



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

BIOLOGÍA

**“SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS E EN DONADORES
DE BANCO DE SANGRE: EFECTO DEL CONTACTO CON ESTE VIRUS
SOBRE LA SECRECIÓN DE INTERLEUCINA 18”**

INFORME DE SERVICIO SOCIAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

ADRIÁN GARCÍA SUÁREZ

JURADO DE EXAMEN:

DIRECTORA: DRA. NORA ALMA FIERRO GONZÁLEZ

ASESORA: DRA. MARIA DE LOURDES MORA GARCÍA

ASESOR: DR. RODRIGO ANÍBAL MATEOS NAVA

SINODAL: M. EN C. ROCIO LICEA ESPITIA

SINODAL: MTRO. JOSÉ RIGOBERTO RAMOS VELÁZQUEZ



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres, Ana y Adrián, por bríndame todo su apoyo y acompañarme día a día en cada paso que doy en la búsqueda de ser mejor persona y profesional.

A mi familia, por toda su ayuda incondicional, siempre estaré agradecido por todo lo otorgado.

A la Dra. Nora Fierro, por su confianza y apoyo desde el inicio en todos los aspectos.

A la Q.F.B. María Gisela Dupont de Lara por el apoyo técnico en el laboratorio.

A mis maestros por todas sus enseñanzas a lo largo de la carrera.

A los asesores y sinodales quienes estudiaron mi trabajo y lo aprobaron.

Para ellos es esta dedicatoria de trabajo, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

El presente proyecto se desarrolló en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM; fue financiado por el donativo PAPIIT-DGAPA IA201422 otorgado a la Dra. Nora A. Fierro y contó con el apoyo técnico de la Q.F.B. María Gisela Dupont de Lara.

Índice	
I Resumen	5
II Introducción	6
2.1 Hepatitis E: historia	6
2.2 Características del virus	6
2.3 Patogénesis	8
2.4 Epidemiología	9
2.5 Transmisión del VHE por transfusión sanguínea	12
2.6 Interleucina 18	14
III Planteamiento del problema	16
IV Hipótesis	16
V Objetivos	17
5.1 Objetivo general	17
5.2 Objetivos específicos	17
VI Materiales y Métodos	17
6.1 Estrategia metodológica	17
6.1.1 Universo de trabajo	17
6.1.2 Tiempo en el que se desarrolló el trabajo	17
6.1.3 Criterios	18
6.1.4 Definiciones operacionales	18
6.1.5 Operacionalización de variables	19
6.2 Desarrollo del estudio	22
6.2.1 Obtención de la muestra	22
6.2.2 Análisis por medio de Ensayo de Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA)	22
6.2.3 Análisis estadístico	24
VII Resultados	24
7.1 Descripción de la población total	24
7.2 Descripción de los casos confirmados	27
7.3 Análisis estratificado	29
7.4 Análisis ajustado mediante regresión logística	29
7.5 Concentración de IL-18	30
VIII Discusión	31
IX Conclusiones	33
X Referencias bibliográficas	34
XI Anexos	40

I Resumen.

El virus de la hepatitis E (VHE) es considerado actualmente la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo y se transmite principalmente a través del consumo de agua y alimentos contaminados. México es una región de alto riesgo para la infección por el VHE, ya que se han presentado brotes importantes en el país; sin embargo, en el territorio nacional no existe un sistema especial de vigilancia epidemiológica para la enfermedad.

Recientemente se ha informado en diversas regiones del mundo sobre la viremia del VHE en donantes de sangre y la transmisión del virus relacionada a transfusiones sanguíneas.

A la fecha, la información relativa a esta infección en donadores de sangre en la República Mexicana se desconoce. En este documento, informamos sobre las pruebas realizadas en 691 muestras de suero del Banco de Sangre del Hospital General Regional Numero 46 (HGR 46) de Guadalajara, Jalisco. A partir de estas muestras analizamos la presencia de anticuerpos IgM e IgG anti-VHE.

Nuestros resultados muestran una tasa de seroprevalencia del VHE del 9.4 % (65/691). Además, tomando en cuenta que las citocinas juegan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune y que, en particular, la interleucina 18 (IL-18) regula los procesos inflamatorios que resultan de infecciones, en el presente trabajo examinamos posibles cambios en la presencia de esta citocina en suero de donantes positivos al VHE respecto con donadores negativos y sueros de pacientes con infección aguda y, logramos identificar que los niveles de IL-18 se incrementan en aquellas personas con reactividad para algún anticuerpo.

En conjunto, estos datos y reportes previos sugieren alta prevalencia del VHE en el occidente de México. La identificación de anticuerpos anti-VHE en los sueros de donantes de sangre indica la necesidad de evaluar la presencia de este patógeno en la población ya que representa un riesgo para los pacientes que requieran transfusión. La identificación de IL-18 en el suero de las personas positivas a anticuerpos sugiere que esta citocina es de importancia durante la infección y podría ser principal potencial biomarcador de contacto con este agente infeccioso.

II Introducción.

2.1 Hepatitis E: historia.

En el siglo XX, a finales de 1978 se notificó un brote de hepatitis en la India que ocasiono más de 52,000 casos relacionados a ictericia y 1,700 muertes. A pesar de que los síntomas eran similares a los causados por el virus de la hepatitis A (VHA), estos pacientes resultaron negativos tanto para ese patógeno como para el virus de la hepatitis B (VHB). Debido a que se estableció que el agente causal se transmitió por la vía entérica se le describió a la enfermedad hepatitis entérica no A no B. En 1981, se presentó un brote de hepatitis en un campamento militar soviético, con manifestaciones semejantes a las descritas anteriormente, para investigar esta situación, un médico perteneciente al ejército ingirió voluntariamente muestras de heces de personas infectadas, lo cual le provoco una hepatitis aguda, confirmando la transmisión de este agente etiológico, además se identificaron partículas parecidas a virus sin envoltura de 20 a 30 nm en las heces, a lo que se denominó VHE y fue hasta 1990 que fue clonado y secuenciado (Pallerla *et al*; 2020).

El VHE es considerado la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo, la infección generalmente es una enfermedad aguda, autolimitada y tiene un periodo corto de recuperación. Además, se ha informado que en pacientes inmunocomprometidos puede desarrollar cronicidad, provocando cirrosis e insuficiencia hepática (Aslan y Balaban, 2020). La complejidad de la infección resulta ser más grave en mujeres embarazadas y en personas con enfermedad hepática preexistente (Di Cola *et al.*, 2021). Se calcula que anualmente se producen 20 millones de infecciones, de los cuales 3.3 millones son sintomáticos y se asocian con más de 44,000 muertes al año (Horvatits *et al.*, 2019; OMS, 2021).

2.2 Características del virus.

El VHE pertenece a la familia *Hepeviridae*, que se clasifica en dos géneros, *Piscihepevirus sp*, el cual se ha visto únicamente en peces y el género *Orthohepevirus*, que infecta tanto animales terrestres y humanos (Thakur *et al.*, 2020).

Orthohepevirus sp se compone de cuatro especies (A, B, C y D), donde la única especie que infecta a humanos es la A. Hasta el momento se han identificado ocho genotipos dentro de esta especie (VHE1 – VHE8). Las variantes VHE1 y VHE2 se han encontrado únicamente en humanos, mientras que VHE3, VHE4 y recientemente el VHE7 se han identificado tanto en muestras de animales y personas (Thakur *et al.*, 2020).

El VHE es un virus de ARN de sentido positivo y es clasificado como casi envuelto, por la característica de presentarse en forma envuelta y no envuelta. Esta envoltura observada en modelos *in vitro* puede otorgar protección contra el sistema inmunológico ante el antígeno de la cápside (Nimgaonkar *et al.*, 2018).

Es un virus pequeño, tiene forma icosaédrica, está compuesto por un solo tipo de proteína y tiene diámetro de 27 a 34 nm. En la Figura 1, se describe el tamaño del genoma que es de 7.2 kb, dispone de regiones cortas no traducidas (UTR, del inglés *Untranslated region*) que van en dirección 5' y 3', una cabeza 7-metil guanosina y una cola poli A y cuenta con tres marcos de lectura abierto (ORF, del inglés *open Reading frame*) ORF1, ORF2 Y ORF3 (Pallerla *et al.*, 2020).

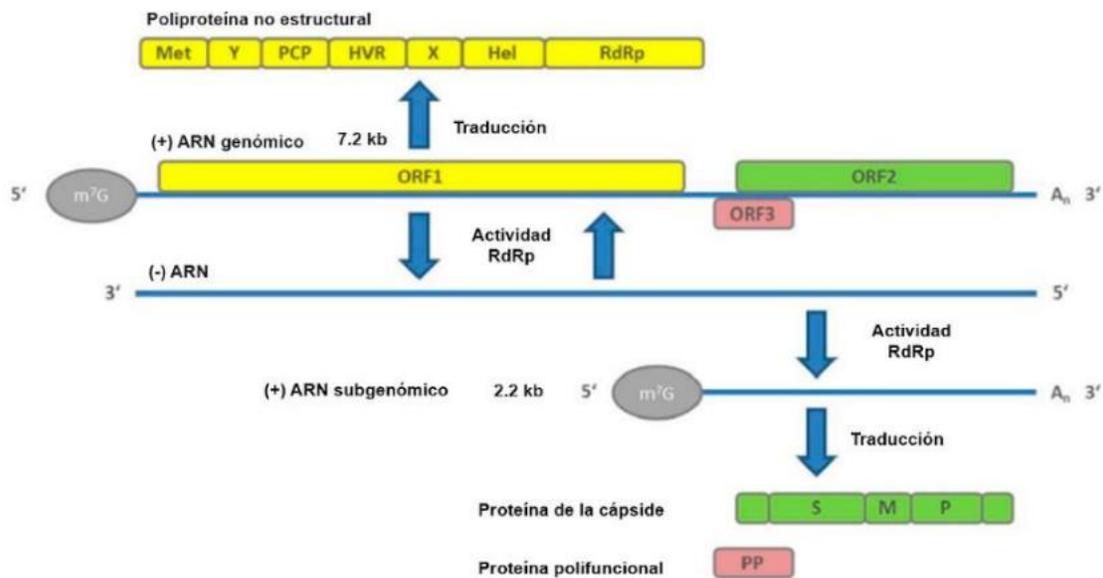


Figura 1. Organización genética del virus y pasos de la replicación del genoma viral (tomada y modificada de Pallerla *et al.*, 2020).

El ORF1 codifica una poliproteína no estructural que comprende de varios dominios: una metiltransferasa (Met), dominios X e Y, cisteína proteasa (PCP), ARN helicasa (Hel), y ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), ORF2 codifica la proteína de la cápside compuesta de 660 aminoácidos y ORF3 codifica una proteína de 113-114 aminoácidos (Pallerla *et al.*, 2020).

2.3 Patogénesis.

La patogenia por el VHE es poco conocida y sigue sin determinarse un sitio primario de propagación del virus en humanos, es tentador deducir que se replica principalmente en el hígado (no en el intestino) y que los viriones sin envoltura que ingresan a través del tracto gastrointestinal son neutralizados por sueros inmunes antes de alcanzar el hígado a través de la vena porta (Primadharsini *et al.*, 2021).

El VHE es denominado no citopático por lo que el resultado de la infección estará determinado por la respuesta del sistema inmune en contra de los antígenos virales, su periodo de incubación en el huésped consta de 2 a 10 semanas y el ARN es perceptible tanto en la sangre y en las heces (Kamar *et al.*, 2017).

En la mayoría de los pacientes con infección asociada al VHE presentan una hepatitis aguda autolimitada y experimentan fatiga, fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómitos (Webb y Dalton, 2020).

La enfermedad generalmente tiene dos fases: fase pre icterica y fase icterica. La pre icterica o prodrómica se caracteriza por presentar síntomas inespecíficos descritos anteriormente y resalta que el nivel sérico de alanina aminotransferasa se encuentra altamente elevado. Por otra parte, la ictericia se manifiesta por presentar altos niveles de bilirrubina y de alanina aminotransferasa. Las manifestaciones asociadas a la ictericia que resulta del aumento de bilirrubina se resuelven después de unos días o semanas, en la Figura 2, se observan las etapas del proceso de infección (Kamar *et al.*, 2017).

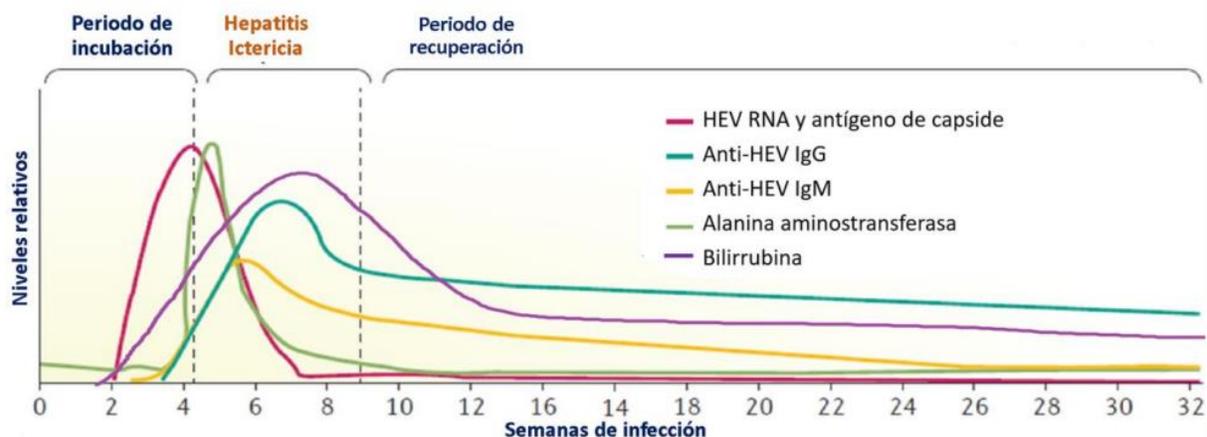


Figura 2. Historia natural de la infección del virus de la Hepatitis E (tomada y modificada de Kamar *et al.*, 2017).

El contacto se puede determinar mediante la detección de anticuerpos anti-VHE presentes en el suero, donde IgM se caracteriza por tener un periodo de incubación de 4 a 6 semanas, mientras que los títulos de IgG persisten por periodos más largos (Kamar *et al.*, 2017).

2.4 Epidemiología.

Se estima que actualmente existen 110 millones de infecciones en el mundo por el VHE y que su tasa de mortalidad es del 3 % entre pacientes jóvenes y hasta 30 % en mujeres embarazadas. Se sabe que las infecciones en humanos son causadas por cinco genotipos, VHE1, VHE2, VHE3, VHE4 y VHE7, estas variantes difieren en las vías de transmisión, grupos de población y las características de la enfermedad (Pallerla *et al.*, 2020).

El VHE se considera endémico de varias regiones de Asia, África, México y Medio Oriente. En estas regiones, la infección se transmite con mayor frecuencia a través de la vía fecal-oral, generalmente por el consumo de agua contaminada. En la Figura 3, se visualizan las vías de transmisión. En los países en desarrollo, normalmente existen áreas con bajas condiciones de higiene, lo cual genera brotes y altas tasas de infección, donde los genotipos más prevalentes son VHE1 y VHE2 (Aslan y Balaban, 2020).

Otras vías de contagio incluyen la ingesta de alimentos contaminados, transfusión de sangre de hemoderivados infectados y transmisión materno-fetal (Larrue *et al.*, 2020).

Las infecciones producidas por VHE1 y VHE2 no están relacionadas con el desarrollo de hepatitis crónica (Nimgaonkar *et al.*, 2018). En México, se reportaron dos grandes brotes entre los años 1986 y 1987 en los estados de Morelos y Estado de México (Velázquez *et al.*, 1990) en los que se detectó el genotipo VHE2 (Huang *et al.*, 1992). En años recientes, el equipo de investigación del laboratorio ha reportado la circulación de los genotipos VHE1 y VHE3 en el occidente del país (Realpe-Quintero *et al.*, 2018; Viera-Segura *et al.*, 2019).

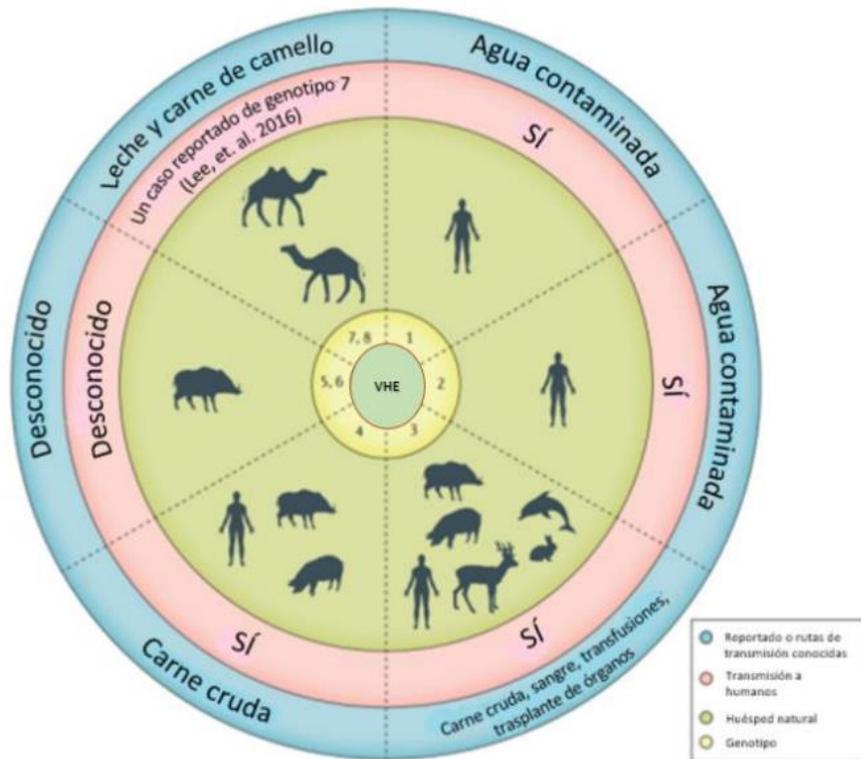


Figura 3. Género *Orthohepevirus* A y sus genotipos VHE1-8, se indican las fuentes de infección principales y el potencial de contagio humano (tomada y modificada de Nimgaonkar *et al.*, 2018).

En países industrializados se ha vuelto preocupante la alta seroprevalencia en la población, el cual se estima entre 40 y 50 %. En la Figura 4, se observa la distribución de los genotipos del VHE a nivel mundial, siendo los más predominantes en estas regiones el VHE3 y VHE4, los cuales se transmiten principalmente por vía zoonótica, donde el principal reservorio de estas variantes es el cerdo (Aslan y Balaban, 2020).

De igual forma se ha observado mediante transfusiones de sangre o trasplantes de órganos de donantes infectados (Kamar *et al.*, 2014; Nimgaonkar *et al.*, 2018). La principal fuente de transmisión animal-humano de los genotipos VHE3 y VHE4 por lo general son mamíferos como cerdos, jabalíes, venados y conejos. Sin embargo, se ha encontrado que VHE7 puede transmitirse a partir de dromedarios infectados por consumir su carne o leche provenientes de ellos (Ghany y Samala, 2013; Purcell *et al.*, 2013; Knegendorf *et al.*, 2018).

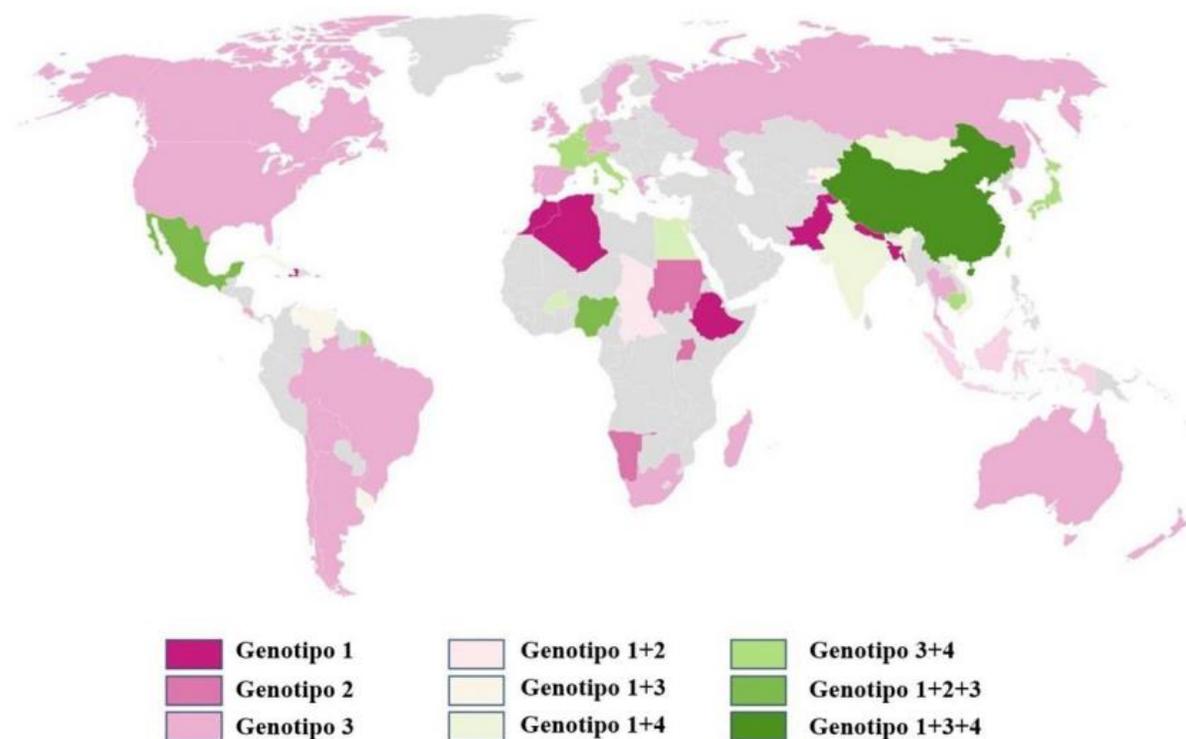


Figura 4. Mapa con la distribución geográfica de los cuatro principales genotipos del VHE (tomada y modificada de Kupke y Werner, 2021).

Anteriormente se mencionó que las principales vías de infección son a través del consumo de agua potable contaminada y por vía zoonótica. Aunque se reportan numerosos casos de mortalidad elevada en embarazos, la transmisión vertical entre madre e hijo es importante y en ellas existe una tasa de morbilidad entre 15 y 25 %, además de una posible transmisión vertical a lactantes que conduce a un aumento de mortalidad neonatal (Kupke y Werner, 2021).

Con respecto al peligro de los pacientes inmunocomprometidos, el enfoque principal se encuentra en la transmisión a través de hemoderivados contaminados con VHE. Por lo tanto, la prevalencia de este virus en los donantes de sangre no debe subestimarse y definitivamente representa una amenaza para los grupos de pacientes vulnerables (Kupke y Werner, 2021). Ejemplo de esto es la descripción de Schlosser, de un receptor de trasplante de hígado con infección por VHE, que posteriormente condujo a cronicidad a cirrosis hepática en el paciente trasplantado (Schlosser *et al.*, 2012).

En la República Mexicana, la secretaria de Salud no reporta el alcance del VHE. Por otra parte, diferentes grupos de académicos han realizado diversos estudios reportando la incidencia del virus en distintas zonas del país. La mayoría de las investigaciones tienen alcance local, donde, los estados con un mayor número de reportes son Durango, Jalisco y la Ciudad de México. Hasta el momento, el trabajo que dio un panorama amplio sobre la situación en el territorio nacional fue realizada hace más de 20 años por Álvarez-Muñoz *et al.*, 1999.

El grupo de investigación del laboratorio ha contribuido de forma importante en la descripción de la epidemiología molecular del VHE en México. La alta frecuencia de anticuerpos anti-VHE reportada en varias regiones del país, la circulación de tres genotipos y las deficientes condiciones de sanidad que prevalecen en buena parte del territorio están asociadas a su circulación y apoyan la noción de que se constituye como un agente etiológico de especial relevancia en nuestro país, por lo que su estudio demanda interés espacial.

2.5 Transmisión del VHE por transfusión sanguínea.

El VHE transmitido por transfusión es un problema emergente de salud mundial. En pacientes inmunocomprometidos, la infección crónica aumenta a contraer cirrosis hepática. La prevalencia de viremia (detección del ARN viral) e inmunoglobulinas M y G anti-VHE varían mucho de un país a otro, pero incluso títulos bajos del virus en los componentes sanguíneos son infecciosos. Desafortunadamente en la mayoría de los países las donaciones de sangre no se analizan de forma rutinaria para VHE (Cheung *et al.*, 2022).

Alrededor del mundo se han llevado a cabo trabajos de investigación en población de donantes sanos para determinar la seroprevalencia del VHE.

En la Tabla 1, se muestran algunos informes realizados, iniciando con Francia, en donde se encontró un 22.4 % de donantes positivos, esto debido a los hábitos dietéticos y al consumo de agua contaminada (Mansuy *et al.*, 2016). Estudios en Alemania han demostrado hasta un 29.5 % de seroprevalencia para IgG anti-VHE (Vollmer *et al.*, 2012). Por otra parte, en los Países Bajos se estimó una tasa del 27 %; aún no está clara la vía de transmisión en esa región, pero sugieren que se debe a la cría intensiva de cerdos, al consumo de carne mal cocida o por el uso de agua contaminada con heces para el riego (Slot *et al.*, 2013).

Tabla 1. Seroprevalencia y viremia del VHE en países europeos (tomada y modificada de Denner *et al.*, 2019).

País	IgG VHE positivo (%)	ARN positivo (%)	Autores y año de la publicación
Alemania	29.5	0.08	Vollmer <i>et al.</i> , 2012.
Francia	22.4	0	Gallian <i>et al.</i> , 2014. Mansuy <i>et al.</i> , 2016.
Países Bajos	27.0	0.03 0.16	Slot <i>et al.</i> , 2013. Zaaijer, 2015.
Inglaterra	12.0	0.04	Hewitt <i>et al.</i> , 2014
Escocia	4.7	0	Cleland <i>et al.</i> , 2013.
Dinamarca	4.7	0.04	Harritshøj <i>et al.</i> , 2016.
España	19.9	0.03	Sauleda <i>et al.</i> , 2015.

Para el continente americano los estudios son escasos para el tema de seroprevalencia en bancos de sangre, a pesar de ello, se cuenta con algunos informes descritos. En los Estados Unidos de América se reportó que, de 3,384 personas, el 30.6 % resultaron positivas para IgG anti-VHE (Ticehurst *et al.*, 2019). Por otra parte, en Canadá se analizaron 4,102 muestras, reportando el 5.9 % de positividad para anticuerpos del VHE (Fearon, 2017).

Brasil no es considerado un país endémico para la circulación del VHE, a pesar de ello, en el 2017 se realizó un estudio donde analizaron 500 sueros de donantes sanos de la ciudad de Sao Paulo por medio de Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA), obteniendo la tasa del 9.8 %, demostrando que la prevalencia del virus es mayor a la reportada en estudios previos en esa región (Passos-Castilho *et al.*, 2017).

En Uruguay se desarrolló un estudio donde analizaron 400 plasmas de donantes, en donde reportaron el 10 % de seroprevalencia y además encontraron que la presencia de anticuerpos se correlaciona positivamente con la edad de los donantes (Bangueses *et al.*, 2021).

Existe alta preocupación por la transmisión del VHE a través de transfusiones sanguíneas como un problema de salud global emergente. Estudios han reportado que entre el 0.0013 % y el 0.281 % de los donantes de sangre asintomáticos de todo el mundo tienen viremia del VHE, y entre el 0.27 % y el 60.5 % tienen inmunoglobulina G anti-VHE (Cheung *et al.*, 2022).

2.6 Interleucina 18.

Se han desarrollado mecanismos de defensa que nos permiten reconocer y destruir agentes infecciosos, por lo tanto, somos capaces de desarrollar inmunidad contra patógenos invasores. Dentro de estos mecanismos de defensa se encuentran las citocinas, que son un grupo de proteínas participes en la comunicación intracelular, secretadas por células linfoides y otras presentes en el organismo en respuesta a diversos estímulos, ayudando a regular el desarrollo de células inmunitarias efectoras (Kindt *et al.*, 2007).

La interleucina 18 (IL-18) es una citocina proinflamatoria que juega un papel importante en la respuesta inmune innata y adquirida (Figura 5). Originalmente fue descrita como un factor inductor de interferón gamma (IFN- γ) a partir de células T helper 1 (Th1), de igual manera actúa sobre células T no polarizadas, células asesinas naturales killer (NK), células B, células dendríticas, y macrófagos para producir IFN- γ en presencia de interleucina 12. Además, IL-18 junto con interleucina 2 induce la generación de proteínas T helper 2 a partir de células T asesinas naturales CD4+, células NK e incluso células Th1. Por otra parte, IL-18 con interleucina 3 induce a los mastocitos y basófilos a producir interleucina 4 y 13, por estas razones, IL-18 es considerada una citocina pleiotrópica (Yasuda *et al.*, 2019).

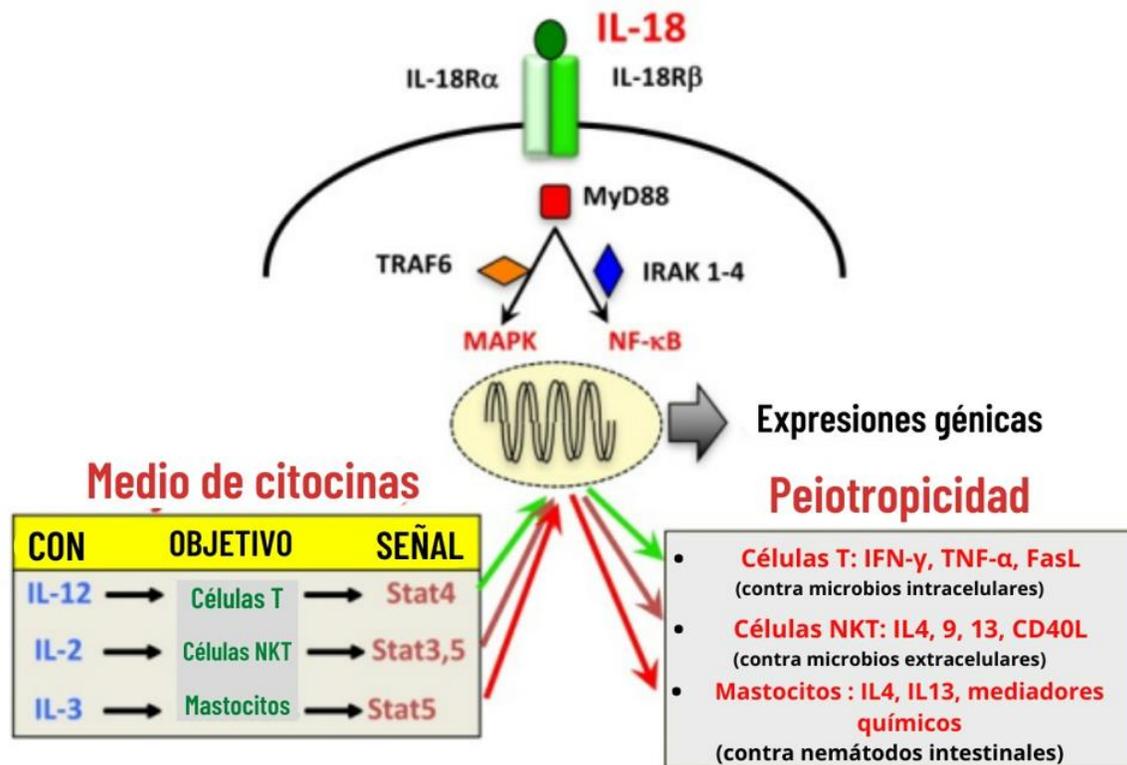


Figura 5. La acción pleiotrópica de IL-18 depende del entorno de citocinas (Tomada y modificada de Yasuda *et al.*, 2019).

Se ha enfatizado la importancia de la activación del inflamasoma en la regulación de la infección viral, muestra de ello es la enfermedad del dengue, donde se reportó que es mediado por ese agente infeccioso, iniciando la maduración de IL1 β e IL-18, que son críticos para la patología del virus y la respuesta inflamatoria. Enfatizando la participación de IL-18 en el contagio, aún se desconoce si confiere algún papel protector o perjudicial (Shrivastava *et al.*, 2020).

El papel de esta citocina durante la infección por el VHE no se ha determinado, pero reportes recientes indican la activación del inflamasoma durante la infección (Li *et al.*, 2022).

III Planteamiento del problema.

A nivel mundial la seroprevalencia del VHE varía dependiendo de las condiciones socioeconómicas del país, esta puede ir desde 3 % hasta 27 %. En Latinoamérica, la República Mexicana es el único país donde se han presentado brotes importantes de Hepatitis E y se ha demostrado la circulación del VHE en Jalisco a partir muestras de hepatópatas, pacientes pediátricos y carne de cerdo destinada a consumo humano.

La patogénesis relacionada con la infección por el VHE se asocia a la respuesta inmune del huésped. En este sentido, las citocinas desempeñan un papel importante, donde IL-18 se desempeña como un marcador de la activación del complejo inflamatorio vinculado a su vez con el desarrollo de infecciones por virus y podría constituirse un biomarcador.

En el país se desconoce la seroprevalencia del VHE en donadores de sangre, por lo que se considera de gran relevancia el estudio de muestras en sujetos aptos para la donación debido a que los paquetes de sangre que de ellos provenga pueden ser transfundidos a pacientes bajo condiciones de inmunosupresión que a su vez se relaciona con el desarrollo de cronicidad por VHE. El análisis de la presencia de IL-18 en muestras positivas a anti-VHE y la identificación de esta citocina en muestras de suero apoyaría el establecimiento de marcadores con el virus.

IV Hipótesis.

La identificación del VHE en hepatópatas y pacientes pediátricos, al igual que la presencia de anti-VHE en carne de consumo humano previamente reportada en Jalisco, sugiere una amplia circulación del virus en esta región. Esto apoya la noción de que el estudio en muestras de donadores de sangre conducirá a la identificación de anticuerpos anti-VHE. Por otra parte, la relación entre IL-18 y las infecciones virales ha sido descrita, por lo que su identificación en muestras positivas a contacto con el VHE en donantes de sangre estará asociado a su vez con cambios en la concentración de IL-18 en suero.

V Objetivos.

5.1 Objetivo general.

- Obtener la seroprevalencia del VHE a partir de la identificación de anticuerpos anti-VHE en el suero de donadores de banco de sangre de Jalisco y su asociación con la secreción de IL-18 en suero.

5.2 Objetivos específicos.

- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE en muestras de suero de donadores de banco de sangre (ELISA).
- Identificar los factores de riesgo a la infección con VHE en donadores de banco de sangre (Análisis estadístico multivariado).
- Determinar la presencia de IL-18 en suero de donadores de sangre y establecer su relación con el VHE.

VI Materiales y Métodos.

6.1 Estrategia metodológica.

6.1.1 Universo de trabajo.

En este proyecto se incluyeron muestras de suero de individuos que acudieron al Banco de Sangre del Hospital Regional Numero 46 (HGR 46) de Guadalajara, Jalisco, que fueron aptos para la donación y que otorgaron su consentimiento para la participación en la investigación.

- El **cálculo de la muestra** se realizó utilizando el programa Epi Info™ para Windows versión 7.2.
- El tamaño de muestra para el caso de este estudio, con un intervalo de confianza de 99.99 %, es de 132 sujetos, sin embargo, se consideró analizar al menos 500 sueros de donantes para mayor eficacia.
- Las muestras se captaron de lunes a viernes en Banco de Sangre del HGR 46 a partir del 1 de agosto del 2019 hasta completar el total de sueros.

6.1.2 Tiempo en el que se desarrolló el trabajo.

El trabajo se realizó a partir de diciembre del 2018. La redacción del protocolo comenzó en diciembre y fue aprobado en agosto de 2019, mes en que comenzó la recolección de sueros y la información de los donantes, y el ensayo ELISA fue en febrero de 2021.

La detección de IL-18 se hizo en el periodo de agosto y septiembre de 2021. Entre los meses de octubre de 2021 y febrero 2022 se inició la preparación del documento final. Actualmente se trabaja en la preparación de un manuscrito original que incluirá parte de los resultados de este trabajo.

6.1.3 Criterios.

Criterios de inclusión.

- Sujetos que acudieron con intenciones de donar y que cumplieron con los criterios para donación de sangre segura y que aceptaron participar en la investigación por medio de una carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión.

- Sujetos que acudieron con intenciones de donar y que no cumplieron con los criterios para donación de sangre segura.
- Sujetos que no aceptaron participar en la investigación o se negaron a dar su consentimiento por medio de la firma de una carta de consentimiento informado.
- Sujetos que se negaron a responder las preguntas de la cedula de recolección de datos.

Criterios de eliminación.

- Muestras de suero hemolizadas, lipémicas o con cualquier característica que imposibilite su análisis por medio de serología.
- Muestras de suero o sangre sin identificación a pesar de que se cuente con la carta de consentimiento informado y la cedula de recolección de datos.
- Muestras de suero de las que no se haya obtenido la cedula de recolección de datos o la carta de consentimiento informado.

6.1.4. Definiciones operacionales.

Caso confirmado.

- Sujetos con reactividad a la prueba ELISA para detección de anticuerpos IgG o IgM anti-VHE.

Caso descartado.

- Sujetos con negatividad a la prueba ELISA para detección de anticuerpos IgG o IgM anti-VHE.

➤ **6.1.5 Operacionalización de variables.**

Variable	Definición conceptual	Unidad de medida	Tipo de variable	Escala	Prueba estadística
Edad	Periodo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de aplicación de la cedula de recolección de datos, expresado en años cumplidos	Años cumplidos	Variable independiente	Cuantitativa discreta	t de Student/ U de Mann-Whitney
Género	En términos biológicos, denota el sexo de cada individuo, masculino o femenino	Masculino Femenino	Variable independiente	Cualitativa nominal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Lugar de residencia	Domicilio en el que ha vivido la persona en los últimos 3 meses		Variable independiente	Cualitativa nominal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Ocupación	Actividad realizada por la persona para obtener un ingreso económico		Variable independiente	Cualitativa nominal	Frecuencia en porcentaje

Antecedentes de transfusiones	Antecedentes de haber recibido sangre o plasma sanguíneo de otra persona	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Enfermedades crónicas	Enfermedades de larga duración y generalmente de progresión lenta	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Antecedente de aplicación de vacuna anti-Hepatitis A	Aplicación de vacuna anti-Hepatitis A, compuesta de virus inactivados con la finalidad de prevenir la infección, mediante la formación de anticuerpos	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Antecedente de aplicación de vacuna anti-Hepatitis B	Aplicación de vacuna anti-Hepatitis B, compuesta de proteínas del virus con la finalidad de prevenir la infección, mediante la formación de anticuerpos	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher

Número de embarazos	Periodo entre la implantación del cigoto en el útero hasta el momento del parto		Variable independiente	Cuantitativa discreta	t de Student/ U de Mann-Whitney
Antecedentes de contacto de pacientes con Hepatitis	Enfermedad del hígado causada por diversos agentes, principalmente por virus	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Consumo de agua potable	Agua consumida sin restricción para beber o preparar alimentos	Garrafón (Potable), Llave, Pozo, Manantial (No Potable)	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Tipo de vivienda	Características de la casa, principalmente la zona en que se encuentra	Rural Urbana	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Manejo de excretas	Disposición de agua residual y desechos orgánicos en casa	Drenaje o Fosa séptica	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Contacto con mascotas	Contacto con animales domésticos	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher
Trabajo con animales	Ocupación que involucre contacto directo con animales, vivos o muertos	Positivo Negativo	Variable independiente	Cualitativa normal	χ^2 o Prueba Exacta de Fisher

6.2 Desarrollo del estudio.

6.2.1 Obtención de la muestra.

Previo a la determinación de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE fue necesario realizar una punción venosa a cada participante para obtener 5 mL de sangre que fueron depositados en tubos con agente coagulante y gel para separar suero. La muestra se centrifugó durante 20 minutos a 1500 revoluciones por minuto con la finalidad de asegurar la separación del suero y la fracción celular. De forma paralela, se les aplicó a las personas un cuestionario para evaluar los factores de riesgo para contraer la infección por VHE y se otorgó la carta de consentimiento informado para su lectura y firma. Durante este periodo se informó personalmente los participantes de los detalles acerca del estudio.

Con ayuda de una micropipeta, se extrajo el suero y se colocó en tubos de microcentrífuga de 1.5 mL, previamente etiquetados con el folio correspondiente del sujeto que procede de la muestra.

6.2.2 Análisis por medio de ELISA.

Detección de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE.

La presencia de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE en el suero de cada uno de los participantes incluidos en el trabajo se investigó mediante inmunoensayo enzimático utilizando los kits recomWell HEV IgG y recomWell HEV IgM (MIKROGEN DIAGNOSTIK) estrictamente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Cada kit de detección incluye los siguientes reactivos:

- Una placa microtituladora de 12 x 8 pocillos.
- 100 mL de buffer de lavado (X 10).
- 125 mL de buffer diluyente.
- 12 mL de substrato cromógeno tetrametilbencidina.
- 12 mL de solución de paro al 24.9 % (ácido fosfórico).
- 450 µL de control positivo (IgG o IgM dependiendo del kit).
- 450 µL de control corte (IgG o IgM dependiendo del kit).
- 450 µL de control negativo (IgG o IgM dependiendo del kit).
- 500 µL de conjugado IgG o IgM concentrado (X 101).

Una vez finalizado el procedimiento, la placa fue analizada en el lector de Microplaca WHYM201 (Poweam Medical Co., Ltd., Nanjing, China).

Detección de IL-18 humana.

La presencia de IL-18 humana se investigó mediante inmunoensayo enzimático utilizando el kit Human IL-18 ELISA (MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD), estrictamente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

El kit de detección incluye los siguientes reactivos:

- Una placa de 12 x 8 micropocillos recubiertos con anti IL-18 humana.
- 2 viales con IL-18 (polvo liofilizado).
- 0.2 mL de Anti-IL-18 humana conjugada con peroxidasa (X 101).
- 24 mL de buffer para diluir el reactivo conjugado.
- 30 mL de buffer para diluir muestras.
- 100 mL de buffer para lavado de micropocillos (X 10).
- 20 mL de solución tetrametilbencidina / H₂O₂.
- 20 mL de H₂SO₄ a 0.5 M.

Una vez finalizado el procedimiento, la placa fue analizada en el lector Sinergy HTX (BIOTEK).

Además de lo anterior, se utilizó:

- Agua desionizada y tubos de ensayo.
- Mezclador Vortex.
- Bomba de vacío.
- Probetas higienizadas de 50 mL y 1000 mL.
- Micropipetas con puntas de uso único de 10 µL y 1000 µL.
- Pipeta de 10 mL o dispensador.
- Incubadora a 37 °C.
- Fotómetro para placas microtituladoras.
- Temporizador.
- Guantes de protección de uso único.
- Recipiente para sustancias biológicas peligrosas.

6.2.3 Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó en cuatro fases.

1. Inicialmente se determinaron las frecuencias absolutas y relativas de las variables independientes.
2. Las variables independientes se analizaron con respecto a la asociación y presencia de anticuerpos contra Hepatitis E mediante el análisis bivariado utilizando las pruebas estadísticas χ^2 para paramétricas o en su defecto, prueba exacta de Fisher para las no paramétricas (valor de significancia estadística “ p : <0.05 ”) y finalmente poder calcular los Odds ratio de la prevalencia con un intervalo de confianza de 95 %.
3. Una vez realizado el paso anterior, se valoró la realización de un análisis multivariado, en caso de que existan variables con un valor de $p < 0.02$, éstas se emplearon para la realización de un análisis de regresión logística con la finalidad de determinar los elementos asociados a la infección por VHE en población de donadores de sangre.
4. Para IL-18, se analizaron las diferencias entre cada grupo utilizando el software GraphPad Prism 8.Ink y se consideró el valor de $p < 0.0001$ como significancia estadística.

VII Resultados.

7.1 Descripción de la población total.

Las muestras de donantes se recolectaron en el banco de sangre del HGR 45, entre los meses de agosto y octubre del 2019, con un total de 757 donantes de sangre, de los cuales todos eran aptos para la donación de acuerdo con los resultados de la biometría hemática y a la entrevista con el médico; simultáneamente fue aplicado el cuestionario de factores de riesgo asociados a contraer el VHE y se proporcionó el formato de consentimiento para la aceptación al proyecto. Se observó que 66 sueros se encontraban hemolizados, por lo que se descartaron para el estudio.

Se analizaron las 691 muestras de suero restantes por medio de ELISA para determinar la presencia de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE. Es importante mencionar que no existió exclusión para aquellas muestras que resultaron positivas a alguna enfermedad infecciosa realizada por el banco de sangre.

De los 691 donantes, 65 (9.4 %) resultaron positivos para anticuerpos VHE, de los cuales, 19 (2.7 %) mostraron reactividad a IgM anti-VHE y 46 (6.7 %) a IgG anti-VHE. En la Figura 6, se observa en color amarillo el número de personas que resultaron positivas para anti-VHE y en morado aquellos que fueron negativos, incluyendo los casos con positividad a patógenos evaluados en el banco de sangre (Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), Virus de la Hepatitis C (VHC) y *Trypanosoma cruzi*).

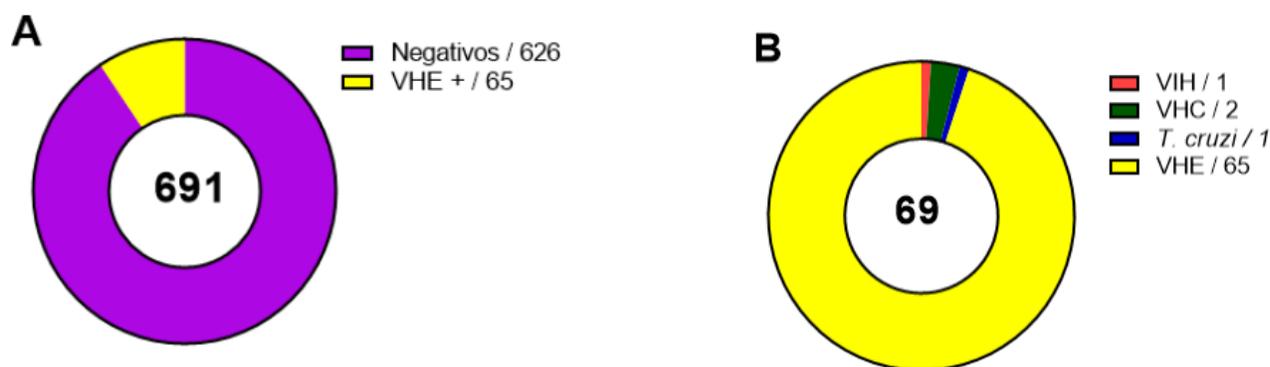


Figura 6. Incidencia de títulos para patógenos. En A se muestra el total de individuos positivos a anti-VHE y en B la cantidad de sujetos con reactividad a algún patógenos evaluado en el banco de sangre.

Haciendo referencia a las características de la población total, en la Tabla 2, se muestran los datos para cada una de estas; en donde se obtuvo un promedio de edad de 35 años; con respecto al género, se observó que 433 eran hombres y 258 mujeres, lo que equivale a un 62.7 % y un 37.3 % respectivamente. Se determinó el promedio de la altura en los donadores y fue de 1.68 metros mientras que para el peso fue de 78.3 kilogramos.

La mayoría de los participantes mencionaron estar casados o en unión libre y 251 dijeron no vivir con una pareja. Además, se observó que 8 personas refirieron tener antecedentes de transfusión sanguínea en algún momento de su vida, pero ninguno de estos en los 12 meses previos a la donación.

Se cuestionó sobre la ocupación de los donantes, en donde 28 de ellos indicaron tener contacto con animales vivos o muertos durante su jornada laboral y que en promedio llevaban 7.7 años trabajando con ellos.

La gran mayoría se dedicaban a la venta de carne o eran empleados en fábricas de embutidos, resaltar que 2 mencionaron ser veterinarios y uno de ellos trabaja exclusivamente con cerdos. Dentro de la encuesta que realiza el banco de sangre se hace una pregunta para saber si el potencial donante conoce si estuvo o está infectado con algún virus de hepatitis, en caso de que la persona mencione que es positiva a VHB o VHC automáticamente se descarta para realizar la donación, sin embargo, si el sujeto indica haberse enfermado de hepatitis durante la infancia o hace más de 10 años, la sangre se considera apta y segura. Haciendo mención sobre esto, 13 personas manifestaron tener hepatitis alguna vez en su vida, destacando que ninguna de las serologías de ellos resultó reactiva.

De igual modo, fueron cuestionados si estuvieron en contacto con familiares que tuvieran algún antecedente de hepatitis y como respuesta a esto, 19 personas afirmaron haber estado con alguien de esa característica.

En cuanto al consumo de alimentos que podrían transmitir el VHE, se observó que el 83.1 % de la población consume leche pasteurizada al menos 3 veces por semana y el 1.3 % dijo ingerir leche no pasteurizada de manera habitual. Por otro lado, se vio que el 92.8 % de la población consume carne de cerdo y el 89.1 % come embutidos en promedio 2 veces a la semana. También se preguntó si en su hogar tienen alguna mascota a lo que el 55.3 % mencionó que sí, y en promedio tienen 4.3 años con los animales domésticos.

La gran parte de los donadores son habitantes del estado de Jalisco, al momento de la donación, 663 (95.9 %) vivían en municipios de la Zona Metropolitana de Guadalajara y el resto de la población tenía domicilio en municipios no pertenecientes a la zona e incluso en otras entidades federativas.

Las viviendas de los habitantes en su mayoría eran urbanas y contaban con todos los servicios, aunque 14 personas dijeron habitar en hogares rurales, por otra parte, 4 sujetos mencionaron no disponer de agua potable y por tanto su fuente de agua era de los pozos. En cuanto al manejo de heces, la mayoría indicó tener drenaje y únicamente 5 individuos dijeron tener fosa séptica.

7.2 Descripción de los casos confirmados.

Con respecto a los casos confirmados (donantes que fueron positivos a anticuerpos IgM e IgG anti-VHE), todos eran habitantes de municipio de la Zona Metropolitana de Guadalajara y aseguraron consumir agua purificada. De este grupo, 2 mencionaron que habitaban en viviendas rurales y una persona refirió tener fosa séptica en su hogar.

Además, el 76.9 % afirmó tener macotas en sus casas y en promedio llevaban 4.7 años con estos animales. Cabe mencionar que se encontró diferencia significativa entre los casos confirmados y el resto de los participantes, respecto a la presencia de mascotas en la vivienda, así como también en el tiempo promedio que tenían con ellas, afirmando que ninguno de los casos mencionó trabajar con animales vivos o muertos.

Sobre el consumo de alimentos potencialmente contaminados, el 80 % aseguró consumir leche pasteurizada en promedio 2 veces por semana y el 3.1 % de los casos aseguraron tomar leche no pasteurizada; en cuanto al consumo de carne de cerdo, el 93.8 % mencionó comer al menos 2 veces por semana; y la gran mayoría afirmó consumir embutidos 1 día por semana. Ninguno de los casos positivos mencionó tener antecedentes de hepatitis, sin embargo, una persona confirmó haber estado en contacto estrecho con un paciente que presentaba hepatitis crónica, y un sujeto más indico tener antecedente personal de transfusión sanguínea en algún momento de su vida.

En la mayoría de los casos, estos presentaban sobrepeso, donde el promedio fue de 77.6 % y para el índice de masa corporal de 27.7 %. Para la edad, resulto de 38.9 %, observando una diferencia significativa respecto al resto de los casos negativos. De igual modo, se encontró un predominio del sexo masculino con 38 individuos (58.5 %) y la mayoría de los casos confirmados dijeron vivir en unión libre o casados.

Tabla 2. Características epidemiológicas y demográficas de la población total estudiada y de los casos confirmados.

Característica	Anti VHE- seronegati vos	Anti VHE- seropositivos	p*
N	626	65	
Reactivos IgM anti VHE (%)	0 (0)	19 (29.3)	
Reactivos IgG anti VHE (%)	0 (0)	46 (70.7)	
Vivienda en Zona Metropolitana de Guadalajara (%)	598 (95.5)	65 (100)	0.08
Agua no potable en la vivienda (%)	4 (0.6)	0(0)	0.52
Fosa séptica (%)	4 (0.6)	1 (1.5)	0.41
Consumo de leche pasteurizada (%)	522 (83.4)	52 (80)	0.49
Consumo de leche no pasteurizada (%)	9 (1.4)	2 (3.1)	0.31
Promedio de días a la semana de consumo de leche pasteurizada	2.2 ± 1.9	1.9 ± 1.6	0.10
Consumo de carne de cerdo (%)	580 (92.7)	61 (93.8)	0.72
Promedio de días a la semana de consumo de carne de cerdo	1.5 ± 1.0	1.6 ± 0.9	0.39
Consumo de embutidos (%)	559 (89.3)	57 (87.7)	0.7
Promedio de días a la semana de consumo de embutidos	1.6 ± 1.2	1.6 ± 1.1	0.78
Mascotas en la vivienda (%)	336 (55.7)	50 (76.9)	<0.05*
Promedio de años con mascotas en la vivienda	2.2 ± 3.9	3.6 ± 6.6	<0.05*
Antecedente personal de hepatitis (%)	13 (2.1)	0 (0)	0.24
Contacto estrecho con familiares con hepatitis (%)	18 (2.9)	1 (1.5)	0.53
Peso	78.4 ± 14.7	77.6 ± 12.9	0.65
Talla	1.69 ± 0.1	1.67 ± 0.1	0.16
Índice de masa corporal	27.4 ± 4.3	27.7 ± 3.7	0.6
Estado civil casado (%)	440 (63.7)	46 (70.8)	0.21
Edad	34.7 ± 10.8	38.9 ± 11.7	<0.05*
Edad >40 años	197 (31.5)	35 (53.8)	<0.05*
Sexo masculino (%)	395 (63.1)	37 (56.9)	0.46
Trabajo con animales (%)	28 (4.5)	0 (0)	0.08
Promedio de años trabajando con animales	0.3 ± 2.3	0	
Antecedente personal transfusiones (%)	1 (1.1)	1 (1.5)	0.76

*Variable con diferencia significativa

7.3 Análisis estratificado.

Se calcularon los Odds Ratio para cada una de las variables consideradas para el riesgo de exposición a VHE. Adicionalmente se realizó un análisis ajustado mediante estratificación, usando como covariable la edad de 40 años en adelante, descritas en la Tabla 3, se observó que no representa una variable de confusión en ninguno de los factores de riesgo analizados, y que los valores de OR crudos y ajustados son muy similares en todos los casos.

Se omitieron en el análisis las variables en las que no era posible calcular el OR. Para el cálculo del OR ajustado se utilizó el método Mantel-Haenszel.

Se observó que la presencia de mascotas en el hogar aumenta significativamente el riesgo de exposición a VHE, además, de acuerdo con este análisis, la edad mayor de 40 años aumenta el valor de OR para esta variable y el intervalo de confianza se mantiene dentro del rango.

Tabla 3. OR crudos de cada una de las variables incluidas en el análisis estratificado y OR ajustados por edad >40 años.

Variable	Odds Ratio crudo (IC del 95%)	Odds Ratio ajustado por edad de más de 40 (IC del 95%)
Sexo	0.82 (0.49-1.38)	0.88 (0.52-1.49)
Mascotas en la vivienda	2.95 (1.62-5.37)	3.19 (1.74-5.84) **
Vivienda rural	1.62 (0.36-7.42)	1.79 (0.37-8.76)
Fosa séptica	2.43 (0.27-22.07)	2.47 (0.24-25.2)
Consumo de leche pasteurizada	0.8 (0.42-1.52)	0.9 (0.47-1.73)
Consumo de leche no pasteurizada	2.18 (0.46-10.29)	2.15 (0.44-10.38)
Consumo de carne de cerdo	1.21 (0.42-3.47)	1.23 (0.43-3.5)
Consumo de embutidos	0.85 (0.39-1.87)	0.98 (0.45-2.17)
Contacto estrecho con familiares con hepatitis	0.53 (0.07-4.02)	0.47 (0.06-3.73)
Estado civil casado	1.43 (0.82-2.49)	1.04 (0.57-1.92)
Antecedente personal de transfusiones	1.38 (0.17-11.41)	1.06 (0.12-9.21)
Sobrepeso	1.45 (0.8-2.61)	1.27 (0.7-2.32)
Edad mayor de 40 años	2.54 (1.52-4.26) **	

**Aumento de riesgo de exposición a VHE.

7.4 Análisis ajustado mediante regresión logística.

Como se mencionó en el apartado de “Análisis estratificado”, se realizó la selección de las variables que en el análisis bivariado arrojan un valor de p menor a 0.02, para después incluirlas en un análisis mediante regresión logística. Para nuestro estudio, la presencia de mascotas en el hogar y la edad de las personas tuvieron un valor de significancia menor de acuerdo con la prueba estadística correspondiente y se decidió incluir la presencia de estas dos variables por presentar significancia estadística, los datos se describen en la Tabla 4.

Al incluir la variable de la presencia de mascotas en el hogar (Chi cuadrado: 13.6; g1:1; $p < 0.001$) y edad de más de 40 años (Chi cuadrado: 13.22; g1:1; $p < 0.001$), en el bloque 1 del modelo de regresión, la única puntuación de eficacia estadística de ROA, indica que hay una mejora significativa en la predicción de la probabilidad de ocurrencia de anticuerpos anti-VHE.

Al conocer si una persona tienen mascotas en su domicilio y si el paciente tiene más de 40 años, de acuerdo con el análisis de regresión logística, existe 100 % de probabilidad de acierto en la predicción del resultado de la prueba ELISA para anticuerpos anti-VHE. Los estadísticos de riesgo se mantuvieron respecto a su valor crudo en ambas variables, es decir, el riesgo de exposición a VHE aumenta con la edad y la presencia de mascotas en la vivienda.

Tabla 4. OR ajustados mediante regresión logística.

Variable	Odds Ratio crudo (IC del 95%)	Odds Ratio ajustado por Regresión Logística (IC del 95%)
Mascotas en la vivienda	2.95 (1.62-5.37)	3.19 (1.74-5.84)
Edad mayor de 40 años	2.54 (1.52-4.26)	2.75 (1.63-4.65)

7.5 Concentración de IL-18.

Evaluamos los niveles de IL-18 en el suero de 3 grupos, donantes que resultaron negativos a anticuerpos para VHE, donantes positivos a IgM e IgG anti-VHE, e incorporamos un grupo de pacientes pediátricos con hepatitis E aguda confirmada mediante la detección de ARN viral.

En la Figura 7, se muestran los niveles de concentración IL-18, donde, en personas negativas para VHE es mínimo, sin embargo, en el grupo que presentaron reactividad hacia algún anticuerpo para VHE se detectó el incremento de IL-18, siendo similar al de pacientes pediátricos con hepatitis aguda.

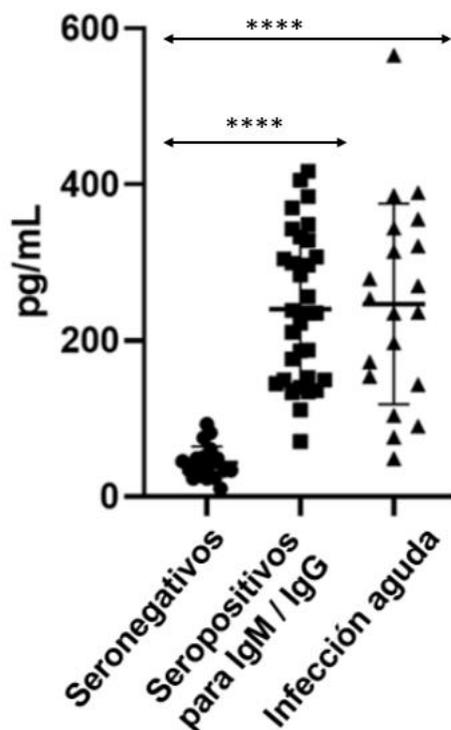


Figura 7. Niveles de concentración para IL-18 evaluados en muestras de suero. Prueba t de Student para el valor de la media en cada grupo, * $p < 0.0001$.

VIII Discusión.

Los resultados de este estudio confirmaron la circulación del VHE en la Zona Metropolitana de Guadalajara, tomando en cuenta los pocos estudios realizados en esta entidad federativa y en la República Mexicana; Panduro, A y colaboradores en el 2011 mencionaron que es y sería considerado un tema de suma importancia a nivel nacional e internacional.

Considerando las características sociodemográficas de las personas que habitan en la zona y los mecanismos de transmisión del VHE, se tomó en cuenta un estudio realizado por Passos-Castilho en el 2017, donde reportó una seroprevalencia de 9.8 % en donantes sanos en la ciudad de Sao Paulo, el trabajo presenta similitudes cercanas al nuestro, tanto en muestras evaluadas y seroprevalencia de 9.4 % obtenida.

Se han reportado estudios de seroprevalencia en donantes de sangre a nivel mundial, ejemplo de ello es Bulgaria, donde evaluaron a 555 sujetos sanos y reportaron una seroprevalencia del 25.9 %, siendo alta tasa de seropositividad (Baymakoya *et al.*, 2021). A nivel continental, en Argentina se realizó un trabajo con una cohorte de 391 donantes, reportando tasa de seroprevalencia de 11.3 % (Di Lello *et al.*, 2021) y por otra parte en Uruguay informaron que, a partir de 400 muestras, obtuvieron la seroprevalencia del 10 %, siendo casi similar a la obtenida en nuestro estudio (Bangueses *et al.*, 2021).

Por otra parte, se ha reportado una mayor seropositividad para VHE en personas con más de 40 años en comparación con jóvenes (Baymakoya *et al.*, 2021). En nuestro estudio se encontró que los sujetos con más de 40 años fueron más susceptibles a estar en contacto con el VHE como lo indica la presencia de anticuerpos.

Un factor de transmisión para el VHE es el consumo de carne de cerdo (Wang y Meng, 2021), no obstante, en nuestra investigación no se encontró relación alguna hacia la positividad para los anticuerpos con este factor. En otro sentido, se ha identificado causa de riesgo para el VHE la presencia o contacto estrecho con animales, tanto en el hogar y en el trabajo laboral (Christensen *et al.*, 2008; Villalobos *et al.*, 2022). En relación con esto, se reportó que la presencia de mascotas en la vivienda se presenta como un factor de riesgo para contraer infección, ya que se encontró que la existencia de mascotas en casa aumenta 3.19 (IC 95 % 1.74-5.84) veces el riesgo de exposición al VHE.

Por otro lado, se propone que IL-18 juega un papel importante durante el desarrollo de infecciones virales (Yasuda *et al.*, 2019), y se ha demostrado que la producción de esta citocina aumenta al existir una infección aguda provocada por hepatitis C (Vecchié *et al.*, 2020). Tomando en cuenta nuestros resultados, se observa que los niveles de IL-18 aumentaron en personas positivas para algún anticuerpo del VHE. La evidencia de que los niveles de IL-18 identificados fueron similares a aquellos detectados a partir del análisis de sueros de pacientes con infección aguda, sugiere la potencial circulación de ARN viral en los donantes de sangre. No obstante, en nuestro análisis no incorporamos la detección de ARN viral, pero este es un tema que debe ser abordado en posteriores estudios. Cabe destacar, que los reportes indican la dificultad en la detección de ARN viral en muestras de donantes de sangre, por lo que posteriores estudios en los que se incluya mayor número de muestras otorgaran mejores herramientas para su identificación en respuesta a la infección.

Se ha informado sobre el incremento de IL-18 a causa de infección aguda por VHE (Debes *et al.*, 2019) por lo que nuestros resultados obtenidos, sugieren que la detección de IL-18 tiene el potencial de ser usado biomarcador para la identificación de contacto previo con el VHE.

IX Conclusiones.

La detección del 9.4 % de muestras reactivas a anticuerpos anti-VHE indica su amplia circulación en el occidente de México.

La serología indicó que en su mayoría se identificaron contactos previos con el virus de la Hepatitis E.

El contacto con mascotas y la edad representan factores de riesgo a la infección.

Los donantes con anticuerpos anti-VHE presentan mayores niveles de IL-18 en suero, para el caso de donantes positivos a IgM/IgG anti-VHE se asemeja a casos confirmados de hepatitis aguda.

X Referencias bibliográficas.

Álvarez-Muñoz, M. T., Torres, J., Damasio, L., Gómez, A., Tapia-Conyer, R., y Muñoz, O. (1999). Seroepidemiology of hepatitis E virus infection in Mexican subjects 1 to 29 years of age. *Archives of Medical Research*, 30(3), 251–254.

Aslan, A. T., y Balaban, H. Y. (2020). Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World Journal of Gastroenterology*, 26(37), 5543–5560.

Bangueses, F., Abin-Carriquiry, J. A., Cancela, F., Curbelo, J., y Mirazo, S. (2021). Serological and molecular prevalence of hepatitis E virus among blood donors from Uruguay. *Journal of Medical Virology*, 93(6), 4010–4014.

Baymakova, M., Terzieva, K., Popov, R., Grancharova, E., Kundurzhiev, T., Pepovich, R., & Tsachev, I. (2021). Seroprevalence of Hepatitis E Virus Infection among Blood Donors in Bulgaria. *Viruses*, 13(3), 492.

Cheung, C. K. M., Wong, S. H., Law, A. W. H., y Law, M. F. (2022). Transfusion-transmitted hepatitis E: What we know so far?. *World Journal of Gastroenterology*, 28(1), 47–75.

Christensen, P. B., Engle, R. E., Hjort, C., Homburg, K. M., Vach, W., Georgsen, J., y Purcell, R. H. (2008). Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clinical Infectious Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 47(8), 1026–1031.

Cleland, A., Smith, L., Crossan, C., Blatchford, O., Dalton, H. R., Scobie, L., y Petrik, J. (2013). Hepatitis E virus in Scottish blood donors. *Vox Sanguinis*, 105(4), 283–289.

Debes, J. D., Groothuisink, Z. M. A., Doukas, M., de Man, R. A., y Boonstra, A. (2019). Immune dissociation during acute hepatitis E infection. *International Journal of Infectious Diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 87, 39–42.

Denner, J., Pischke, S., Steinmann, E., Blümel, J., y Glebe, D. (2019). Why all blood donations should be tested for hepatitis E virus (HEV). *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 541.

Di Cola, G., Fantilli, A. C., Pisano, M. B., y Ré, V. E. (2021). Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. *International Journal of Food Microbiology*, 338, 108986.

- Di Lello, F. A., Blejer, J., Alter, A., Bartoli, S., Vargas, F., Ruiz, R., Galli, C., Blanco, S., Carrizo, L. H., Gallego, S., Fernández, R., Martínez, A. P., y Flichman, D. M.** (2021). Seroprevalence of hepatitis E virus in Argentinean blood donors. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 33(10), 1322–1326.
- Fearon, M. A., O'Brien, S. F., Delage, G., Scalia, V., Bernier, F., Bigham, M., Weger, S., Prabhu, S., y Andonov, A.** (2017). Hepatitis E in Canadian blood donors. *Transfusion*, 57(6), 1420–1425.
- Fernández Villalobos, N. V., Kessel, B., Rodiah, I., Ott, J. J., Lange, B., y Krause, G.** (2022). Seroprevalence of hepatitis E virus infection in the Americas: Estimates from a systematic review and meta-analysis. *PloS One*, 17(6), e0269253.
- Gallian, P., Lhomme, S., Piquet, Y., Sauné, K., Abravanel, F., Assal, A., Tiberghien, P., y Izopet, J.** (2014). Hepatitis E virus infections in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases*, 20(11), 1914–1917.
- Harrithøj, L. H., Holm, D. K., Saekmose, S. G., Jensen, B. A., Hogema, B. M., Fischer, T. K., Midgley, S. E., Krog, J. S., Erikstrup, C., y Ullum, H.** (2016). Low transfusion transmission of hepatitis E among 25,637 single-donation, nucleic acid-tested blood donors. *Transfusion*, 56(9), 2225–2232.
- Hewitt, P. E., Ijaz, S., Brailsford, S. R., Brett, R., Dicks, S., Haywood, B., Kennedy, I. T., Kitchen, A., Patel, P., Poh, J., Russell, K., Tettmar, K. I., Tossell, J., Ushiro-Lumb, I., y Tedder, R. S.** (2014). Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet (London, England)*, 384(9956), 1766–1773.
- Horvatits, T., Schulze Zur Wiesch, J., Lütgehetmann, M., Lohse, A. W., y Pischke, S.** (2019). The Clinical Perspective on Hepatitis E. *Viruses*, 11(7), 617.
- Huang, C. C., Nguyen, D., Fernandez, J., Yun, K. Y., Fry, K. E., Bradley, D. W., Tam, A. W., Y Reyes, G. R.** (1992). Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *Virology*, 191(2), 550–558.
- Kamar, N., Dalton, H. R., Abravanel, F., Y Izopet, J.** (2014). Hepatitis E virus infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1), 116–138.
- Kamar, N., Izopet, J., Pavio, N., Aggarwal, R., Labrique, A., Wedemeyer, H., y Dalton, H. R.** (2017). Hepatitis E virus infection. *Nature Reviews. Disease Primers*, 3, 17086.
- Kindt, J. T., Goldsby, A. R., y Osborne, A. B.** (2007). *Inmunología de kuby*. 7ª ed.

Knegendorf, L., Drave, S. A., Dao Thi, V. L., Debing, Y., Brown, R. J. P., Vondran, F. W. R., Resner, K., Friesland, M., Khera, T., Engelmann, M., Bremer, B., Wedemeyer, H., Behrendt, P., Neyts, J., Pietschmann, T., Todt, D., y Steinmann, E. (2018). Hepatitis E virus replication and interferon responses in human placental cells. *Hepatology Communications*, 2(2), 173–187.

Kupke, P., y Werner, J. M. (2021). Hepatitis E Virus Infection-Immune Responses to an Underestimated Global Threat. *Cells*, 10(9), 2281.

Larrue, H., Abravanel, F., y Péron, J. M. (2020). Hepatitis E, what's the real issue?. *Liver International : Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 40 Suppl 1, 43–47.

Li, Y., Yu, P., Kessler, A. L., Shu, J., Liu, X., Liang, Z., Liu, J., Li, Y., Li, P., Wang, L., Wang, Y., Ma, Z., Liu, A., Wang, L., Bruno, M. J., de Man, R. A., Peppelenbosch, M. P., Buschow, S. I., Wang, L., Wang, Y., y Pan, Q. (2022). Hepatitis E virus infection activates NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3 inflammasome antagonizing interferon response but therapeutically targetable. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 75(1), 196–212.

Mansuy, J. M., Gallian, P., Dimeglio, C., Saune, K., Arnaud, C., Pelletier, B., Morel, P., Legrand, D., Tiberghien, P., y Izopet, J. (2016). A nationwide survey of hepatitis E viral infection in French blood donors. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 63(4), 1145–1154.

México: McGraw Hill.

Nimgaonkar, I., Ding, Q., Schwartz, R. E., y Ploss, A. (2018). Hepatitis E virus: advances and challenges. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 15(2), 96–110.

Organización Mundial de la Salud. (2021). Hepatitis E. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>.

Osundare, F. A., Klink, P., Majer, C., Akanbi, O. A., Wang, B., Faber, M., Harms, D., Bock, C. T., y Opaleye, O. O. (2020). Hepatitis E Virus Seroprevalence and Associated Risk Factors in Apparently Healthy Individuals from Osun State, Nigeria. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(5), 392.

Pallerla, S. R., Harms, D., Johne, R., Todt, D., Steinmann, E., Schemmerer, M., Wenzel, J. J., Hofmann, J., Shih, J. W. K., Wedemeyer, H., Bock, C. T., y Velavan, T. P. (2020).

Hepatitis E Virus Infection: Circulation, Molecular Epidemiology, and Impact on Global Health. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(10), 856.

Panduro, A., Escobedo Meléndez, G., Fierro, N. A., Ruiz Madrigal, B., Zepeda-Carrillo, E. A., y Román, S. (2011). Epidemiology of viral hepatitis in Mexico. *Salud Pública de Mexico*, 53 Suppl 1, S37–S45.

Passos-Castilho, A. M., Reinaldo, M. R., Sena, A., y Granato, C. F. H. (2017). High prevalence of hepatitis E virus antibodies in Sao Paulo, Southeastern Brazil: analysis of a group of blood donors representative of the general population. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases : an Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 21(5), 535–539.

Primadharsini, P. P., Nagashima, S., y Okamoto, H. (2021). Mechanism of Cross-Species Transmission, Adaptive Evolution and Pathogenesis of Hepatitis E Virus. *Viruses*, 13(5), 909.

Purcell, R. H., Engle, R. E., Govindarajan, S., Herbert, R., St Claire, M., Elkins, W. R., Cook, A., Shaver, C., Beauregard, M., Swerczek, J., y Emerson, S. U. (2013). Pathobiology of hepatitis E: lessons learned from primate models. *Emerging Microbes & Infections*, 2(3), e9.

Realpe-Quintero, M., Mirazo, S., Viera-Segura, O., Copado-Villagrana, E. D., Panduro, A., Roman, S., Arbiza, J., y Fierro, N. A. (2018). Hepatitis E Virus Genotype 1 and Hepatitis A Virus Dual Infection in Pediatric Patients with a Low Socioeconomic Status from Mexico. *Intervirology*, 61(3), 105–110.

Samala, N., y Ghany, M. G. (2013). Hepatitis E: The nonendemic perspective. *Clinical Liver Disease*, 2(6), 245–249.

Sauleda, S., Ong, E., Bes, M., Janssen, A., Cory, R., Babizki, M., Shin, T., Lindquist, A., Hoang, A., Vang, L., Piron, M., Casamitjana, N., Koppelman, M., Danzig, L., y Linnen, J. M. (2015). Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain). *Transfusion*, 55(5), 972–979.

Schlosser, B., Stein, A., Neuhaus, R., Pahl, S., Ramez, B., Krüger, D. H., Berg, T., y Hofmann, J. (2012). Liver transplant from a donor with occult HEV infection induced chronic hepatitis and cirrhosis in the recipient. *Journal of Hepatology*, 56(2), 500–502.

- Shrivastava, G., Valenzuela Leon, P. C., y Calvo, E.** (2020). Inflammasome Fuels Dengue Severity. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 489.
- Slot, E., Hogema, B. M., Riezebos-Brilman, A., Kok, T. M., Molier, M., y Zaaier, H. L.** (2013). Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. *Euro Surveillance*, *18*(31), 20550.
- Thakur, V., Ratho, R. K., Kumar, S., Saxena, S. K., Bora, I., y Thakur, P.** (2020). Viral Hepatitis E and Chronicity: A Growing Public Health Concern. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 577339.
- Ticehurst, J. R., Pisanic, N., Forman, M. S., Ordak, C., Heaney, C. D., Ong, E., Linnen, J. M., Ness, P. M., Guo, N., Shan, H., y Nelson, K. E.** (2019). Probable transmission of hepatitis E virus (HEV) via transfusion in the United States. *Transfusion*, *59*(3), 1024–1034.
- Tripathy, A. S., Puranik, S., Sharma, M., Chakraborty, S., y Devakate, U. R.** (2019). Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in Pune, India. *Journal of Medical Virology*, *91*(5), 813–819.
- Vecchié, A., Bonaventura, A., Toldo, S., Dagna, L., Dinarello, C. A., y Abbate, A.** (2021). IL-18 and infections: Is there a role for targeted therapies?. *Journal of Cellular Physiology*, *236*(3), 1638–1657.
- Velázquez, O., Stetler, H. C., Avila, C., Ornelas, G., Alvarez, C., Hadler, S. C., Bradley, D. W., y Sepúlveda, J.** (1990). Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986-1987. *JAMA*, *263*(24), 3281–3285.
- Viera-Segura, O., Realpe-Quintero, M., Panduro, A., Roman, S., Jose-Abrego, A., Gonzalez-Aldaco, K., Trujillo-Ochoa, J. L., y Fierro, N. A.** (2019). First detection of hepatitis E virus genotype 3 as a common infectious agent in patients with chronic liver damage in Mexico. *Annals of Hepatology*, *18*(4), 571–577.
- Vollmer, T., Diekmann, J., Johne, R., Eberhardt, M., Knabbe, C., y Dreier, J.** (2012). Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(8), 2708–2713.
- Wang, B., y Meng, X. J.** (2021). Hepatitis E virus: host tropism and zoonotic infection. *Current Opinion in Microbiology*, *59*, 8–15.

Webb, G. W., y Dalton, H. R. (2020). Hepatitis E: an expanding epidemic with a range of complications. *Clinical Microbiology and Infection : the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(7), 828–832.

Yasuda, K., Nakanishi, K., y Tsutsui, H. (2019). Interleukin-18 in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 649.

Zaaijer H. L. (2015). No artifact, hepatitis E is emerging. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 62(2), 654.

XI Anexos.

Dictamen de aprobación por el Comité Local de Investigación En Salud



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 1305.
Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CENTRO DE INVESTIGACION BIOMEDICA 01)

Registro COFEPRIS 17 CI 14 039 030
Registro CONBIOÉTICA CONBIOETICA152011 22

FECHA **Lunes, 09 de septiembre de 2019**

M.C. Socorro Jaramillo Bueno

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE HEPATITIS E (VHE) EN DONANTES SANOS DEL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL GENERAL REGIONAL NÚMERO 45 DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**.

Número de Registro Institucional

R-2019-1305-059

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. José Sánchez Corona
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 1305

[Imprimir](#)

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Cédula de recolección de datos.

DATOS DE IDENTIFICACIÓN			
Nombre:	Edad:	Sexo: M F	Fecha de nacimiento
Lugar de nacimiento:	Domicilio actual: Calle: _____ No _____ Colonia: _____ Municipio: _____		Teléfono:

FACTORES DE RIESGO	
TRANSFUSIONES Fecha _____	Lugar _____
ENFERMEDADES _____	¿Cuáles? _____
CRÓNICAS evolución _____	Tiempo de _____
VACUNA HEPATITIS A	Fecha _____
VACUNA HEPATITIS B	Fecha _____
NO DE EMBARAZOS _____	
CONTACTO PACIENTES Fecha _____	Parentesco _____ CON _____
_____ CON HEPATITIS	
CONSUMO AGUA: GARRAFON LLAVE POZO MARCA: _____	DE _____
VIVIENDA: RURAL URBANA	
AGUA POTABLE: SI NO	
EXCRETAS: DRENAJE FOSA SÉPTICA	

MASCOTAS: TIPO: _____ HACE CUÁNTO
TIEMPO: _____

TRABAJO CON ANIMALES: TIPO: _____ HACE CUANTO
TIEMPO: _____

CONSUMO DE CARNE DE CERDO: PROMEDIO DE VECES POR
SEMANA: _____

CONSUMO DE LECHE PASTEURIZADA: PROMEDIO DE VECES POR
SEMANA: _____

CONSUMO DE EMBUTIDOS: PROMEDIO DE VECES POR
SEMANA: _____

OCUPACIÓN _____

SEGUIMIENTO (exclusivo personal responsable del proyecto)

IgM anti VHE	IgG anti VHE	PCR
Resultado _____	Resultado _____	Resultado _____
—	—	—
Fecha _____	Fecha _____	Fecha _____
—	—	—