 2022;1-9.
96. Crispim MAE, Fraiji NA, Campello SC, Schriefer NA, Stefani MMA, Kiesslich D. Molecular epidemiology of hepatitis B and hepatitis delta viruses circulating in the Western Amazon region, North Brazil. *BMC Infect Dis.* 21 de febrero de 2014;14:94.
97. Gomes-Gouvêa MS, Soares MCP, Bensabath G, de Carvalho-Mello IMVG, Brito EMF, Souza OSC, et al. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *J Gen Virol.* noviembre de 2009;90(Pt 11):2638-43.
98. Días B, Moraes MAP. Hepatite de Lábrea. *Hepatite Lábrea.* 1973;15:86-93.
99. Bensabath G, Hadler SC, Soares MCP, Fields H, Dias LB, Popper H, et al. Hepatitis Delta Virus Infection and Labrea Hepatitis: Prevalence and Role in Fulminant Hepatitis in the Amazon Basin. *JAMA.* 24 de julio de 1987;258(4):479-83.

100. Aguilera A, Morales A, Buitrago B, Guzmán M, Peña C, Marquez G. Hepatitis fulminante epidémica de la Sierra Nevada de Santa Marta I. Estudio de un brote en la localidad de Julio Zawady, Ciénaga, Magdalena Colombia. *Biomédica*. 1981;1(4):187-97.
101. Azcarate CE, Hospital Manuel Elkin Patarroyo. Brote de hepatitis b delta, en el municipio de Inírida, Guainía, 2004-2005 [Internet]. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2005. (Inf Quinc Epidemiol Nac). Report No.: 10(11). Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador/IQEN/IQEN%20vol%2010%202005%20num%2011.pdf>
102. Alvarado-Mora MV, Gutierrez Fernandez MF, Gomes-Gouvêa MS, de Azevedo Neto RS, Carrilho FJ, Pinho JRR. Hepatitis B (HBV), Hepatitis C (HCV) and Hepatitis Delta (HDV) Viruses in the Colombian Population—How Is the Epidemiological Situation? Gluud LL, editor. *PLoS ONE*. 29 de abril de 2011;6(4):e18888.
103. Dény P. Hepatitis delta virus genetic variability: from genotypes I, II, III to eight major clades? *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;307:151-71.
104. Nogueira-Lima FS, Botelho-Souza LF, Roca TP, Santos AOD, Oliveira S da C, Queiroz JA da S, et al. Phylodynamic and Phylogeographic Analysis of Hepatitis Delta Virus Genotype 3 Isolated in South America. *Viruses*. 29 de octubre de 2019;11(11):E995.
105. Barros LMF, Gomes-Gouvêa MS, Pinho JRR, Alvarado-Mora MV, Dos Santos A, Mendes-Corrêa MCJ, et al. Hepatitis Delta virus genotype 8 infection in Northeast Brazil: inheritance from African slaves? *Virus Res*. septiembre de 2011;160(1-2):333-9.
106. Santos MDC, Gomes-Gouvêa MS, Nunes JDC, Barros LMF, Carrilho FJ, Ferreira A de SP, et al. The hepatitis delta genotype 8 in Northeast Brazil: The

- North Atlantic slave trade as the potential route for infection. *Virus Res.* 15 de septiembre de 2016;224:6-11.
107. Su CW, Huang YH, Huo TI, Shih HH, Sheen IJ, Chen SW, et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. *Gastroenterology.* mayo de 2006;130(6):1625-35.
108. Bensabath G, Dias LB. [Labrea hepatitis (Labrea black fever) and other fulminant forms of hepatitis in Sena Madureira, Acre and Boca do Acre, Amazonas, Brazil]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* agosto de 1983;25(4):182-94.
109. Alvarado-Mora MV, Romano CM, Gomes-Gouvêa MS, Gutierrez MF, Carrilho FJ, Pinho JRR. Dynamics of hepatitis D (delta) virus genotype 3 in the Amazon region of South America. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* agosto de 2011;11(6):1462-8.
110. Russell NK, Nazar K, del Pino S, Gonzalez MA, Bermúdez XPD, Ravasi G. HIV, syphilis, and viral hepatitis among Latin American indigenous peoples and Afro-descendants: a systematic review. *Rev Panam Salud Pública.* 4 de enero de 2019;43:1-13.
111. Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto Nacional de Salud. Brote de hepatitis B/delta, en comunidades indígenas del municipio de Mitú, Vaupés, noviembre de 2000 [Internet]. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2001 p. 33-48. (*Inf Quinc Epidemiol Nac*). Report No.: 6(3). Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/IQEN/IQEN%20vol%2006%202001%20num%203.pdf>
112. Zeng GB, Wen SJ, Wang ZH, Yan L, Sun J, Hou JL. A novel hepatitis B virus genotyping system by using restriction fragment length polymorphism patterns of S gene amplicons. *World J Gastroenterol.* 1 de noviembre de 2004;10(21):3132-6.

113. Schaefer S, Glebe D, Wend UC, Oyunbileg J, Gerlich WH. Universal primers for real-time amplification of DNA from all known Orthohepadnavirus species. *J Clin Virol.* 1 de mayo de 2003;27(1):30-7.
114. Günther S, Li BC, Miska S, Krüger DH, Meisel H, Will H. A novel method for efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol.* septiembre de 1995;69(9):5437-44.
115. Wang H, Ryu WS. Hepatitis B virus polymerase blocks pattern recognition receptor signaling via interaction with DDX3: implications for immune evasion. *PLoS Pathog.* 15 de julio de 2010;6(7):e1000986.
116. Kuo MY, Chao M, Taylor J. Initiation of replication of the human hepatitis delta virus genome from cloned DNA: role of delta antigen. *J Virol.* mayo de 1989;63(5):1945-50.
117. Tengan FM, Abdala E, Nascimento M, Bernardo WM, Barone AA. Prevalence of hepatitis B in people living with HIV/AIDS in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 24 de 2017;17(1):587.
118. Baig S. Gender disparity in infections of Hepatitis B virus. *J Coll Physicians Surg--Pak JCPSP.* septiembre de 2009;19(9):598-600.
119. Instituto Nacional de Salud. HEPATITIS B, C Y COINFECCION B-D [Internet]. Colombia: Instituto Nacional de Salud; 2021. (Informe de Evento). Report No.: 2021. Disponible en: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.ins.gov.co/buscar-eventos/Informesdeevento/HEPATITIS%20BCD%20INFORME%202021.pdf>
120. Kryger P. Significance of anti-HBc IgM in the differential diagnosis of viral hepatitis. *J Virol Methods.* 1 de abril de 1985;10(4):283-9.
121. Alegre F, Moreno D, Quiroga J. Infección aguda por el VHB. *An Sist Sanit Navar.* 2004;27:17-25.

122. de Noya BA, Colmenares C, Noya O. Comunidad Antigénica y Reactividad Cruzada: Su repercusión en el Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Parasitarias. Especial referencia a Esquistosomiasis. Arch Venez Farmacol Ter. abril de 2001;20(2):163-71.
123. di Filippo D. Infección por el Virus de la Hepatitis B y el Virus de la Hepatitis D en comunidades indígenas del departamento del Amazonas, Colombia. [Colombia]: Universidad de Antioquia; 2013.
124. Ríos-Hincapié CY, Murad-Rivera R, Tohme RA, Ropero AM, Gómez B, Cardona DL, et al. Progress towards the elimination of hepatitis B in children in Colombia: a novel two-phase study approach. J Viral Hepat. 16 de junio de 2022;jvh.13719.
125. Duque-Jaramillo A, Rendón JC, Cortés-Mancera F, Correa G, Restrepo JC, Hoyos S, et al. Occult Hepatitis B Virus Infection in Liver Transplant Patients. Rev Colomb Gastroenterol. diciembre de 2016;31(4):347-53.
126. Alvarado Mora MV, Romano CM, Gomes-Gouvêa MS, Gutierrez MF, Botelho L, Carrilho FJ, et al. Molecular characterization of the Hepatitis B virus genotypes in Colombia: a Bayesian inference on the genotype F. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. enero de 2011;11(1):103-8.
127. Devesa M, Rodríguez C, León G, Liprandi F, Pujol FH. Clade analysis and surface antigen polymorphism of hepatitis B virus American genotypes. J Med Virol. marzo de 2004;72(3):377-84.
128. Delfino CM, Berini C, Eirin ME, Malan R, Pedrozo W, Krupp R, et al. New natural variants of hepatitis B virus among Amerindians from Argentina with mainly occult infections. J Clin Virol. 1 de junio de 2012;54(2):174-9.
129. Spitz N, Mello FCA, Moreira AS, Gusatti CS, Martins RMB, Gomes SA, et al. Reconstruction of the spatial and temporal dynamics of hepatitis B virus

- genotype D in the Americas. Ciccozzi M, editor. PLOS ONE. 25 de julio de 2019;14(7):e0220342.
130. Lazarevic I, Banko A, Miljanovic D, Cupic M. Immune-Escape Hepatitis B Virus Mutations Associated with Viral Reactivation upon Immunosuppression. *Viruses*. septiembre de 2019;11(9):778.
131. Jaramillo CM, Navas MC. Variantes de escape del virus de la hepatitis B. *Rev Chil Infectol*. abril de 2015;32(2):190-7.
132. Scarponi CF de O, Silva RDN da, Souza Filho JA de, Guerra MRL, Pedrosa MAF, Mol MPG. Hepatitis Delta Prevalence in South America: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:e20180289.
133. Torres JR, Mondolfi A. Protracted Outbreak of Severe Delta Hepatitis: Experience in an Isolated Amerindian Population of the Upper Orinoco Basin. *Clin Infect Dis*. 1 de enero de 1991;13(1):52-5.
134. Duarte MC, Cardona N, Poblete F, González K, García M, Pacheco M, et al. A comparative epidemiological study of hepatitis B and hepatitis D virus infections in Yanomami and Piaroa Amerindians of Amazonas State, Venezuela. *Trop Med Int Health TM IH*. agosto de 2010;15(8):924-33.
135. Hadler SC, de Monzon MA, Rivero D, Perez M, Bracho A, Fields H. Epidemiology and Long-Term Consequences of Hepatitis Delta Virus Infection in the Yucpa Indians of Venezuela. *Am J Epidemiol*. 15 de diciembre de 1992;136(12):1507-16.
136. Manock SR, Kelley PM, Hyams KC, Douce R, Smalligan RD, Watts DM, et al. An outbreak of fulminant hepatitis delta in the Waorani, an indigenous people of the Amazon basin of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg*. octubre de 2000;63(3-4):209-13.

137. Braga WSM. [Hepatitis B and D virus infection within Amerindians ethnic groups in the Brazilian Amazon: epidemiological aspects]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37 Suppl 2:9-13.
138. Cabezas S C, Suárez J M, Romero C G, Carrillo P C, García MP, Reátegui S J, et al. Hiperendemicidad de Hepatitis viral B y Delta en pueblos indígenas de la Amazonía Peruana. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* abril de 2006;23(2):114-22.
139. Mederacke I, Yurdaydin C, Dalekos GN, Bremer B, Erhardt A, Cakaloglu Y, et al. Anti-Hdv Immunoglobulin M Testing in Hepatitis Delta Revisited: Correlations with Disease Activity and Response to Pegylated Interferon- α 2A Treatment. *Antivir Ther.* febrero de 2012;17(2):305-12.
140. Wranke A, Heidrich B, Ernst S, Calle Serrano B, Caruntu FA, Curescu MG, et al. Anti-HDV IgM as a Marker of Disease Activity in Hepatitis Delta. *PLoS ONE.* 29 de julio de 2014;9(7):e101002.
141. Dimitrakakis M, Waters MJ, Wootton A, Gust I. Detection of IgM Antibodies to Delta Antigen After Coinfection and Superinfection With the Delta Virus. *J Med Virol.* 1986;20(4):305-11.
142. Chemin I, Pujol FH, Scholtès C, Loureiro CL, Amirache F, Levrero M, et al. Preliminary Evidence for Hepatitis Delta Virus Exposure in Patients Who Are Apparently Not Infected With Hepatitis B Virus. *Hepatology.* febrero de 2021;73(2):861-4.
143. Quintero A, Uzcátegui N, Loureiro CL, Villegas L, Illarramendi X, Guevara ME, et al. Hepatitis delta virus genotypes I and III circulate associated with hepatitis B virus genotype F In Venezuela. *J Med Virol.* julio de 2001;64(3):356-9.
144. Paraná R, Kay A, Molinet F, Viana S, Silva LK, Salcedo JM, et al. HDV genotypes in the Western Brazilian Amazon region: A preliminary report. *Am J Trop Med Hyg.* septiembre de 2006;75(3):475-9.

145. Botelho-Souza LF, Souza Vieira D, de Oliveira Dos Santos A, Cunha Pereira AV, Villalobos-Salcedo JM. Characterization of the Genotypic Profile of Hepatitis Delta Virus: Isolation of HDV Genotype-1 in the Western Amazon Region of Brazil. *Intervirology*. 2015;58(3):166-71.
146. Sharafi H, Rezaee-Zavareh MS, Miri SM, Alavian SM. Global Distribution of Hepatitis D Virus Genotypes: A Systematic Review. *Hepat Mon [Internet]*. 2020 [citado 29 de junio de 2022];20(2). Disponible en: <https://brieflands.com/articles/hepatmon-102268.html#abstract>
147. Lopez Garcés CL. Ticunas brasileiros, colombianos y peruanos: Etnicidad y nacionalidad em la región de fronteras del Alto Amazonas/Solimões [Internet] [Doctorado]. [Brasil]: Universidade de Brasília; 2000. Disponible en: <https://www.funag.gov.br/ipri/btd/index.php/9-teses/221-ticunas-brasileiros-colombianos-y-peruanos-etnicidad-y-nacionalidad-em-la-region-de-fronteras-del-alto-amazonas-solimoos>
148. Montoya-Guzmán M, Posada-Álvarez C, Lopera-Restrepo LC, di Filippo-Villa D, Navas MC. Infección por el virus de la hepatitis delta. *Hepatología*. 2020;1(2):116-33.
149. Casey JL, Brown TL, Colan EJ, Wignall FS, Gerin JL. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 de octubre de 1993;90(19):9016-20.

Anexos

Anexo 1. Primers para la amplificación del genoma de VHB y VHD

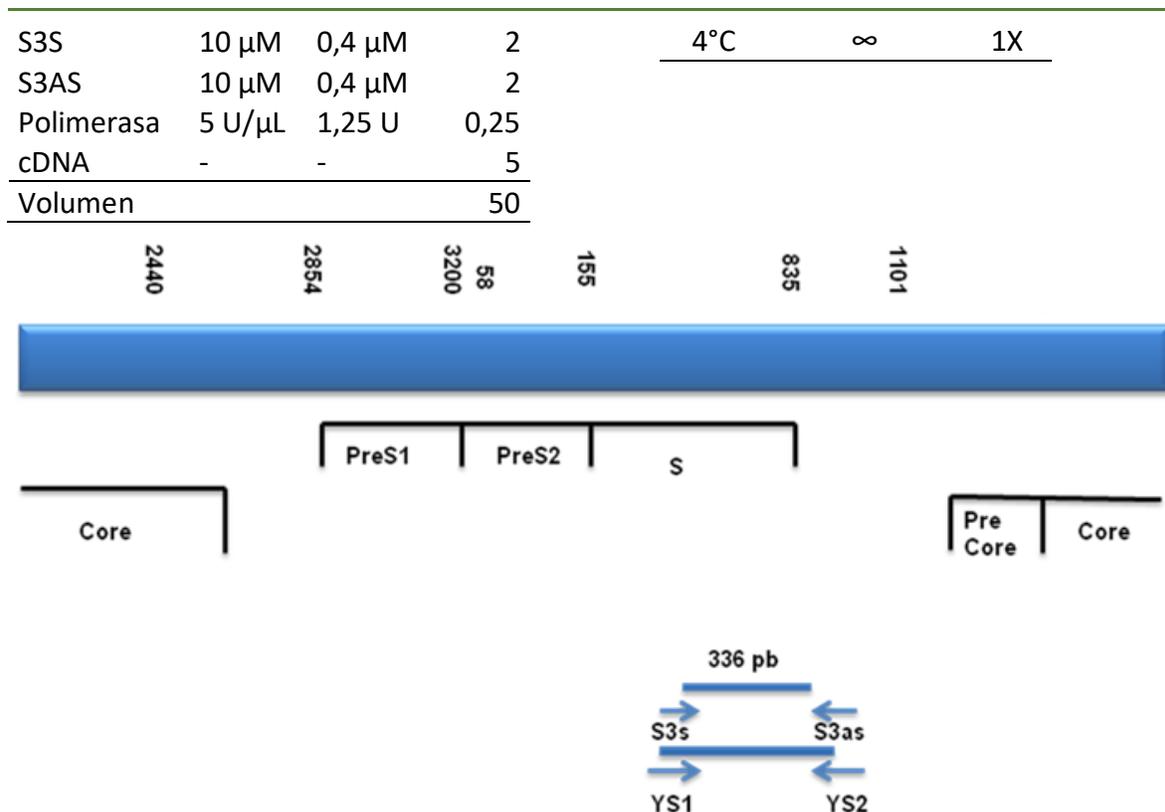
Nombre	Secuencia 5'-3'	Posición	Referencia
YS1	GCGGGGTTTTCTTGT TGA	203-221	Zeng et al., 2004
YS2	GGGACTCAAGATG TTGTACAG	787-767	Zeng et al., 2004
S3s	TGCCTCATCTTCTTRTTGGTTCT	422-444	Schaefer et al., 2003
S3as	CCCCAAWACCAVATCATCCATATA	758-735	Schaefer et al., 2003
P1	TTTTTCACCTCTGCCTAATCA	1823-1843	Gunther et al., 1995
P2	AAAAAGTTGCATGGTGCTGG	1827-1808	Gunther et al., 1995
2440N	TTGAGATCTTCTGCGACGCGGC	2412-2433	Hu et al., 2000
58P	CCTGCTGGTGGCTCCAGTTC	77-58	Hu et al., 2000
P3006f	AATGGCAAACAAGGTAGGAGTGG	194-215	Jaramillo et al., 2017
P213r	AAACACACCGCTGTAACACGA	2994-2979	Jaramillo et al., 2017
8531U	CGGATGCCAGGTCGGACC	855-873	Zhang et al., 1996
1302D	GGATTCACCGACAAGGAGAG	1324-1305	Zhang et al., 1996
HDV-E	GAGATGCCATGCCGACCCGAAGAG	885-908	Casey et al., 1993
HDV-A	GAAGGAAGGCCCTCGAGAACAAGA	1290-1267	Casey et al., 1993

Las posiciones de los primers están de acuerdo con los genomas de referencia NC_003977.2 y NC_001653.2 de VHB y VHD respectivamente.

Anexo 2. PCR anidada ORF S de VHB

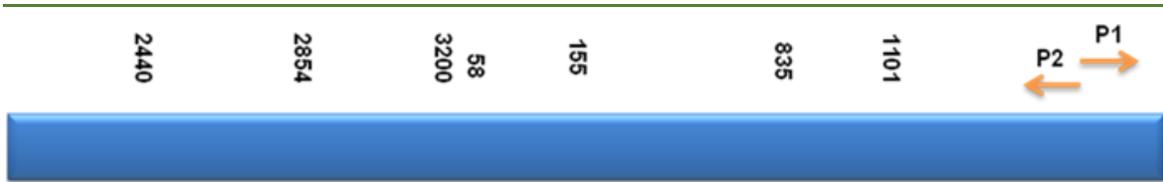
Primera Ronda				Ciclaje		
	Ci	Cf	μL			
H2O NF	-	-	10,75	95°C	3 min	1X
Buffer	10 X	1X	2,5	95°C	45 seg	
MgCl ₂	25 mM	4 mM	4	53°C	1 min	35X
dNTPs	10 mM	0,2 mM	0,5	72°C	1:30 min	
YS1	10 μM	0,4 μM	1	72°C	6 min	1X
YS2	10 μM	0,4 μM	1	4°C	∞	1X
Polimerasa	5 U/μL	1,25 U	0,25			
cDNA	-	-	5			
Volumen			25			

Segunda Ronda				Ciclaje		
	Ci	Cf	μL			
H2O NF	-	-	30,75	95°C	4 min	1X
Buffer	10 X	1X	5	95°C	1 min	
MgCl ₂	25 mM	2 mM	4	50°C	1:15 min	40X
dNTPs	10 mM	0,2 mM	1	72°C	1:30 min	
				72°C	5 min	1X



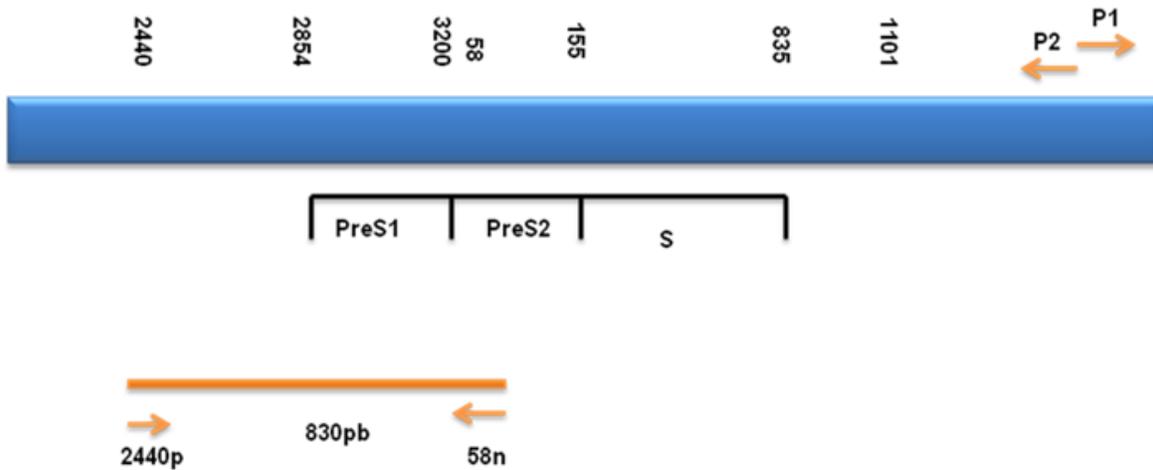
Anexo 3. PCR P1-P2 del genoma de VHB

PRIMERA RONDA				Ciclaje		
	Ci	Cf	V(µL)			
H2O NF			25	94°C	4 min	1X
Buffer	10X	1X	5	94°C	40 seg	
MgCl2	25 mM	1,5 mM	3	55°C	1 min	10X
dNTPs	10 mM	0,2 mM	1	72°C	3 min	
P1	10 µM	1 µM	5	94°C	40 seg	
P2	10 µM	1 µM	5	60°C	1 min	10X
Polimerasa	5 U/µL	5U	1	72°C	5 min	
DNA			5	94°C	40 seg	
V total			50	62°C	1 min	10X
				72°C	7 min	
				94°C	40 seg	
				62°C	1 min	10X
				72°C	9 min	
				72°C	10 seg	1X
				4°C	∞	1X

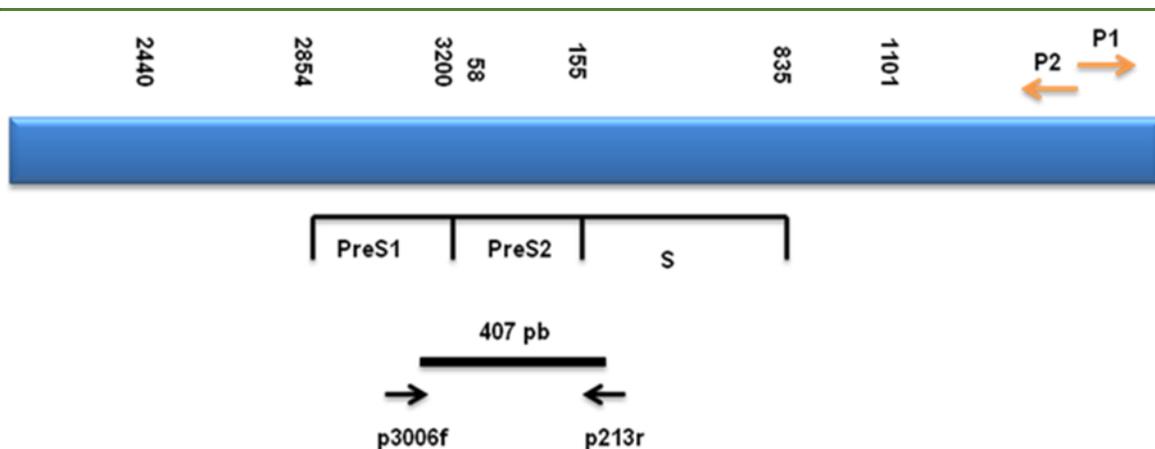


Anexo 4. PCR anidada segunda ronda región PreS1

	Ci	Cf	V(μL)	Ciclaje		
H2O NF			10,7	95°C	3 min	1X
Buffer	10X	1X	5	95°C	40 seg	
MgCl2	25 mM	1,5 mM	1,5	55°C	30 seg	35X
dNTPs	10 mM	0,2 mM	0,5	72°C	1 min	
p3006f	10 μM	0,4 μM	1	72°C	10 min	1X
p213r	10 μM	0,4 μM	1	4°C	∞	1X
Polimerasa	5 U/μL	1,5 U	0,3			
DNA			5			
V total			25			



Anexo 5. PCR anidada segunda ronda región PreS2



	Ci	Cf	V(μL)
H2O NF			10,7
Buffer	10X	1X	5
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	1,5
dNTPs	10 mM	0,2 mM	0,5
p3006f	10 μM	0,4 μM	1
p213r	10 μM	0,4 μM	1
Polimerasa	5 U/μL	1,5 U	0,3
DNA			5
V total			25

Ciclaje		
95°C	3 min	1X
95°C	30 seg	
59°C	30 seg	35X
72°C	1 min	
72°C	10 min	1X
4°C	∞	1X

Anexo 6. qPCR para VHB

qPCR			
	Ci	Cf	μL
SYBR MIX	-	-	12,5
S3S	10 μM	0,3 μM	0,75
S3as	10 μM	0,3 μM	0,75
H2O NF	-	-	9
DNA	-	-	2
Vf			25

Ciclaje		
50°C	2 min	x1
95°C	10 min	x1
95°C	15 s	
50°C	30 s	x40
72°C	30 s	
72°C	1 min	x1
4°C	∞	x1

Anexo 7. RT-PCR anidada para la detección del genoma de VHD

RT			
	Ci	Cf	μL
H2O NF	-	-	10,5
Buffer	5X	1X	4

Ciclaje	
42°C	1 h
70°C	10 min
4°C	∞

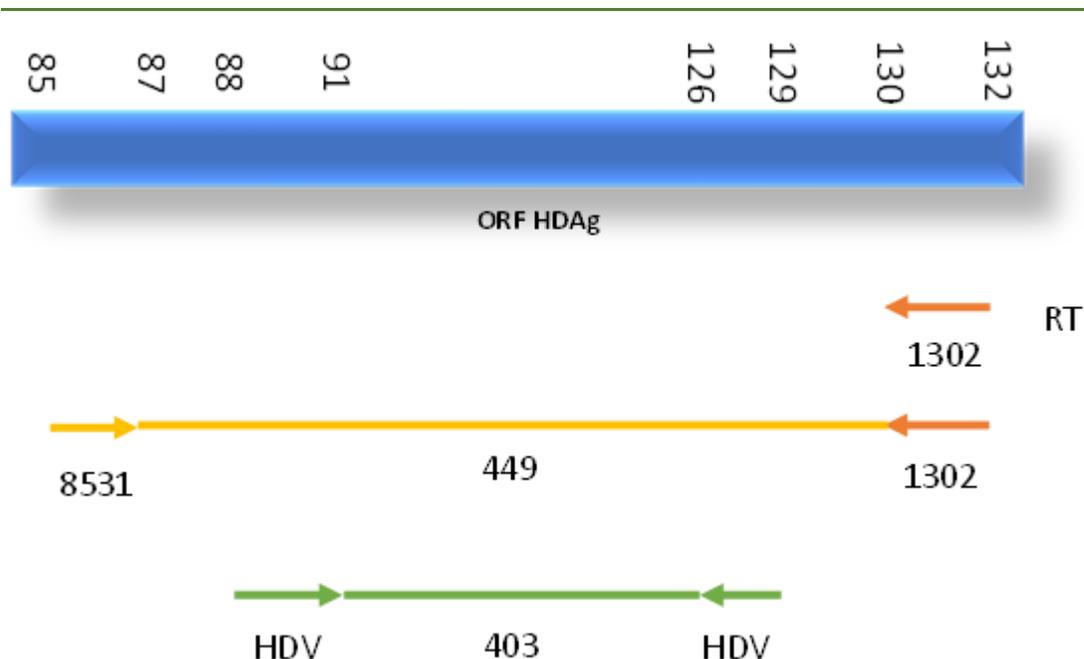
dNTPs	10 mM	0,67 mM	2
1302D	10 µM	0,67 µM	2
RT	200 U/µL	200 U	1
RNaseOUT	40 U/µL	20 U	0,5
RNA	-	-	10
Volumen			30

Primera Ronda			
	Ci	Cf	µL
H2O NF	-	-	24,75
Buffer	10 X	1X	5
MgCl ₂	25 mM	2 mM	4
dNTPs	10 mM	0,2 mM	1
8531U	10 µM	0,5 µM	2,5
1302D	10 µM	0,5 µM	2,5
Polimerasa	5 U/µL	1,25 U	0,25
cDNA	-	-	10
Volumen			50

Segunda Ronda			
	Ci	Cf	µL
H2O NF	-	-	24,75
Buffer	10 X	1X	5
MgCl ₂	25 mM	2 mM	4
dNTPs	10 mM	0,2 mM	1
HDV-E	10 µM	0,5 µM	2,5
HDV-A	10 µM	0,5 µM	2,5
Polimerasa	5 U/µL	1,25 U	0,25
cDNA	-	-	10
Volumen			50

Ciclaje		
95°C	2 min	1X
95°C	30 seg	
56°C	30 seg	35X
72°C	1 min	
72°C	10 min	1X
4°C	∞	1X

Ciclaje		
95°C	2 min	1X
95°C	30 seg	
56°C	30 seg	35X
72°C	1 min	
72°C	10 min	1X
4°C	∞	1X



Anexo 8. qPCR para VHD

qPCR				Ciclaje		
	Ci	Cf	μL			
SYBR MIX	-	-	12,5	50°C	2 min	x1
HDV-E	10 μM	0,3 μM	0,75	95°C	10 min	x1
HDV-A	10 μM	0,3 μM	0,75	95°C	15 s	
H2O NF	-	-	9	56°C	30 s	x40
DNA	-	-	2	72°C	30 s	
Vf			25	72°C	1 min	x1
				4°C	∞	x1

Anexo 9. Cuantificación de la carga viral de VHB en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHB, ORF S. Cada muestra se analiza por triplicado y se toma en cuenta el promedio de los dos Cq más homogéneos. La cuantificación se lleva a cabo de acuerdo a la curva estándar.

Código	Cq	LOG Conc.	copias/ul	copias/ml
5	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	N/A	N/A
25	36,82	-2,21	0,01	6,11
26	37,98	-2,96	0,00	1,10

29	36,03	-3,83	0,00	0,15
30	35,45	-3,32	0,00	0,48
31	36,09	-3,88	0,00	0,13
33	35,50	-3,36	0,00	0,43
35	35,21	-3,11	0,00	0,78
36	36,85	-4,54	0,00	0,03
37	37,93	-2,93	0,00	1,18
38	35,42	-1,31	0,05	48,93
100	24,31	5,84	686441,31	686441306,86
102	31,85	-0,17	0,68	678,44
113	32,37	0,65	4,45	4450,82
115	33,51	-0,08	0,82	822,40
210	19,35	9,02	1057118108,50	1057118108502,42
212	34,58	-0,77	0,17	169,82
214	N/A	N/A	N/A	N/A

Anexo 10. Cuantificación de la carga viral de VHD en las muestras de suero positivas para la detección del genoma de VHD. Cada muestra se analiza por triplicado y se toma en cuenta el promedio de los dos Cq más homogéneos.

Codigo	Cq	Log Conc (copias/ul)	copias/ul	copias/ml
1	28,48	2,72	528,23	528226,56
5	37,31	0,35	2,21	2214,44
6	37,35	0,34	2,17	2166,93
7	36,82	0,48	3,01	3009,34
10	34,36	1,14	13,82	13818,90
16	36,10	0,67	4,69	4686,87
25	34,77	1,09	12,20	12199,08
27	32,55	1,67	46,70	46698,03
31	29,89	2,37	234,80	234804,64
32	26,03	3,39	2435,73	2435733,78
34	22,31	4,36	23141,42	23141422,49
100	34,03	1,23	16,90	16901,81
102	36,33	0,61	4,08	4076,93
103	36,44	0,58	3,81	3808,31
111	22,89	4,21	16332,56	16332563,27
208	34,70	1,10	12,69	12689,21
210	32,07	1,80	62,46	62464,17
214	32,12	1,78	60,60	60599,83

Anexo 11. Base de datos de casos y controles

- **Marcadores serológicos de infección por VHB en los casos notificados al Sivigila y confirmados para HBsAg por inmunoensayo**
 - **Caso de infección aguda o reactivación**

CODIGO	DEPARTAMENTO	CASO/ CONTROL	HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA- VHB	GENOTIPO VHB	MUTACI ON DE ESCAPE	RNA-VHD	GENOTIP O VHD	anti-VHD
100-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	POSITIVO

- **Casos de infección crónica – Amazonas**

CODIGO	DEPARTAMENTO	CASO/CONTROL	HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACION DE			RNA-VHD	VHD	anti-VHD
											GENOTIPO	ESCAPE	GENOTIPO			
001-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO				POSITIVO	3	POSITIVO
004-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
005-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO	
006-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO	
007-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO	
010-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				POSITIVO	3	POSITIVO
011-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
014-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
015-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
016-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				POSITIVO	3	POSITIVO
017-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
018-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
020-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
021-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
022-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		NEGATIVO
023-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				NEGATIVO		POSITIVO
025-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO	
026-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
028-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO				POSITIVO	1	NEGATIVO
029-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO			POSITIVO
030-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
031-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1		NEGATIVO
032-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				POSITIVO	3	POSITIVO
033-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
034-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO				POSITIVO	3	POSITIVO
035-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
036-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
037-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	NEGATIVO			NEGATIVO
038-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F4	NO	NEGATIVO			NEGATIVO

○ **Casos de infección crónica – Guaviare**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD	
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP		
101-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		
102-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
103-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			POSITIVO	1	POSITIVO
105-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
106-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
107-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
108-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
109-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
110-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
111-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			POSITIVO	BAJA CALIDAD	NEGATIVO
113-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		POSITIVO	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
115-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		POSITIVO	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
116-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL		NEGATIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO

○ **Casos de infección crónica – La Guajira**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD	
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP		
210-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
219-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO

○ **Casos de infección crónica – Antioquia**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD	
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP		
300-1	ANT	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		POSITIVO
302-1	ANT	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
303-1	ANT	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		POSITIVO

● **Marcadores serológicos y moleculares de infección por VHB en los casos notificados pero negativos para HBsAg en el proyecto**

○ ***Casos con Resolución de la infección**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP	
009-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
012-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
114-1	GUV	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
204-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
220-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
304-1	ANT	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO

○ **Casos de OBI**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP	
212-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	NEGATIVO	NEGATIVO
214-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1

○ **Casos de VHB notificados– Negativos para todos los Marcadores de infección por VHB en el estudio**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD
	O	L									GENOTIP	N DE	GENOTIP	
002-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
003-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
013-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
019-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
024-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	ELEVADO			NEGATIVO			NEGATIVO	SND
027-1	AMZ	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
200-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
201-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
202-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
203-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
208-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1
213-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	ELEVADO			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
215-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
216-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	ELEVADO			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
217-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
218-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
221-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	ELEVADO			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
222-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO
301-1	ANT	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO	NEGATIVO

• **Marcadores HBeAg y Anti-HBe en casos HBsAg+/Anti-HBc+ con niveles séricos elevados de ALT y/o AST**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD	
	O	L									GENOTIP O VHB	N DE ESCAPE	GENOTIP O VHD		
001-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
004-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
010-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
014-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
015-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
016-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
021-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			NEGATIVO		NEGATIVO
032-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
034-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
100-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	POSITIVO
102-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
210-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO

• **Marcadores serológicos y Moleculares de la infección por VHD de los casos de VHB notificados**

○ **Positivos para detección de ARN-VHD y Anti-VHD**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO		HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO			anti-VHD	
	O	L									GENOTIP O VHB	N DE ESCAPE	GENOTIP O VHD		
001-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
010-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
016-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
032-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
034-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
100-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	POSITIVO
103-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	POSITIVO

○ **Positivos para detección de ARN-VHD y negativos para Anti-VHD**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO												MUTACIO		
	O	L	HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	GENOTIP O VHB	N DE ESCAPE	RNA-VHD	GENOTIP O VHD	anti-VHD
005-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
006-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
007-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
025-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
028-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	NEGATIVO
031-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
102-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
111-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	BAJA CALIDAD	NEGATIVO
208-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	NEGATIVO
210-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
214-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO

○ **Negativos para detección de ARN-VHD y positivos para Anti-VHD**

CODIGO	DEPARTAMENT CASO/CONTRO												MUTACIO		
	O	L	HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	GENOTIP O VHB	N DE ESCAPE	RNA-VHD	GENOTIP O VHD	anti-VHD
023-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		POSITIVO
029-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		POSITIVO
300-1	ANT	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		POSITIVO
303-1	ANT	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			NEGATIVO		POSITIVO

● **Positivos para la detección del genoma de VHB**

CODIGO	DEPARTAMENT O	CASO/CONTRO L	HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	MUTACIO				anti-VHD
											GENOTIP O VHB	N DE ESCAPE	RNA-VHD	GENOTIP O VHD	
005-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
006-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
007-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
025-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
026-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
029-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		POSITIVO
030-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
031-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
033-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
035-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
036-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
037-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
038-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
100-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	POSITIVO
102-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
113-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
115-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	D	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
210-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
212-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	NEGATIVO		NEGATIVO
214-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO

- **Positivos para la detección del genoma de VHD**

CODIGO	DEPARTAMENT O	CASO/CONTRO L											MUTACIO N DE		
			HBsAg	anti-HBc IgM	anti-HBc Total	ALT	AST	HBeAg	Anti-HBe	DNA-VHB	GENOTIP O VHB	ESCAPE	RNA-VHD	GENOTIP O VHD	anti-VHD
001-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
005-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
006-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
007-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	INFERIOR	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	3	NEGATIVO
010-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
016-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
025-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	SND	SND	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
028-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	NEGATIVO
031-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F1B	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
032-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
034-1	AMZ	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO			POSITIVO	3	POSITIVO
100-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	3	POSITIVO
102-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	ELEVADO	ELEVADO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
103-1	GUV	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	POSITIVO
208-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			NEGATIVO			POSITIVO	1	NEGATIVO
210-1	GUA	CASO 1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NORMAL	ELEVADO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO
214-1	GUA	CASO 1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NORMAL	NORMAL			POSITIVO	F3	NO	POSITIVO	1	NEGATIVO

Anexo 12. Artículo: Hepatitis B en indígenas de América Latina: una revisión de la literatura

Link:

chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/55837/v46e22022.pdf?sequence=1&isAllowed=y



Revisión sistemática

Hepatitis B en indígenas de América Latina: una revisión de la literatura

Diana María Castro-Arroyave¹, Jaime Alberto Martínez-Gallego², Melissa Montoya-Guzmán³, Gustavo Silva⁴ y Carlos Alberto Rojas Arbeláez²

Forma de citar Castro-Arroyave DM, Martínez-Gallego JA, Montoya-Guzmán M, Silva G, Rojas Arbeláez CA. Hepatitis B en indígenas de América Latina: una revisión de la literatura. Rev Panam Salud Publica. 2022;46:e22. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.22>

RESUMEN

Objetivo. Identificar publicaciones realizadas entre los años 2000 y 2020 sobre hepatitis B en indígenas de América Latina, con el fin de conocer avances y vacíos en el tema durante los últimos 20 años.

Métodos. Revisión exploratoria y síntesis rápida de la evidencia. El proceso de organización documental se realizó con los programas Excel® y Rayyan®.

Resultados. Se seleccionaron 30 de 107 artículos encontrados, 17 corresponden a estudios epidemiológicos, 10 a revisiones documentales, dos estudios clínicos y una carta al editor. Brasil fue el país con más publicaciones (50%), la mayoría con enfoque epidemiológico. La temática más abordada fue la medición de prevalencia de la infección por hepatitis B con 22 publicaciones, le siguieron 11 estudios que informan resultados de estudios moleculares del virus, siete estudios sobre vacunación, cinco estudios sobre factores de riesgo y cuatro publicaciones con temas como la transmisión vertical y estudios sociales.

Conclusión. En comparación con revisiones previas realizadas por otros autores, se observa una mayor diversidad en los temas y métodos de investigación utilizados; sin embargo, aún prevalecen los enfoques epidemiológicos convencionales centrados en la medición de la prevalencia de marcadores serológicos. Esto hace necesario encarar otro tipo de investigaciones centradas en los determinantes socioculturales.

Palabras clave



Anexo 13. Artículo: Infección por el virus de la hepatitis delta

Artículo de revisión

Infección por el virus de la hepatitis delta

Hepatitis delta virus infection

*Melissa Montoya-Guzmán¹, Carolina Posada-Álvarez², Laura Camila Lopera-Restrepo³,
Diana di Filippo-Villa⁴, María-Cristina Navas⁵*

Resumen

El virus de la hepatitis delta (VHD) es un virus satélite del virus de la hepatitis B (VHB), dado que requiere el antígeno de superficie del VHB (HBsAg) para la producción de partículas virales infecciosas. Se han caracterizado ocho genotipos del VHD, con una distribución geográfica relacionada con la prevalencia de la infección por VHB. Se estima que aproximadamente el 5% de los pacientes con infección crónica por VHB también están infectados con VHD. Se han descrito dos tipos de infección: la coinfección simultánea por VHB y VHD, y la superinfección con VHD en un paciente previamente infectado por VHB, esta última asociada a una mayor morbilidad y mortalidad por falla hepática aguda. La infección se diagnostica en nuestro medio con la determinación de IgM contra el VHD, acompañada idealmente de la carga viral. Aunque el tratamiento de elección es la terapia con interferón alfa pegilado, en el momento se están evaluando otros medicamentos antivirales en ensayos clínicos, con resultados alentadores, teniendo en cuenta el efecto observado en la carga viral del VHD y/o del VHB en los pacientes. La presente revisión tiene como objetivo incluir temas como la biología del virus, la epidemiología, las características clínicas, el diagnóstico y el tratamiento en la infección por VHD.