

# Determinación de anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) para el virus de la hepatitis E y detección molecular del virus en heces de humanos con o sin exposición ocupacional a porcinos en 10 municipios de Antioquia

Cristian Camilo Gutiérrez-Vergara<sup>1</sup>, Berardo Rodríguez<sup>2</sup>, Jaime Parra-Suescún<sup>3</sup>, Guillermo Correa-Londoño<sup>4</sup>, Lucelly López-López<sup>5</sup>, Albeiro López-Herrera<sup>6</sup>, Lina Gutiérrez-Builes<sup>7</sup>

## RESUMEN

En 10 municipios de Antioquia se determinó la seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) para el virus de la hepatitis E (VHE), y se buscó identificar el RNA del virus en heces de personas positivas para IgM. Se evaluaron dos grupos: uno de individuos expuestos a cerdos y otro sin dicha exposición, este último dividido en dos subgrupos (convivientes de expuestos y población general). La frecuencia de anticuerpos totales en los expuestos fue del 15,7% y la de IgM, del 2,5% ( $p < 0,001$ ). En el grupo sin exposición ocupacional pero convivientes de expuestos, los anticuerpos totales se hallaron en el 5,9% y no se detectó IgM. En el subgrupo de población general la seropositividad fue del 7,2% para IgG/IgM y del 0,81% para IgM ( $p < 0,001$ ). En ninguna de las muestras de heces de individuos positivos para IgM se

- <sup>1</sup> Estudiante de doctorado, Grupo Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM), Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. Grupo Biología de Sistemas, Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, sede Central, Medellín, Colombia.
- <sup>2</sup> Docente, Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación en Patobiología (QUIRON), Laboratorio de Patología Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- <sup>3</sup> Docente, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Grupo Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM), Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- <sup>4</sup> Docente, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Grupo Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM), Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- <sup>5</sup> Docente, Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, sede Central, Medellín, Colombia.
- <sup>6</sup> Docente, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Grupo Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM), Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- <sup>7</sup> Docente, Universidad Pontificia Bolivariana. Grupo Biología de Sistemas, Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana, sede Central, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Cristian Camilo Gutiérrez Vergara; ccgutier86@hotmail.com

Recibido: mayo 31 de 2014

Aceptado: enero 23 de 2015

Cómo citar: Gutiérrez Vergara CC, Rodríguez B, Parra Suescún J, Correa Londoño G, López López L, López Herrera A, et al. Determinación de anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) para el virus de la hepatitis E y detección molecular del virus en heces de humanos con o sin exposición ocupacional a porcinos en 10 municipios de Antioquia. *Iatreia*. 2015 Jul-Sep;28(3): 248-258. DOI 10.17533/udea.iatreia.v28n3a03.

halló el RNA del VHE. Los resultados muestran que los individuos expuestos ocupacionalmente a cerdos tienen mayor riesgo (RP: 2,42) de presentar anticuerpos anti-VHE que aquellos sin dicha exposición (CI95%: 1,66-3,53) ( $p < 0,001$ ). También indican que en Antioquia el VHE circula en personas con y sin exposición a cerdos. Se requieren más estudios sobre el VHE en Colombia.

## PALABRAS CLAVE

*Colombia; Exposición a Cerdos; Hepatitis E Virus; Serología*

## SUMMARY

**Determination of total (IgG/IgM) and specific (IgM) antibodies to Hepatitis E Virus and molecular detection of the virus in feces of humans with or without occupational exposure to pigs in 10 municipalities of Antioquia, Colombia**

In 10 municipalities of Antioquia (Colombia) the positivity rate in serum for total (IgG/IgM) and specific (IgM) antibodies to hepatitis E virus (HEV) was determined, and tests were done for the presence of HEV RNA in the feces of individuals positive for IgM antibodies. According to previous exposure to pigs, two different groups were included, namely: exposed and unexposed. The latter group was subdivided into cohabitants of the exposed ones and general population. The frequency of total anti-HEV antibodies in the exposed group was 15.7%, and that of IgM, 2.5% ( $p < 0.001$ ). In the group of cohabitants, total antibodies were found in 5.9%, while IgM antibodies were not present. In the general population IgG/IgM antibodies were present in 7.2% and IgM, in 0.81% ( $p < 0.001$ ). None of the fecal specimens was positive for HEV RNA. These results indicate that individuals with occupational exposure to pigs have higher risk (RP: 2.42) of being positive for anti-HEV antibodies than the unexposed ones (95% CI: 1.66-3.53) ( $p < 0.001$ ). Also, that in Antioquia HEV is present regardless of the exposure to pigs. Further studies on HEV in Colombia should be done.

## KEY WORDS

*Colombia, Exposure to pigs; Hepatitis E Virus; Serology*

## RESUMO

**Determinação de anticorpos totais (IgG/IgM) e específicos (IgM) para o vírus da hepatite E e detecção molecular do vírus em fezes de humanos com ou sem exposição ocupacional a porcos em 10 municípios de Antioquia**

Em 10 municípios de Antioquia se determinou a seropositividade para anticorpos totais (IgG/IgM) e específicos (IgM) para o vírus da hepatite E (VHE), e se procurou identificar o RNA do vírus em fezes de pessoas positivas para IgM. Avaliaram-se dois grupos: um de indivíduos expostos a porcos e outro sem dita exposição, este último dividido em dois subgrupos (conviventes de expostos e população geral). A frequência de anticorpos totais nos expostos foi de 15,7% e a de IgM, de 2,5% ( $p < 0,001$ ). No grupo sem exposição ocupacional, mas conviventes de expostos, os anticorpos totais se acharam em 5,9% e não se detectou IgM. No subgrupo de população geral a seropositividade foi de 7,2% para IgG/IgM e de 0,81% para IgM ( $p < 0,001$ ). Em nenhuma das mostras de fezes de indivíduos positivos para IgM se achou o RNA do VHE. Os resultados mostram que os indivíduos expostos ocupacionalmente a porcos têm maior risco (RP: 2,42) de apresentar anticorpos anti-VHE que aqueles sem dita exposição (CI95%: 1,66-3,53) ( $p < 0,001$ ). Também indicam que em Antioquia o VHE circula em pessoas com e sem exposição a porcos. Requerem-se mais estudos sobre o VHE na Colômbia.

## PALAVRAS CHAVE

*Colômbia; Exposição a Porcos; Hepatite E Vírus; Serologia*

## INTRODUCCIÓN

La hepatitis E, causada por el virus del mismo nombre (VHE), se manifiesta principalmente de forma aguda; es más frecuente en las regiones subdesarrolladas (1). En mamíferos se han descrito cuatro genotipos principales de este virus, con algunos subtipos que varían en su distribución mundial; también se han detectado otros genotipos en aves y peces (1). Este virus puede infectar una gran variedad de especies incluyendo jabalíes, venados, ratas, conejos, murciélagos, cerdos e incluso humanos (2-4). En estos últimos se han

descrito varias vías de infección; las principales son: la fecal-oral, por ingestión de agua o alimentos contaminados con heces de cerdos o de humanos que contengan el virus, y la transmisión zoonótica (5).

Diversos estudios han detectado evidencia serológica de la exposición del cerdo a la infección por el VHE, lo que sugiere que este animal es un reservorio importante de la infección humana, por contacto directo de las personas con fluidos corporales de los porcinos infectados o por el consumo de vísceras (como el hígado) mal cocidas (2,6). Estos mecanismos de transmisión pueden explicar la infección ocupacional y de la población general (1).

En humanos, la infección por el VHE es más comúnmente asintomática. En los casos sintomáticos, la enfermedad se manifiesta frecuentemente con malestar general, fiebre, náuseas, vómito, mialgia, artralgia, coluria y acolia. El amplio espectro de síntomas dificulta el diagnóstico médico. En mujeres embarazadas y personas inmunocomprometidas, la hepatitis E puede tener complicaciones fatales (7). Se ha observado que la infección crónica por VHE puede llevar a enfermedad hepática progresiva en pacientes inmunodeprimidos y al desarrollo de hepatitis crónica aproximadamente en el 60% de los pacientes receptores de trasplante de órgano infectado con el virus (8). Al respecto, se ha establecido una asociación entre las infecciones crónicas por VHE y la enfermedad hepática progresiva que lleva a fibrosis o en casos graves a cirrosis que requiere tratamiento de por vida (9). Para el diagnóstico etiológico definitivo se requiere tener en cuenta los antecedentes epidemiológicos, la presencia de anticuerpos específicos contra el VHE y la detección del virus mediante técnicas moleculares. La determinación de inmunoglobulinas séricas es una herramienta diagnóstica de la infección previa o reciente por el VHE (10).

En Antioquia, estudios previos realizados por Betancur y colaboradores (11) han evidenciado la circulación del VHE en población humana con exposición ocupacional a porcinos. Con base en esta información y en el conocimiento que el cerdo es un reservorio del VHE, es necesario establecer si estos animales pueden ser factores de riesgo para la población humana en general y para la que se encuentra en contacto con ellos o con sus fluidos y órganos. En Colombia se carece de dicha información. Los objetivos de este

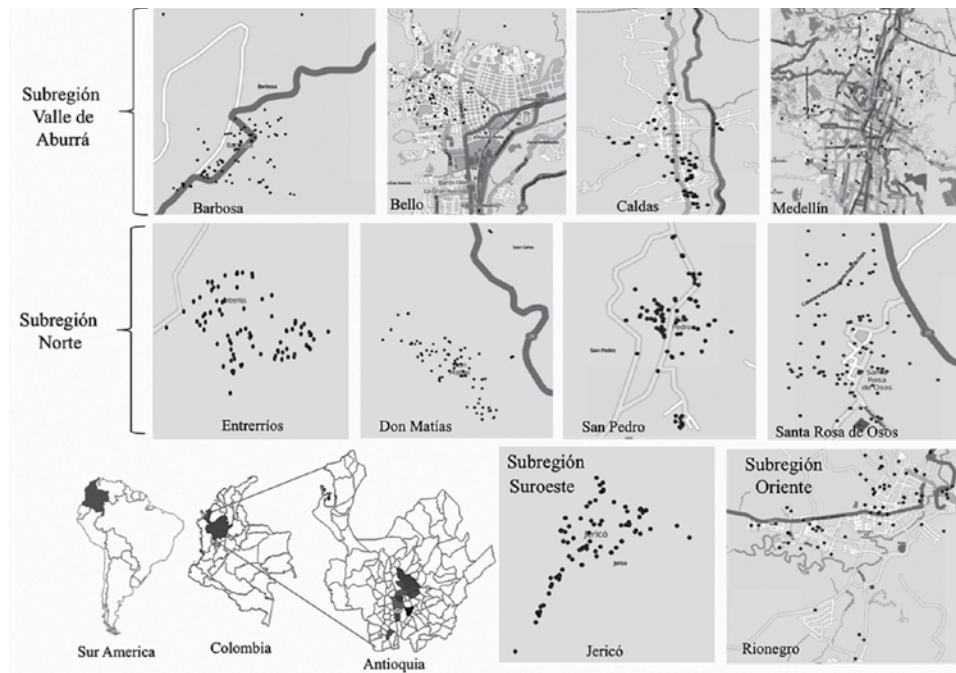
estudio fueron: 1) determinar la seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) para VHE; 2) la detección molecular del virus en muestras de heces de individuos con exposición ocupacional a cerdos o sin ella en 10 municipios porcicultores de Antioquia (Colombia); 3) conocer la posible asociación entre la presencia de anticuerpos anti-VHE en humanos y la exposición o no a porcinos. Esta investigación contó con el aval del Comité de Ética de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (Acta N° CEMED-226 del 14 de octubre de 2010).

## METODOLOGÍA

Se hizo un estudio descriptivo transversal, en 10 municipios pertenecientes a cuatro subregiones del departamento de Antioquia, seleccionados con base en los resultados de seropositividad para anticuerpos IgG e IgM específicos para VHE en cerdos procedentes de diferentes municipios del departamento, y faenados en cinco plantas de beneficio del mismo (Forero et al., datos sin publicar). En los siguientes municipios se presentaron valores altos de seropositividad para VHE en cerdos con edad de faenado: Barbosa, Bello, Caldas, Don Matías, Entreríos, Jericó, Medellín, San Pedro de los Milagros, Santa Rosa de Osos y Rionegro (figura 1). Se hizo un muestreo por conveniencia que incluyó a personas mayores de 18 años, quienes firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio. Se incluyeron dos grupos diferentes, a saber: uno conformado por personas con exposición ocupacional a porcinos, incluyendo tanto trabajadores de plantas de faenado de cerdos como de granjas porcinas, y el segundo, constituido por personas sin exposición ocupacional a porcinos, que incluyó dos subgrupos: el primero, formado por convivientes de individuos expuestos ocupacionalmente a porcinos, pero que no tenían contacto con estos animales, y el segundo, de población general, compuesto por habitantes del área urbana de cada uno de los municipios incluidos en el estudio. El tamaño de la muestra se calculó a partir de una población infinita (confianza: 95%; precisión: 3%; prevalencia: desconocida). De esta manera, se estableció la inclusión de mínimo cuatro trabajadores por granja, 10 trabajadores por planta de faenado y dos convivientes por cada participante clasificado en el grupo de expuestos a los porcinos. Asimismo, se recolectaron muestras de mínimo

98 habitantes del área urbana, captados de manera voluntaria en una de las entidades prestadoras de servicios de salud de cada municipio en estudio. La

información sociodemográfica, al igual que la de riesgo ocupacional, se obtuvo mediante la aplicación de una encuesta.



**Figura 1. Localización geográfica de los 10 municipios de Antioquia (Colombia) incluidos en el estudio.** Los puntos en cada municipio corresponden a la ubicación de la vivienda de cada uno de los participantes pertenecientes al grupo de personas sin exposición ocupacional a porcinos

### Procedimiento de recolección y análisis serológico de muestras de sangre

De cada participante se obtuvo por punción venosa una muestra de sangre en tubo seco sin anticoagulante. Las muestras se centrifugaron y luego se separaron dos alícuotas de suero, que se congelaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de usarlas. Para el análisis serológico se utilizaron estuches de ELISA de la casa comercial DIA.PRO (Milán, Italia); se siguieron las instrucciones y recomendaciones del fabricante, tanto para el procedimiento como para la interpretación de los resultados, y se tuvo en cuenta el desempeño óptimo de los controles y calibradores suministrados en cada estuche. Todas las muestras se tamizaron inicialmente para anticuerpos totales (IgG/IgM)

específicos para VHE. Cuando el resultado fue positivo o indeterminado, se hizo un segundo análisis, usando las alícuotas congeladas, para detectar anticuerpos IgM específicos para VHE.

### Detección molecular de VHE por RT-PCR en muestras de heces

Se analizaron las 13 muestras de heces de los participantes que resultaron positivos para anticuerpos IgM específicos para el VHE, y que aceptaron entregar dicho espécimen. Se extrajo el RNA utilizando el estuche comercial QIAamp® Viral RNA Mini kit (Qiagen, Germany), según las recomendaciones del fabricante y apoyados en el protocolo reportado (12). La calidad y concentración del RNA extraído se evaluaron en un

Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA) y se verificó mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 0,8%. Usando el mismo estuche y las mismas recomendaciones, se sometió el RNA total obtenido de cada una de las muestras a un proceso de transcripción reversa para la obtención de cDNA (12).

La detección del genoma viral en las muestras de heces humanas se llevó a cabo a partir del cDNA, usando una PCR anidada que emplea cebadores capaces de amplificar una región parcial del ORF-2 del genotipo 3 del VHE, según lo reportado (13). Para la primera ronda de PCR, se empleó un volumen final de 25  $\mu$ L: buffer 10X (Bioline, Inglaterra),  $MgCl_2$  50 mM, dNTPs 10  $\mu$ M, cebadores ORF2 F y ORF R 20  $\mu$ M (13), Taq DNA polimerasa (1U/ $\mu$ L) 0,2  $\mu$ L, 3  $\mu$ L de cDNA y agua desionizada hasta completar los 25  $\mu$ L. El perfil de temperatura para esta PCR constó de una desnaturalización inicial a 94 °C por 4 minutos y para cada ciclo una desnaturalización a 94 °C por 38 segundos, alineamiento por 45 segundos a 51 °C, extensión a 72 °C por 60 segundos, repitiendo este ciclo 39 veces. Esta primera PCR amplificó un fragmento de 634 pares de bases.

Para la segunda ronda de amplificación de la PCR anidada, el fragmento amplificado fue de 398 nucleótidos, utilizando los cebadores ORF2 FN y ORF2 RN (13). Se utilizó la siguiente mezcla: producto de la primera ronda de PCR 3  $\mu$ L, buffer 10X (Bioline, Inglaterra),  $MgCl_2$  50 mM, dNTPs 10  $\mu$ M, Taq DNA polimerasa (1U/ $\mu$ L) 0,2  $\mu$ L y agua destilada hasta completar un volumen final de 25  $\mu$ L. El perfil de temperatura para la segunda ronda de la PCR anidada fue el siguiente: desnaturalización inicial a 95 °C por 3 minutos y para cada ciclo una desnaturalización a 94 °C por 35 segundos, alineamiento 48 segundos a 48 °C, extensión a 72 °C durante 60 segundos, repitiendo este ciclo 35 veces. Los fragmentos amplificados se verificaron en gel de agarosa al 2,5% usando EZ-*Vision* como agente intercalante. Siempre para los ensayos se utilizaron un control positivo (muestras amplificadas previamente) y uno negativo (sin cDNA).

### **Análisis de los datos**

Las variables cualitativas se resumieron en frecuencias absolutas y relativas y las cuantitativas (edad y tiempos), con medias, desviación estándar, mínimo, máximo, percentiles 25 y 75. El cálculo de los intervalos de confianza de la proporción de casos positivos para la detección de anticuerpos totales (IgG/IgM) e

IgM se hizo con un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa Epi Info™ 7.

Se calcularon las razones de prevalencia (RP) y se realizó un modelo de regresión binomial, con el fin de explorar algunas variables evaluadas en la encuesta, que se pudieran asociar con la positividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) anti-VHE, mediante el *software* STATA, versión 12.

## **RESULTADOS**

En total se estudiaron 1.176 personas: 328 hombres (27,9%) y 848 mujeres (72,1%). En el grupo de convivientes con los participantes expuestos a cerdos, solo se tomaron muestras de 34 individuos, debido a que en algunas granjas toda la familia trabaja en la producción porcícola, lo que llevó a que este número fuera inferior al esperado (tabla 1).

### **Seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) e IgM contra VHE en personas con exposición ocupacional a porcinos**

El grupo de individuos con exposición ocupacional a porcinos estuvo conformado por 159 personas, 55 de ellas pertenecientes a plantas de beneficio y 104, a granjas porcícolas. De los 98 positivos para anticuerpos totales (IgG/IgM) 82 fueron hombres (83,7%) y 16, mujeres (16,3%).

Nueve de los 12 individuos positivos para IgM eran hombres y tres, mujeres; se debe tener en cuenta que en este estudio se encontraron más hombres que mujeres dedicados a estas labores.

Los anticuerpos totales (IgG/IgM) específicos para el VHE se hallaron en 25 de las 159 muestras estudiadas (15,7%); la tasa más alta de positividad se halló en Santa Rosa de Osos y Rionegro y la más baja, en Jericó (tabla 2). Se analizaron 31 muestras para anticuerpos IgM específicos para VHE (25 positivas y 6 indeterminadas para anticuerpos totales) y se hallaron cuatro positivas (12,9%), lo que corresponde a 2,5% de los 159 individuos expuestos a porcinos. Solo en Barbosa y Santa Rosa de Osos se detectaron muestras positivas para anticuerpos IgM anti-VHE (tabla 2).

**Tabla 1. Características demográficas según el grupo de exposición**

		Con exposición ocupacional		Sin exposición ocupacional (convivientes)		Sin exposición ocupacional (habitantes del área urbana)	
		n	%	n	%	n	%
<b>Edad</b>	Promedio (DE)	35	(11)	42	(14)	44	(15)
	Mediana (Q1-Q3)	33	(27-42)	38	(34-51)	44	(32-55)
<b>Sexo</b>	Masculino	130	81,8	6	17,6	192	19,5
	Femenino	29	18,2	28	82,4	791	80,5
	Total	159	100,0	34	100,0	983	100,0
<b>Nivel educativo</b>	Ninguno	7	4,4	1	3,1	37	3,8
	Primaria	58	36,5	11	34,4	272	27,7
	Secundaria/Media	56	35,2	11	34,4	436	44,4
	Formación superior	26	16,4	9	28,1	238	24,2
	No reporta	12	7,5				
	Total	159	100,0	32	100,0	983	100,0

n: número de participantes de cada grupo; %: cálculo de la frecuencia; DE: desviación estándar; (Q1-Q3): cuartiles

**Tabla 2. Frecuencia de anticuerpos totales IgG/IgM y específicos (IgM) para VHE en personas con exposición ocupacional a porcinos**

Subregión	Municipio	Anticuerpos anti VHE							
		IgG/IgM				IgM			
		n	np/ni	%	IC 95%	n	np	%	IC 95%
<b>Valle de Aburrá</b>	Barbosa	14	1/2	7,1	0,18-33,87	3	3	100,0	29,24-100
	Bello	25	4/0	16,0	4,54-36,08	4	0	-	-
	Caldas	8	1/1	12,5	0,32-52,65	2	0	-	-
	Medellín	16	5/0	31,3	11,02-58,66	5	0	-	-
<b>Norte</b>	Entrerriós	12	1/1	8,3	0,21-38,48	2	0	-	-
	Don Matías	14	2/0	14,3	1,78-42,81	2	0	-	-
	San Pedro	14	1/1	7,1	0,18-33,87	2	0	-	-
<b>Suroeste</b>	Santa Rosa de Osos	18	6/0	33,3	13,34-59,01	6	1	16,7	0,42 - 64,12
	Jericó	32	2/1	6,3	0,77-20,81	3	0	-	-
<b>Oriente</b>	Rionegro	6	2/0	33,3	4,33-77,72	2	0	-	-
<b>Total</b>		<b>159</b>	<b>25/6</b>	<b>15,7</b>	<b>10,44 - 22,33</b>	<b>31</b>	<b>4</b>	<b>12,9</b>	<b>3,63 - 29,83</b>

n: número de muestras analizadas; np: número de muestras con resultado positivo; ni: número de muestras con resultado indeterminado. El cálculo de la frecuencia (%) y el intervalo de confianza (IC 95%) corresponden solo a los resultados positivos

### Seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) contra VHE en personas sin exposición ocupacional a porcinos

El grupo sin exposición ocupacional a porcinos estuvo conformado por 1.017 personas; 34 de ellas (23 hombres y 11 mujeres) (3,3%) convivían con trabajadores de granjas y plantas de beneficio, y 983 (96,7%) eran residentes en las áreas urbanas de los municipios evaluados y no tenían exposición ocupacional a porcinos. Solamente 2 de los 34 convivientes (5,9%) fueron seropositivos para anticuerpos totales (IgG/IgM) y ambos residían en Bello. En este mismo grupo se

analizaron tres muestras para anticuerpos específicos (IgM) para VHE y todas fueron negativas (tabla 3).

De los 983 habitantes de las áreas urbanas de los municipios estudiados sin contacto o exposición ocupacional a cerdos, 192 (19,5%) fueron hombres y 791 (80,5%), mujeres. De ellos, 71 (7,2%) fueron seropositivos para anticuerpos totales (IgG/IgM). Dicha tasa fue más alta en Jericó (12,2%) y más baja en San Pedro de los Milagros (2,1%) (tabla 4). En el mismo grupo de 983 personas, se analizaron 79 muestras para IgM anti-VHE y 8 de ellas (10,1%; 0,81% sobre 983) fueron positivas. Tres de las 8 se hallaron en Rionegro (tabla 4).

**Tabla 3. Frecuencia de anticuerpos totales (IgG/IgM) y anticuerpos tipo IgM, específicos para VHE en el grupo de personas sin exposición ocupacional, subgrupo de convivientes de personas con exposición ocupacional a porcinos**

Subregión	Municipio	Anticuerpos anti-VHE							
		IgG/IgM				IgM			
		n	n/np	%	IC 95%	n	np	%	IC 95%
Valle de Aburrá	Barbosa	0	-	-	-	-	-	-	-
	Bello	17	2/0	11,8	1,46-3,44	2	0	-	-
	Caldas	0	-	-	-	-	-	-	-
	Medellín	5	0	-	-	-	-	-	-
	Entrerriós	0	-	-	-	-	-	-	-
Norte	Don Matías	0	-	-	-	-	-	-	-
	San Pedro	2	0/1	-	-	1	0	-	-
	Santa Rosa	3	0	-	-	-	-	-	-
Suroeste	Jericó	5	0	-	-	-	-	-	-
Oriente	Rionegro	2	0	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>		<b>34</b>	<b>2/1</b>	<b>5,9</b>	<b>0,72-19,68</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	-	-

n: número de muestras analizadas; np: número de muestras con resultado positivo; ni: número de muestras con resultado indeterminado. La estimación de la frecuencia (%) e Intervalo de Confianza (IC 95%) corresponde solo a los resultados positivos

En la tabla 5 se presentan los resultados del análisis hecho con el modelo de regresión binomial, en el que se incluyeron las diferentes variables consultadas excepto las que presentaban un bajo n. El valor de la razón de prevalencia (RP) presentó significancia estadística con intervalo de confianza de 95%. Su cálculo mostró que las personas expuestas a cerdos están 2,42 veces más en riesgo de tener anticuerpos

contra VHE que las no expuestas, cuando se tienen los valores crudos. En el modelo de regresión binomial, la variable *sexo* actuó como confusora generando efecto sobre la variable *exposición*, y perdiendo significancia en el modelo ajustado. Para la variable *consumo de carne de cerdo* no se presentó significancia estadística; lo contrario sucedió con la variable *nivel educativo*, en la que se halló una RP de 2,46 para la

asociación del nivel educativo bajo con la positividad para anticuerpos totales anti-VHE. De los 159 trabajadores con exposición ocupacional a porcinos, 65 (40,9%)

carecían de educación o solo habían cursado la primaria, mientras que 82 (51,6%) tenían educación secundaria o superior.

**Tabla 4. Frecuencia de anticuerpos totales (IgG/IgM) y específicos (IgM) para VHE en el grupo de población general de los municipios, sin exposición ocupacional a porcinos**

Subregión	Municipio	Anticuerpos anti-VHE							
		IgG/IgM				IgM			
		n	np/ni	%	IC 95%	n	np	%	IC 95%
Valle de Aburrá	Barbosa	99	3/0	3,0	0,63-8,60	3	0	-	-
	Bello	99	8/0	8,1	3,55-15,30	8	1	12,5	0,32-52,65
	Caldas	98	9/0	9,2	4,29-16,72	9	1	11,1	0,28-48,25
	Medellín	98	3/3	3,1	91,31-8,69	6	0	-	-
Norte	Entrerriós	98	5/0	5,1	1,68-11,51	5	0	-	-
	Don Matías	99	11/1	11,1	5,68-19,01	12	1	8,3	0,21-38,48
	San Pedro	98	2/0	2,1	0,25-7,18	2	0	-	-
	Santa Rosa	98	10/3	10,2	5,00-17,97	3	1	7,7	0,19-36,03
Suroeste	Jericó	98	12/0	12,2	6,49-20,41	12	1	8,3	0,21-38,48
Oriente	Rionegro	98	8/1	8,2	3,59-15,45	9	3	33,3	7,49-70,07
<b>Total</b>		<b>983</b>	<b>71/8</b>	<b>7,2</b>	<b>5,72-9,07</b>	<b>79</b>	<b>8</b>	<b>10,1</b>	<b>2,84-17,41</b>

n: número de muestras analizadas; np: número de muestras con resultado positivo; ni: número de muestras con resultado indeterminado. El cálculo de la frecuencia (%) y el intervalo de confianza (IC 95%) corresponden solo a los resultados positivos

**Tabla 5. Razones de prevalencia (RP) crudas y ajustadas para seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) específicos para VHE**

Variables	Razón	RP crudas				RP ajustadas			
		RP IgG/IgM	IC 95%		P	RP IgG/IgM	IC 95%		P
			LI	LS			LI	LS	
<b>Exposición</b>	Sí/No	<b>2,42</b>	<b>1,66</b>	<b>3,53</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>1,33</b>	<b>0,83</b>	<b>2,12</b>	<b>0,242</b>
<b>Sexo</b>	Hombre/Mujer	2,36	1,67	3,34	<0,001	1,90	1,26	2,86	0,004
<b>Consumo de carne porcina</b>	Sí/No	1,40	0,75	2,61	0,290	1,71	0,88	3,32	0,102
<b>Nivel educativo</b>	Primaria o ninguno/ Secundaria o superior	98	3/3	3,1	91,31-8,69	6	0	-	-

RP: razón de prevalencia; LI: límite inferior; LS: límite superior; IC: intervalo de confianza



La frecuencia de anticuerpos IgG/IgM específicos para VHE fue más alta en las personas expuestas que en los otros dos grupos (personas sin exposición ocupacional a porcinos y convivientes) y la diferencia fue estadísticamente significativa (tabla 6).

**Tabla 6. Seropositividad para anticuerpos IgG/IgM específicos para VHE en los tres grupos analizados**

Grupo	Frecuencia	IC 95%	p
Expuestos	19,5	13,0 - 25,9	< 0,001
Convivientes	8,8	1,9 - 23,7	
No expuestos	8,0	6,3 - 9,8	

## Detección molecular del VHE en muestras de heces de humanos

Se evaluaron para detección molecular del genoma del VHE las heces de 13 personas positivas para IgM anti-VHE. Todas fueron negativas.

## DISCUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que personas con exposición ocupacional a porcinos o sin ella en diferentes regiones de Antioquia están teniendo exposición al VHE o la han tenido previamente. La frecuencia más alta de seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM) contra VHE se detectó en el grupo de personas con dicha exposición. Los resultados sugieren, asimismo, que los individuos expuestos ocupacionalmente a cerdos (en las granjas y plantas de beneficio) tienen mayor riesgo de presentar anticuerpos anti-VHE que aquellos sin dicha exposición. Estudios previos ya habían sugerido este tipo de asociación. En Francia (14) se halló asociación entre la positividad para anticuerpos anti-VHE y ser trabajador de granjas porcícolas (OR ajustado: 2,51), una seropositividad anti-VHE del 43,8% en individuos expuestos y del 26,1% en la población general. En Estados Unidos (15) la seropositividad para anticuerpos totales anti-VHE fue del 11% en 165 trabajadores con exposición a cerdos y del 2,4% en personas no expuestas. En España (1) se

hallaron anticuerpos IgG anti-VHE en 25 de 212 personas (11,8%), de las que 21 habían estado expuestas a cerdos. En el caso específico de la población expuesta a porcinos analizada en el presente estudio, se detectó un 15,7% de seropositividad para anticuerpos totales (IgG/IgM), mayor que el hallado previamente en 98 trabajadores de fincas porcícolas en Antioquia (11,2% de positividad para IgG) (11); sin embargo, es importante resaltar que la zona de muestreo fue mayor en el presente estudio pues se incluyeron 159 personas de varios municipios y subregiones productoras de cerdos.

Los porcentajes de seropositividad detectados en la presente investigación difieren de los hallados en países latinoamericanos con condiciones semejantes en cuanto a la producción porcícola. En Brasil (16) hallaron anticuerpos anti-VHE en 8,4% de 310 personas que incluían población rural y trabajadores porcícolas, y en 4% de 101 habitantes de las zonas urbanas aledañas. En zonas rurales de Bolivia (17) se detectaron anticuerpos IgG anti-VHE en 6% de personas con exposición directa a cerdos, además de material genético del virus en heces porcinas. Cabe resaltar que en los estudios reportados sobre seropositividad para VHE se observa una tendencia a valores más altos en la población expuesta a cerdos comparada con los grupos sin dicha exposición; ello sugiere el papel potencial de los porcinos como reservorios del VHE en las zonas estudiadas.

Cuatro de las 159 muestras (2,5%) de personas expuestas a cerdos analizadas para anticuerpos IgM anti-VHE en la presente investigación fueron positivas. Se ha establecido que dichos anticuerpos pueden aparecer durante la fase aguda de la enfermedad incluso hasta cuatro días después de la aparición de la ictericia, y que se pueden detectar hasta cinco meses postinfección (18). En general, más del 90% de los pacientes infectados por VHE tienen valores detectables de IgM anti-VHE en las primeras dos semanas después de la aparición de la enfermedad (18). Esta dinámica de producción de IgM sugiere, por lo tanto, que este tipo de anticuerpo es un marcador adecuado para el diagnóstico de la infección aguda por este virus (19); sin embargo, como se mostró en los resultados, ninguna de las muestras positivas para IgM lo fue para el RNA del VHE, lo que concuerda con los reportes que demuestran que la enfermedad se

presenta principalmente de manera subclínica (5). La importancia epidemiológica de la detección de anticuerpos IgM anti-VHE en nuestro medio radica en que esta inmunoglobulina se genera ante una infección reciente; ello sugiere que la población positiva para IgM anti-VHE tuvo contacto reciente con este virus. En Colombia no hay informes de casos confirmados de hepatitis E humana, por lo cual no existe mucha familiaridad con la enfermedad, ni se cuenta con pruebas serológicas y moleculares validadas para la detección clínica del VHE. Con los resultados de esta investigación, se sugiere la pertinencia del diagnóstico etiológico y la sospecha clínica de la infección por el VHE en los casos de hepatitis aguda. Asimismo, es importante que 109 (8%) de 1.360 donantes de sangre estudiados en Chile fueron positivos para anticuerpos anti-VHE (20). Este antecedente sugiere la importancia de estudiar en Colombia la frecuencia y el impacto del VHE en donantes de sangre, así como en mujeres gestantes y pacientes inmunocomprometidos por el riesgo que representa la infección por el VHE en estos dos últimos grupos poblacionales, aún más si se tiene en cuenta que la falta de información puede llevar a subestimar la presencia y diseminación del VHE en el país.

Se ha observado que la infección por VHE en cerdos no produce síntomas clínicos aparentes, ni cambios visibles en las inspecciones sanitarias en las líneas de beneficio (21); aunque no se ve afectada la producción porcícola, se considera que los hígados de cerdos infectados por VHE son una posible fuente de contaminación para otras especies, y dado que no es posible detectar en las plantas de faenado dichos hígados infectados, se puede poner en riesgo la salud de los operarios, si no se hace un manejo adecuado de estos tejidos. Otro aspecto importante para considerar es que la alimentación con vísceras de cerdo es parte importante de la dieta en algunos sectores de la población humana, lo que también puede poner en riesgo la salud de los consumidores si no se tienen buenas prácticas de higiene, manipulación y cocción de los alimentos en el hogar (22).

En términos generales, la importancia de la información obtenida en este estudio radica en que tanto en la población expuesta a porcinos como en la no expuesta se hallaron anticuerpos anti-VHE, lo cual sugiere que la transmisión zoonótica (por exposición ocupacional a cerdos) no es la única que se está

presentando en Antioquia, sino que otras vías, como el agua y los alimentos contaminados con el virus también podrían estar jugando un papel importante en la diseminación del virus entre los grupos poblacionales no expuestos ocupacionalmente a porcinos. En el ámbito global, se considera que la infección humana por VHE se presenta usualmente por el consumo de agua contaminada o tratada insuficientemente (6); de ahí la importancia de poner en práctica medidas preventivas como el saneamiento básico y la potabilización del agua para la población humana, así como para la producción porcícola y los centros de faenado y procesamiento de cerdos; con ellas se busca evitar la diseminación del VHE, tanto a la población humana como a otras especies animales. Por otro lado, los sistemas de inspección, vigilancia y control epidemiológico deben establecer y mantener medidas estrictas para evitar la diseminación del VHE. Además, en los centros de producción porcina es necesario implementar medidas rigurosas de bioseguridad. En Colombia hay poca información sobre la hepatitis E y el VHE, y hasta la fecha no se considera que el país sea endémico para este virus; por tal motivo, los sistemas de salud normalmente no la tienen en cuenta, por lo que pasa inadvertida o se confunde con otras enfermedades como la hepatitis A. Investigaciones como esta, en la que se obtuvo información sobre los anticuerpos anti-VHE en personas con exposición ocupacional a cerdos o sin ella, son un primer acercamiento a la situación epidemiológica del VHE en el país, que genera información valiosa para su detección, análisis y posterior prevención, desde los puntos de vista de la salud pública, el bienestar animal y la producción pecuaria.

## AGRADECIMIENTOS

A COLCIENCIAS por la financiación del proyecto (PRE00501024189). Al personal administrativo y técnico de las granjas de cría de cerdos y las plantas de faenado de Antioquia incluidas en este estudio, por su valiosa colaboración para los muestreos en las personas con exposición ocupacional a cerdos. A las secretarías de salud y a los hospitales de los municipios incluidos, por el apoyo logístico, técnico y humano, que hizo posible la ejecución de los muestreos en las personas sin exposición ocupacional a los cerdos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Galiana C, Fernández Barredo S, Pérez Gracia M. Prevalencia del virus de la hepatitis E (VHE) y factores de riesgo en trabajadores de explotaciones porcinas y donantes voluntarios. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Nov;28(9):602-7.
2. Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, et al. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol*. 2003 Sep;84(Pt 9):2351-7.
3. Zheng Y, Ge S, Zhang J, Guo Q, Ng MH, Wang F, et al. Swine as a principal reservoir of hepatitis E virus that infects humans in eastern China. *J Infect Dis*. 2006 Jun 15;193(12):1643-9.
4. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003 Aug;362(9381):371-3.
5. Bihl F, Negro F. Hepatitis E virus: a zoonosis adapting to humans. *J Antimicrob Chemother*. 2010 May;65(5):817-21.
6. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J Gen Virol*. 2007 Mar;88(Pt 3):912-7.
7. Smith DB, Vanek J, Wellington L, Johannessen I, Ramalingam S, Simmonds P. Hepatitis E virus mixed infection in immunocompetent patient. *Emerg Infect Dis*. 2013 Mar;19(3):468-70.
8. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014 Jan;27(1):116-38.
9. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Péron JM, Guitard J, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2008 Feb;358(8):811-7.
10. Drobeniuc J, Meng J, Reuter G, Greene-Montfort T, Khudyaikova N, Dimitrova Z, et al. Serologic assays specific to immunoglobulin M antibodies against hepatitis E virus: pangenotypic evaluation of performances. *Clin Infect Dis*. 2010 Aug;51(3):e24-7.
11. Betancur C, Mejía M, Portillo S. Seroprevalencia de hepatitis E en trabajadores de fincas porcícolas del Valle de Aburrá 2011-2012. *Acta Med Colomb*. 2013 Abr-Jun;38(2):68-70.
12. Forgách P, Nowotny N, Erdélyi K, Boncz A, Zentai J, Szucs G, et al. Detection of hepatitis E virus in samples of animal origin collected in Hungary. *Vet Microbiol*. 2010 Jul;143(2-4):106-16.
13. Fogeda M, Avellón A, Cilla CG, Echevarría JM. Imported and autochthonous hepatitis E virus strains in Spain. *J Med Virol*. 2009 Oct;81(10):1743-9.
14. Chaussade H, Rigaud E, Allix A, Carpentier A, Touzé A, Delzescaux D, et al. Hepatitis E virus seroprevalence and risk factors for individuals in working contact with animals. *J Clin Virol*. 2013 Nov;58(3):504-8.
15. Withers MR, Correa MT, Morrow M, Stebbins ME, Seriwatana J, Webster WD, et al. Antibody levels to hepatitis E virus in North Carolina swine workers, non-swine workers, swine, and murids. *Am J Trop Med Hyg*. 2002 Apr;66(4):384-8.
16. Tosoncin da Silva SM, Mendes de Oliveira J, Lamarca Vitral C, Vieira Kde A, Alves Pinto M, Dutra Souto FJ. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in individuals exposed to swine in Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012 May;107(3):338-41.
17. Dell'Amico MC, Cavallo A, Gonzales JL, Bonelli SI, Valda Y, Pieri A, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in humans and Swine, Bolivia. *Emerg Infect Dis*. 2011 Aug;17(8):1488-90.
18. Favorov MO, Fields HA, Purdy MA, Yashina TL, Alexandrov AG, Alter MJ, et al. Serologic identification of hepatitis E virus infections in epidemic and endemic settings. *J Med Virol*. 1992 Apr;56(4):246-50.
19. Khudyakov Y, Kamili S. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. *Virus Res*. 2011 Oct;161(1):84-92.
20. Ibarra H, Riedemann S, Reinhardt G, Frieck P, Siegel F, Toledo C, et al. Prevalencia de anticuerpos del virus hepatitis E en donantes de sangre y otros grupos de población en la X región, Chile. *Rev Méd Chile*. 1997 Mar;125(3):275-8.
21. Chang Y, Wang L, Geng J, Zhu Y, Fu H, Ren F, et al. Zoonotic risk of hepatitis E virus (HEV): A study of HEV infection in animals and humans in suburbs of Beijing. *Hepato Res*. 2009 Dec;39(12):1153-8.
22. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *Int J Food Microbiol*. 2008 Mar;123(1-2):32-7.