



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**“SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VIRUS DE HEPATITIS E EN
MUJERES GESTANTES – HOSPITAL SAN BARTOLOMÉ 2018”**

LINEAS DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

AUTOR

Ochoa Rojas Carlos Gerardo

ASESOR

Lagos Castillo Moraima Angelica

JURADOS

Cruz Gonzales Gloria Esperanza

Prado Maggia Carlos Toribio

Guerrero Barrantes Cesar Enrique

Lima – Perú

2021

**SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VIRUS DE HEPATITIS E EN
MUJERES GESTANTES - HOSPITAL SAN BARTOLOMÉ 2018**

CARLOS GERARDO OCHOA ROJAS

ASESOR:

MG. MORAIMA ANGELICA LAGOS CASTILLO

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
I. INTRODUCCION.....	6
1.1. Descripción y formulación del problema.....	6
1.2. Antecedentes.....	8
1.3. Objetivos.....	10
- Objetivo General.....	10
- Objetivos Específicos.....	10
1.4. Justificación.....	11
1.5. Hipótesis.....	12
II. MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	13
III. METODO.....	21
3.1. Tipo de investigación.....	21
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	21
3.3. Variables.....	21
3.4. Población y muestra.....	21
3.5. Instrumentos.....	21
3.6. Procedimientos.....	22
3.7. Análisis de datos.....	29
IV. RESULTADOS	30
V. DISCUSION DE RESULTADOS	36
VI. CONCLUSIONES.....	41
VII. RECOMENDACIONES.....	42
VIII. REFERENCIAS.....	43
IX. ANEXOS.....	45

Resumen

Introducción. El virus de la hepatitis E (HEV) es probablemente la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo, valorándose que un tercio de la población mundial ha estado infectada por este agente. En Perú se desconoce la epidemiología de la infección originada por este virus.

Objetivo. Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en pacientes gestantes del hospital San Bartolomé en Lima.

Métodos. Se estudiaron muestras de suero de 316 gestantes que fueron analizadas por anti-HEV para ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).

Resultados. De las 316 muestras de gestantes, la frecuencia de seropositividad para el virus de la hepatitis E fue de 14.5% (46/316); de estas, 0.3% (1/316) presentó IgM anti-HEV y 14.2% (45/316), IgG anti-HEV. De acuerdo al lugar de procedencia, las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE y las 3 gestantes seropositivas para IgM VHE tienen como procedencia Lima. De acuerdo con la edad de las madres, las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE, el 51,11 % (24 gestantes) presentan edades de 27 a 36 años, de igual modo, de las 3 seropositivas para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) presenta edad entre 15 a 26 años.

Conclusiones. La seropositividad descrita indica una frecuencia alta de 14.5% en mujeres del hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé” en periodo del mes de diciembre del 2018 a enero del 2019.

Palabras clave: Virus de la hepatitis E, seroprevalencia, gestante, anticuerpos.

Abstract

Introduction. Hepatitis E virus (HEV) is probably the most common cause of acute viral hepatitis in the world, assessing that one third of the world's population has been infected by this agent. In Peru, the epidemiology of the infection caused by this virus is unknown.

Objective. To determine the seroprevalence of anti-HEV antibodies in pregnant patients at the San Bartolomé hospital in Lima.

Methods. Serum samples from 316 pregnant women were studied and analyzed by anti-HEV for ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Results. Of the 316 samples of pregnant women, the seropositivity frequency for hepatitis E virus was 14.5% (46/316); of these, 0.3% (1/316) presented anti-HEV IgM and 14.2% (45/316), anti-HEV IgG. According to the place of origin, the 47 pregnant women seropositive for IgG VHE and the 3 pregnant women seropositive for IgM VHE come from Lima. According to the age of the mothers, the 47 pregnant women seropositive for IgG VHE, 51.11% (24 pregnant women) have ages of 27 to 36 years, likewise, of the 3 seropositive for IgM VHE, 33.3% (1 pregnant woman) has an age between 15 to 26 years.

Conclusions. The seropositivity described indicates a high frequency of 14.5% in women of the National Mother Child Hospital "San Bartolomé" during the month of December 2018 to January 2019.

Keywords: Hepatitis E virus, seroprevalence, pregnant woman, antibodies.

INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis E (HEV) es probablemente la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo, valorándose que un tercio de la población mundial ha estado infectada por este agente. En Perú se desconoce la epidemiología de la infección originada por este virus.

1.1 Descripción y formulación del tema

Descripción

Las hepatitis virales son enfermedades infecciosas, agudas y contagiosas que causan daño hepático y forman un problema de salud pública mundial. Los agentes que causan hepatitis viral por transmisión vía fecal-oral son: el virus de la hepatitis A (VHA) y el virus de la hepatitis E (VHE). (Sánchez Partidas & Gutiérrez García, 2012)

El HEV está catalogado en la familia Hepeviridae como único miembro del género Hepevirus; comprende un genoma de tipo ARN de cadena sencilla de sentido positivo de 7,5kb, aproximadamente, que codifica tres marcos de lectura abierta, ORF1, ORF2 y ORF3 (Open Reading Frame, ORF). (Peláez et al., 2014)

El HEV es causante de más del 50% de los casos hepatitis viral aguda en adultos en países endémicos y del 1% en países no endémicos; sin embargo, la infección en las mujeres embarazadas es particularmente grave en los países de alta endemicidad con lo cual se ha informado que una proporción significativa de las mujeres embarazadas con hepatitis E puede evolucionar a hepatitis fulminante durante las epidemias, especialmente en el tercer trimestre, con una alta mortalidad de 15-20%. (Gu et al., 2015)

Según las revisiones bibliográficas se ha encontrado que la prevalencia más alta, existe en México, considerado un país endémico para HEV, con una prevalencia de 1,6% en mujeres gestantes, 6,3% en voluntarios y 10,4% en adultos jóvenes, mientras en países de la región latinoamericana; son

muy parecidos a los de Europa.(Echevarría et al., 2013) Respecto a Perú, se realizó un estudio en grupos de riesgo, como trabajadores de salud, presidiarios y operarios del sistema de agua y alcantarillado, se detectaron anticuerpos anti-HEV en un rango de 7,5 a 12,5% de las muestras.(Peláez et al., 2014)

Formulación del problema

A partir de que las mujeres embarazadas son una población vulnerable, ya que se realizan múltiples tamizajes con la finalidad de detectar enfermedades y poder prevenirlas a tiempo. Más énfasis en las enfermedades como la Hepatitis, con lo cual observe por medio de la Historia Clínica que había pacientes con sintomatología muy similar a la infección por el virus de la Hepatitis A, pero que en el diagnóstico recomendaban otras soluciones. Teniendo literatura regional y mundial sobre el virus de la Hepatitis E, mi pregunta fue ¿De qué manera se relaciona el Virus de la Hepatitis E y mujeres gestantes del Hospital San Bartolomé en el 2018?

Pregunta general

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti- Virus de la hepatitis E en pacientes gestantes del Hospital San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

Preguntas específicas

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo al lugar de procedencia de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé según la edad durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé según la edad gestacional durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé según el contacto con animales, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

¿Cuál es la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé según el consumo de agua no tratada durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019?

1.2 Antecedentes

Obiri-Yeboah D. (2018) realizó el estudio sobre la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la infección por VHE entre las mujeres embarazadas en la costa del cabo Metropolis, región central de Ghana, con 398 muestras de suero que fueron analizadas por inmunoensayo HEV (Anti-HEV Ig G y Anti-HEV IgM) ELISA por duplicado usando el kit INNOVITA (Tangshan, China). Resultando positivas para el anticuerpo anti-HEV Ig G y anti-HEV Ig M; 48(12.2%) y 1(0.2%), respectivamente.

Guangyu G. (2015) realizó el estudio con el objetivo de investigar la prevalencia y los posibles factores de riesgo de infección por VHE entre las mujeres embarazadas y observar la evolución del anti-VHE en estas mujeres puérperas y sus hijos después de 6 años de seguimiento, para ello se recolectaron 497 muestras de suero de mujeres durante el embarazo y 6 años después del parto y de sus 497 niños las cuales fueron cribados para anti-HEV por ELISA y confirmados por Western Blot, el ARN del VHE se detectó mediante PCR anidada mediante transcripción inversa. Resultaron positivas de las mujeres embarazadas 3 (0,6%) a IgM anti-HEV y 55 (11,1%) a IgG en

un total de 497 muestras procesadas. A los 6 años postparto, fueron tomadas nuevas muestras a las 497 mujeres de estudio, cuyos resultados nuevos fueron que 18 muestras que fueron positivas para IgG anti-HEV se volvieron negativas para este anticuerpo mientras que otras 18 se convirtieron de Anti IgG contra HEV negativas a positivas; la prevalencia acumulada en este grupo de estudio fue de al menos 14,7% (73/497); mientras de los 497 niños nacidos, las tasas positivas de anti-HEV IgM e IgG fueron 0.2% y 0.4%, respectivamente.

Cong W. (2015) realizó un estudio para estimar la seroprevalencia y los posibles factores de riesgo asociados con la adquisición de la infección por VHE en mujeres embarazadas en China, para lo cual se recolectó 1955 muestras de suero, de las cuales 990 fueron mujeres embarazadas y 965 un grupo control. Todas ellas cuales fueron cribadas por ELISA para HEV IgG e IgM. Resultaron positivas para anti-HEV Ig G, 20,7% de las muestras evaluadas; correspondiendo el 16,2% en mujeres embarazadas, mientras que en el grupo control fue 25,3%. Sesenta y dos (3,2%) de las 1955 muestras de suero fueron positivos para anti-HEV IgM y la seroprevalencia en mujeres embarazadas y sujetos control fue del 2,6% y 3,6% respectivamente. Sesenta y una muestras de suero fueron positivas tanto para anti-HEV Ig G y anti-HEV IgM y una muestra de suero fue positiva para anti-HEV Ig M, pero negativa para anti-HEV Ig G.

Peláez D. (2014) realizó el estudio denominado “Infección por el virus de la hepatitis E en pacientes con diagnóstico clínico de la hepatitis viral en Colombia” evaluando 344 muestras de pacientes remitidas del Instituto Nacional de Salud en el periodo 2005-2010 provenientes de 15 departamentos de Colombia(grupo1) y muestras remitidas del Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia en el periodo 2008-2009(grupo2) que fueron analizadas por inmunoensayo. Los resultados de seropositividad para el virus de la hepatitis E en las 344 muestras analizadas fue

de 8,7% (30/344); de estas, 1,74% (6/344) presento IgM anti- HEV y 7,5% (26/344), IgG anti-HEV.

Abebe M. (2017) realizó un estudio con el objetivo de determinar la incidencia del VHE durante el embarazo asociado con una elevada morbilidad materna y fetal, para ello se recolectaron 386 muestras de suero de mujeres embarazadas que fueron examinados para IgG anti-HEV y IgM anti-HEV usando ELISA. Resultaron positivas para el anticuerpo anti-HEV Ig G y anti-HEV Ig M; 122(31.6%) y 2(0.5%), respectivamente.

1.3 Objetivos

Objetivo General

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes del Hospital San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

Objetivos Específicos

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo al lugar de procedencia de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con la edad de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo a la edad gestacional de embarazo de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo al contacto con animales en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con el consumo de agua en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.

1.4 Justificación

El presente trabajo de investigación será relevante, ya que por medio de su realización se determinará la seroprevalencia de anticuerpos anti-Virus de la Hepatitis E genotipo 1 y 2, en gestantes, y esto permitirá conocer la importancia de su detección, ya que el hospital al ser un hospital materno infantil atiende a madres e hijos de todas partes del Perú.

Con el presente trabajo de estudio se pretende determinar la seroprevalencia de la HEV utilizando marcadores serológicos de tipo antígeno de superficie (HEV) y Anticuerpos contra hepatitis E (HEV) en pacientes gestantes del Hospital San Bartolomé de Lima en el periodo de diciembre 2018- enero del 2019.

El análisis de la población gestante es importante, pues independientemente de que hace posible determinar la prevalencia de otras infecciones en los controles prenatales y tener tamizajes sobre los neonatos, se busca contribuir e identificar con otros factores que pueden jugar un papel importante en la transmisión vertical, así como los mecanismos mediante los cuales se puede incidir en la prevención de la misma mediante programas de vacunación y tamizaje prenatal. La utilización de marcadores serológicos específicos contra este importante virus contribuirá a mejorar el rendimiento y la calidad de vida de las madres y sus hijos en el Hospital de estudio y a nivel Latinoamericano por carencia de estudios previos en esta parte del mundo.

1.5 Hipótesis

No se plantea.

MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

Antecedentes Históricos

El origen de la hepatitis aguda E se remota hacia finales del siglo XIX en estudios retrospectivos en India de grandes epidemias transmitidas por el agua, atribuidas originalmente al virus de la hepatitis A, en las cuales sugirieron un nuevo agente etiológico como causa de la epidemia.(Rodríguez-Frias, Jardi, & Buti, 2012)

Se logró determinar en 1983 el virus de hepatitis E(VHE), virus de hepatitis entérica no-A, denominado E por entérica y epidémica, que había producido una hepatitis indescriptible en soldados soviéticos en Afganistán.(Kamar, Dalton, Abravanel, & Izopet, 2014)

Virología del VHE

El virus de la Hepatitis E (VHE) es una pequeña partícula icosaédrica sin envoltura. Este virus contiene un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo de 7.2 kb, que está limitado y poliadenilado en los extremos 5' y 3', respectivamente; constituido por 3 regiones codificantes de proteínas o marcos de lectura abierta (ORFs), las cuales tienen las siguientes características:

ORF1 codifica una proteína de 1,693 aminoácidos que contiene dominios funcionales responsables de la replicación viral. Estos dominios funcionales incluyen metiltransferasa (MetTrf), cisteín-proteasa (Cys-Prot), ARN helicasa y ARN polimerasa dependiente de ARN (ARN-pol).(Rodríguez-Frias et al., 2012)

ORF2 ensambla una proteína de la cápside viral de 660 aminoácidos responsable del ensamblaje del virión. Esta proteína contiene 3 dominios lineales: el dominio S (aa: 320-454), que sintetiza la cápside, y los dominios M (aa: 320-454) y P (aa: 320-606) que se relacionan con la interacción virus-célula huésped.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

ORF3 que se superpone a la región ORF2 codifica una fosfoproteína inmunogénica de 114 aminoácidos que se asocia con el citoesqueleto. Esta proteína está involucrada en la morfogénesis del virión y su infectividad.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Ciclo replicativo del VHE

El VHE se replica en el citoplasma con un ARN subgenómico que produce las proteínas ORF2 y ORF3, y el ARN genómico completo que codifica proteínas no estructurales y que sirve como plantilla para la replicación. Según este estudio la proteína ORF1 no está sujeta a procesamiento proteolítico. El VHE se replica en los hepatocitos pero también en el intestino delgado, el colon y los ganglios linfáticos, como lo demuestra la detección de RNA intermedio de sentido negativo.(Kamar et al., 2014)

Clasificación taxonómica y filogenia del VHE

El VHE está clasificado en el género Hepevirus de la familia Hepeviridae. La clasificación más común identifica 4 genotipos principales HEV de mamíferos (HEV1 a 4) y varios subgenotipos dentro de cada genotipo. (Rodríguez-Frias et al., 2012)

El genotipo 1 es exclusivo en humanos, aislado en brotes epidémicos y casos esporádicos del Norte de África y Asia donde son endémicos, y más recientemente en América. El genotipo 2 es exclusivo en humanos, comprende una única cepa aislada en una epidemia en México y cepas de epidemias en África Central, y tiene una homología del 75% en nucleótidos y del 86% en aminoácidos con el genotipo 1. El genotipo 3 abarca cepas del VHE humana y porcina procedentes de países desarrollados como Estados Unidos y principalmente Europa, aunque también en Asia, Oceanía y Argentina, e implica un 75% de homología con los genotipos 1 y 2, con lo cual cruzan la barrera de especie. El genotipo 4 engloba cepas del VHE humano y porcino.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Los genotipos 1 y 2, exclusivo en humanos, se vinculan a grandes de hepatitis E epidemias transmitidas por el agua en las regiones endémicas, mientras que los genotipos 3 y 4 de humanos y otros mamíferos son los principales responsables de casos esporádicos de hepatitis E en regiones no epidémicas. Los genotipos 1 y 2 en países en desarrollo, la afectación clínica fue más alta en niños mayores y adultos jóvenes, mientras que los genotipos 3 y 4 de países desarrollados se contempla en promedio a edades más avanzadas y en infectados con VIH, lo que propone ser más patogénicos que el 3 y el 4, y de estos, el 4 más que el 3. Según estudios recomiendan que los jmbrotos de infección por VHE indican que los genotipos 1 y 2 infectan más eficazmente por vía fecal-oral entre humanos, mientras que los genotipos 3 y 4 se mantienen entre las especies animales e infectan a humanos por transmisión zoonótica.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Patogenia y cuadro clínico de la enfermedad

El humano puede adquirir el VHE, que en orden decreciente de importancia son:

- a) Fecal- oral: de mayor importancia en países en desarrollo como Perú por contaminación de los suministros de agua potable. Esta vía explica una gran proporción de casos clínicos, con lo cual los factores de riesgo están relacionados con el saneamiento deficiente, que permite que los virus excretados en las heces de las personas infectadas lleguen al agua de bebida.
- b) Por alimentos contaminados, crudos o poco cocidos
- c) Por trasfusión de productos sanguíneos infectados
- d) Por transmisión vertical (materno- fetal) (OMS, 2017)

Epidemiología

El HEV es probablemente la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo, valorándose que un tercio de la población mundial ha estado infectada por este agente.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Se estima que cada año hay unos 20 millones de casos de infección por el VHE, que producen 3,3 millones de casos sintomáticos de hepatitis E.(OMS, 2017)

La infección por VHE sigue 2 patrones evidentemente diferenciados: un patrón en las regiones donde se producen epidemias (países subdesarrollados) y otro muy diferente en los países desarrollados.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Patrón epidémico

En regiones como India, China, Asia Sudoriental y Central, oriente Medio y partes del norte y del oeste de África y 2 brotes únicos (1986-1987) se han observado epidemias de hepatitis E. Las tasas de morbilidad de este virus van del 1 al 15%, afectando sobre todo a adultos jóvenes, más varones que mujeres. Es sobresaliente que los brotes de hepatitis E se asocian a una alta morbilidad y mortalidad en embarazadas (19% en embarazadas, frente al 2,1% en no embarazadas o 2.8% en hombre) con un alto riesgo obstétrico de prematuridad y riesgo de mortalidad perinatal, y en individuos con una enfermedad hepática crónica subyacente.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Patrón no endémico

En países desarrollados, el VHE3 y VHE4 se transmiten zoonóticamente de los reservorios animales, con casos esporádicos que se han informado cada vez más en los últimos años debido a las mejoras de las herramientas de diagnóstico y las estrategias de detección.(Rodríguez-Frias et al., 2012) Sin embargo, también se ha descrito en países en vías de desarrollo.(Peláez et al., 2014)

Cuadro clínico

La etiología más común de esta infección es en forma de hepatitis aguda. A nivel epidemiológico se pueden observar diferencias entre zonas endémicas y no endémicas:

a) Zonas con infección por VHE endémica

En áreas de pobre saneamiento en países en desarrollo, el HEV1 y HEV2 son transmitidos entre humanos por la vía fecal- oral, usualmente por el agua contaminada. En la mayoría de los pacientes, la hepatitis E causa una enfermedad autolimitada que dura unas pocas semanas. Luego de un periodo de incubación de 2 a 6 semanas, se desarrollan los síntomas de la hepatitis, con fiebre y náusea seguido por dolor abdominal, vómito, malestar, y hepatomegalia. La ictericia ocurre alrededor del 40% de pacientes.(Rodríguez-Frias et al., 2012)

b) Áreas no endémicas para infección por VHE

Según estudios la clínica es mediante:

. La infección aguda que incluye síntomas como: náuseas, fiebre, malestar general, artralgias, vómitos, diarrea y dolor abdominal, y el más predominante, la ictericia, presente en un 75% en pacientes. La mayoría de los casos son esporádicos, y no ocurren por grandes brotes.

. Infección del HEV mal diagnosticada como Lesión Hepática Inducido por Drogas (DILI).

.Manifestaciones extrahepáticas: Incluyen una variedad de síndromes neurológicos, lesiones renales, pancreatitis y problemas hematológicos.(Kamar et al., 2014)

c) Hepatitis crónica por VHE

Según estudios se han descrito casos de infección por VHE con enfermedad hepática crónica, e incluso progresión a cirrosis, en pacientes inmunosuprimidos, como receptores de órganos sólidos, pacientes hematológicos o en quimioterapia o infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).(Rodríguez-Frias et al., 2012)

Respuesta inmune

Frente al ingreso del virus de la hepatitis E, la respuesta serológica anti-VHE presenta un patrón serológico clásico de anti-VHE IgM e IgG detectable generalmente en el momento de la aparición de la enfermedad.

Los anticuerpos del isotipo IgM aparecen en las 2 primeras semanas luego de la infección, seguidos por el isotipo IgG.

En la detección de anticuerpo (Inmunoglobulinas IgG e IgM) se debe considerar:

- Las IgM se forman precozmente en las 2 primeras semanas luego de la infección y alcanzan su pico en el periodo sintomático, considerado como marcador para el diagnóstico de la infección aguda.
- Las IgG se forman simultáneamente a la respuesta de IgM.
- Tanto en el hombre como en los animales la infección natural estimula la aparición simultánea o ligeramente retrasado de las IgM e IgG, pero mientras las IgM declinan y tienden a desaparecer, las IgG se estabilizan y persisten por largo tiempo.

Diagnóstico de laboratorio

La hepatitis E es clínicamente indistinguible de los otros tipos de hepatitis viral aguda. No obstante, el diagnóstico se basa en pruebas de laboratorio (pruebas serológicas y detección de ARN viral).(OMS, 2017)

A nivel inmunológico se efectúa los inmunoensayos enzimáticos de diagnóstico universales tipo ELISA para detectar anticuerpos específicos (anti-VHE) de tipo IgG e IgM; estos inmunoensayos comerciales utilizan antígenos sintéticos específicos de las regiones conservadas e inmunodominantes de las proteínas codificadas por los ORF2 y ORF3 de aislamientos de los genotipos 1 y 2; mientras a nivel virológico abarca la detección del genoma viral ARN-VHE y su

genotipado por secuenciación, y para esta determinación se utilizan ensayos de PCR con transcripción reversa (RT-PCR) convencionales y en tiempo real no comerciales, in-house (no estandarizados) para la detección del ARN del VHE en muestra de sangre, heces y aguas residuales. La detección de ARN-VHE establece la replicación viral y su caracterización genómica posterior, ya que es el único marcador viral útil. (Rodríguez-Frias et al., 2012)

Embarazo

Son los nueve meses durante los cuales el feto se desarrolla en el útero de la mujer. Durante el embarazo, tanto la mujer como su futuro hijo se enfrentan a diversos riesgos sanitarios. Por este motivo, es importante que el seguimiento del embarazo sea realizado por personal profesional calificado.

Infección de HEV en mujeres gestantes

El embarazo asociado con la hepatitis E parece ser un factor de riesgo potencial para la replicación viral y conduce a un estado inmune extremadamente bajo en mujeres embarazadas. Un sinnúmero de estudios de países en desarrollo ha indicado una alta mortalidad en mujeres embarazadas que desarrollan infección por el VHE. La mortalidad es del 20 al 25% y generalmente ocurre en el tercer trimestre. Las mujeres embarazadas mueren por problemas obstétricos, incluyendo hemorragia o eclampsia, o desarrollan insuficiencia hepática fulminante. (Kamar et al., 2014)

Estudios clínicos y epidemiológicos sugieren que la transmisión vertical del VEH ocurren en mujeres gestantes y conduce a resultados fetales adversos, como por ejemplo la muerte fetal, muerte neonatal y el aborto espontáneo. (Gu et al., 2015)

El exceso de mortalidad en el embarazo con HEV genotipo 1 y 2 es único, ya que no se ve con los genotipos 3 y 4. La causa de este exceso es incierto y ha sido objeto de numerosos estudios y mucho debate. El embarazo se caracteriza por un estado de tolerancia inmune materna hacia el

feto. La actividad de las células T se reduce, con lo cual hay una reducción en la producción de citocinas en las primeras 20 semanas, donde predominan las respuestas del linfocito T-helper2 (Th2) y los cambios inmunológicos en la placenta regulan negativamente la presentación del antígeno. Los cambios en las respuestas inmunológicas de la madre se deben, al menos en parte, a cambios significativos en los perfiles hormonales, con niveles aumentados de progesterona, estrógeno y gonadotropina coriónica humana (hCG).(Kamar et al., 2014)

Los estudios han mostrado diferencias significativas en respuestas inmunológicas y hormonales en mujeres embarazadas con insuficiencia hepática fulminante causada por hepatitis E. Finalmente, estudios recientes mostraron que entre las mujeres infectadas con VHE, se observaron cargas virales más altas en mujeres embarazadas que en mujeres que no estaban embarazadas.(Kamar et al., 2014)

Definición de términos básicos

- a) **Seroprevalencia.** - La presencia global de una enfermedad o condición dentro de una población definida en un momento, medida por pruebas de sangre (pruebas serológicas).
- b) **Anticuerpos.** - Proteínas sintetizadas por el sistema inmunológico del cuerpo en respuesta a un antígeno, con el cual reacciona a fin de contribuir a su eliminación.
- c) **Virus de la Hepatitis E.-** Es el agente etiológico de una enfermedad llamada Hepatitis E.
- d) **Mujer gestante.** - Es aquella mujer, en la cual dentro de su útero se desarrolla el feto durante nueve meses.
- e) **Tamizaje.** - Es el uso de una prueba sencilla en una población saludable, para identificar a aquellos individuos que tienen alguna patología, pero que todavía no presentan síntomas.

MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

El presente trabajo fue de tipo descriptivo de corte transversal y diseño no experimental.

3.2 Ámbito temporal y espacial

El presente trabajo se realizó durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019 en el Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”.

3.3 Variables

Anticuerpos anti-Virus de la Hepatitis E.- Son inmunoglobulinas en consecuencia de la respuesta humoral y se caracteriza por un aumento de la IgM en las fases iniciales, seguido por el cambio en la síntesis de IgG.

Anticuerpos anti-VHE IgM- Es la primera inmunoglobulina que sintetiza el neonato por sí mismo, y también es la primera en aparecer durante la respuesta primaria.

Anticuerpos anti-VHE IgG- Es el isotipo más abundante en suero, constituyendo el 80% de la Ig totales y son las que mayoritarias durante la respuesta secundaria.

3.4 Población y muestra

La población estaba conformada por todos los sueros conservados por congelación de las mujeres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”.

Estuvo conformada por las 316 crioviales (muestras congeladas) del mes de diciembre del 2018 a enero del 2019.

3.5 Instrumento

Para la recolección de los datos, se solicitó el permiso a la institución donde se llevará a cabo el presente trabajo, donde se utilizó el Consentimiento Informado y la Ficha de Encuesta en el Hospital Nacional “San Bartolomé”. INSTRUMENTO VALIDADO

3.6 Procedimientos

Durante el periodo comprendido entre diciembre y enero se tomó en el HONADOMANI San Bartolomé, por conveniencia 300 a 400 muestras de suero de mujeres embarazadas que tengan perfil prenatal y acepten participar en el estudio firmando previamente el consentimiento informado, con la cual se les realizó un cuestionario.

Para la realización del ensayo, se utilizó muestras de suero. Las muestras de sangre se recogieron en tubos vacutainer al vacío sin anticoagulante. Posteriormente, la muestra sanguínea se separó en sus componentes a 3500 rpm por 5 minutos.

Este estudio consistió en procesar un número de muestras mediante una metodología, la cual fue: **ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)** de BEIJING WANTAI BIOLOGICAL PHARMACY ENTERPRISE Ig G e Ig M cuyo método es la reacción de los anticuerpos de la muestra frente a los antígenos unidos a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas que no se unan durante la primera incubación serán eliminadas en el primer lavado, pero en caso de persistir inmunoglobulinas específicas formarán el complejo antígeno-anticuerpo que se unirá a la anti- inmunoglobulina humana (anti-Ig G) marcada con una enzima (Conjugado HRP). Luego de la segunda incubación serán eliminados en el segundo lavado, pero en caso de persistir inmunoglobulinas específicas se le añadirán soluciones cromógenas que contienen el sustrato (TMB) y peróxido de urea a los pocillos, originando una reacción coloreada azul que migrará a color amarillo en la adición de la solución de parada, las placas de ELISA serán llevadas al lector Elisa marca GEA LINEAR para su lectura de absorbancias y cálculo. Todo el procedimiento será elaborado bajo protocolos de ensayo de la casa comercial y sometida a la verificación con sus controles respectivos.

Estos inmunoensayos comerciales utilizan antígenos sintéticos específicos del HEV de las regiones conservadas e inmunodominantes de las proteínas sintetizadas por los ORF2 y ORF3 de aislamientos de los genotipos 1 y 2.

. HEV-IgG ELISA Kit (Wantai Hepatitis E Virus Diagnostics, anexo n° 4)

Este kit es un ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección cualitativa de anticuerpos clase IgG del virus de la hepatitis de la hepatitis E en suero o plasma humano.

El kit contiene:

- Placa de micropocillos
- Control negativo
- Control positivo
- Conjugado de HRP
- Diluyente de muestras
- Buffer de lavado
- Solución cromógena A
- Solución cromógena B
- Solución de Parada

Descripción

- Conjugado de HRP**, reactivo a base de anticuerpos anti-IgG humanos conjugados con Peroxidasa de Rábano Picante.
- Solución cromógena A**, solución de peróxido de urea.
- Solución cromógena B**, solución de tetrametilbencidina (TMB).
- Solución de parada**, solución de ácido sulfúrico diluido (0.5M de H₂SO₄)

Indicaciones

El kit contiene una prueba, que al realizarse detecta inmunoglobulinas IgG.

Conservación

Durante el almacenamiento y transporte el kit debe mantenerse entre 2°C y 8°C.

Procedimiento

Materiales

- a. Gradilla de alambre para sostener los tubos
- b. Micropipeta graduadas para verter 0,08 ml, 0,04 ml, 0,02 ml, 0,01 ml y 0,005 ml.
- c. Material de vidrio (probetas) para la dilución del diluyente

Procedimiento

- a. Marcar tres pocillos como control Negativo, dos como control Positivo y uno vacío, que será el Blanco.
- b. Añadir 100µL de diluyente de muestras en cada pocillo, excepto el blanco.
- c. Añadir 10µL de Control Positivo, Control Negativo y la muestra en sus pocillos respectivos, excepto el Blanco.
- d. Incubar la placa cubriéndola a 37°C por 30 minutos.
- e. Lavar cada pocillo 5 veces con Buffer de Lavado diluido.
- f. Añadir conjugado de HRP 100µl.
- g. Incubar la placa cubriéndola a 37°C por 30 minutos.
- h. Lavar cada pocillo 5 veces con Buffer de Lavado diluido.
- i. Añadir 50µL de Solución Cromógena A y 50µL de Solución Cromógena B en cada pocillo.
- j. Incubar a 37°C por 15 minutos evitando la luz
- k. Añadir 50µL de Solución de Parada.

I. Medir la absorbancia en el lector de placas.

Control de calidad y cálculo de resultados

Cálculo del valor de Cut-off o punto de corte (**C.O.**) = $N_c + 0.16$ (**N_c**= el valor de absorbancia media para tres controles negativos)

Control de Calidad (validación del ensayo): Los resultados de la prueba son válidos si se cumplen los criterios de Control de Calidad.

-El valor A del pocillo Blanco, que contiene solo Cromógeno y Solución de Parada es < 0.080 a 450 nm.

-Los valores A del control Positivo debe ser ≥ 0.800 a 450/630 nm o a 450 nm después del “blanqueo”.

-Los valores A del control Negativo debe ser ≤ 0.100 a 450/630 nm o a 450 nm después del “blanqueo”.

Si uno de los valores A del control Negativo no cumple los criterios de Control de Calidad, debe ser descartado, y el valor medio debe ser calculado usando los dos valores restantes. Si más de un valor A del control Negativo no cumple los criterios de Control de Calidad, la prueba es inválida y debe repetirse.

Interpretación

Resultados Negativos ($A/C.O. < 1$): Muestras con un valor A menor del punto de corte Cut-off son negativos, lo que indica que no se detectaron anticuerpos IgG para VHE con este kit, por lo tanto, no hay indicadores serológicos de infección con VHE.

Resultados Positivos ($A/C.O. \geq 1$): Muestras con un valor A igual o mayor al del punto de corte Cut-off son considerados inicialmente reactivos, lo que indica que probablemente se han detectado anticuerpos IgG para VHE con este kit.

Límite o Bordeline(A/ C.O. = 0.9-1.1): Muestras con una razón de valor A/ punto de corte Cut-off de entre 0.9 y 1.1 son considerados límite y se requiere probar de nuevo en duplicado para confirmar los resultados iniciales.

. HEV-IgM ELISA Kit (Wantai Hepatitis E Virus Diagnostics, anexo n°5)

Este kit es un ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección cualitativa de anticuerpos clase IgM del virus de la hepatitis de la hepatitis E en suero o plasma humano.

El kit contiene:

- Placa de micropocillos
- Control negativo
- Control positivo
- Conjugado de HRP
- Diluyente de muestras
- Buffer de lavado
- Solución cromógena A
- Solución cromógena B
- Solución de Parada

Descripción

- Conjugado de HRP**, reactivo a base de antígenos HEV recombinantes conjugados con Peroxidasa de Rábano Picante.
- Solución cromógena A**, solución de peróxido de urea.
- Solución cromógena B**, solución de tetrametilbencidina (TMB).
- Solución de parada**, solución de ácido sulfúrico diluido (0.5M de H₂SO₄)

Indicaciones

El kit contiene una prueba, que al realizarse detecta inmunoglobulinas IgG.

Conservación

Durante el almacenamiento y transporte el kit debe mantenerse entre 2°C y 8°C.

Procedimiento

Materiales

- a. Gradilla de alambre para sostener los tubos
- b. Micropipeta graduadas para verter 0,08 ml, 0,04 ml, 0,02 ml, 0,01 ml y 0,005 ml.
- c. Material de vidrio (probetas) para la dilución del diluyente

Procedimiento

- a. Marcar tres pocillos como control Negativo, dos como control Positivo y uno vacío, que será el Blanco.
- b. Añadir 100µL de diluyente de muestras en cada pocillo, excepto el blanco.
- c. Añadir 10µL de Control Positivo, Control Negativo y la muestra en sus pocillos respectivos, excepto el Blanco.
- d. Incubar la placa cubriéndola a 37°C por 30 minutos.
- e. Lavar cada pocillo 5 veces con Buffer de Lavado diluido.
- f. Añadir conjugado de HRP 100µl.
- g. Incubar la placa cubriéndola a 37°C por 30 minutos.
- h. Lavar cada pocillo 5 veces con Buffer de Lavado diluido.
- i. Añadir 50µL de Solución Cromógena A y 50µL de Solución Cromógena B en cada pocillo.
- j. Incubar a 37°C por 15 minutos evitando la luz
- k. Añadir 50µL de Solución de Parada.
- l. Medir la absorbancia en el lector de placas.

Control de calidad y cálculo de resultados

Cálculo del valor de Cut-off o punto de corte (**C.O.**) = $N_c + 0.26$ (N_c = el valor de absorbancia media para tres controles negativos)

Control de Calidad (validación del ensayo): Los resultados de la prueba son válidos si se cumplen los criterios de Control de Calidad.

-El valor A del pocillo Blanco, que contiene solo Cromógeno y Solución de Parada es < 0.080 a 450 nm.

-Los valores A del control Positivo debe ser ≥ 0.800 a 450/630 nm o a 450 nm después del “blanqueo”.

-Los valores A del control Negativo debe ser ≤ 0.100 a 450/630 nm o a 450 nm después del “blanqueo”.

Si uno de los valores A del control Negativo no cumple los criterios de Control de Calidad, debe ser descartado, y el valor medio debe ser calculado usando los dos valores restantes. Si más de un valor A del control Negativo no cumple los criterios de Control de Calidad, la prueba es inválida y debe repetirse.

Interpretación

Resultados Negativos ($A/C.O. < 1$): Muestras con un valor A menor del punto de corte Cut-off son negativos, lo que indica que no se detectaron anticuerpos IgM para VHE con este kit, por lo tanto, no hay indicadores serológicos de infección con VHE.

Resultados Positivos ($A/C.O. \geq 1$): Muestras con un valor A igual o mayor al del punto de corte Cut-off son considerados inicialmente reactivos, lo que indica que probablemente se han detectado anticuerpos IgM para VHE con este kit.

Límite o Bordeline ($A/C.O. = 0.9-1.1$): Muestras con una razón de valor A/ punto de corte Cut-

off de entre 0.9 y 1.1 son considerados límite y se requiere probar de nuevo en duplicado para confirmar los resultados iniciales.

Las diluciones son manuales según el inserto de la casa comercial.

Equipo

- Lector de ELISA marca ROBONIK
- Lavador de ELISA marca GEA LINEAR
- Impresora marca HP
- Rotador Digysystem

Materiales

- Pipetas
- Puntas descartables
- Guantes
- Crioviales
- Papel
- Papel filtro
- Parafilm

3.7 Análisis de datos

El análisis de datos se realizó con el programa estadístico SPSS.

IV. RESULTADOS

De los sueros de las 316 madres gestantes se tiene:

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en madres gestantes

Se estimó que, de los 316 casos, el 14.5% (46 gestantes) fueron positivos, mientras que el 85.5% (270 gestantes) fueron negativos.

	Número de casos	Frecuencia
Positivo	46	14.5%
Negativo	270	85.5%
Total	316	100.0%

Tabla N °1

Se estimó que el 0.6% (2 madres gestantes) dieron positivos tanto para IgG VHE como para IgM VHE, del 14.2% (45 madres gestante) dieron positivo para IgG VHE, pero negativo para IgM VHE, el 0.3% (1 madre gestante) dio negativo para IgG VHE y positivo para IgM VHE, finalmente del 84.8% (268 madres gestantes) dieron negativo para IgG VHE y también negativo para IgM VHE.

		IgM VHE		Total	
		Negativo	Positivo		
IgG VHE	Negativo	N	268	1	269
		%	84,8%	0,3%	85,1%
	Positivo	n	45	2	47
		%	14,2%	0,6%	14,9%
Total	n	313	3	316	
	%	99,1%	0,9%	100,0%	

Tabla N °2

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo al lugar de procedencia de las madres gestantes

Se determinó que de las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 83% (39 gestantes) tienen como procedencia Lima, de la misma forma, de las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7% (2 gestantes) tienen como procedencia Lima.

Procedencia	IgG VHE				IgM VHE			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	n	%	n	%	n	%	n	%
LIMA	195	72.5%	39	83.0%	232	74.1%	2	66.7%
CALLAO	4	1.5%	2	4.3%	6	1.9%	0	0.0%
HUANUCO	5	1.9%	2	4.3%	7	2.2%	0	0.0%
HUANCAYO	4	1.5%	1	2.1%	5	1.6%	0	0.0%
HUARMEY	0	0.0%	1	2.1%	1	0.3%	0	0.0%
ICA	1	0.4%	1	2.1%	2	0.6%	0	0.0%
JUNIN	3	1.1%	1	2.1%	4	1.3%	0	0.0%
AMAZONAS	2	0.7%	0	0.0%	2	0.6%	0	0.0%
ANCASH	6	2.2%	0	0.0%	6	1.9%	0	0.0%
APURIMAC	3	1.1%	0	0.0%	3	1.0%	0	0.0%
AREQUIPA	1	0.4%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
AYACUCHO	2	0.7%	0	0.0%	2	0.6%	0	0.0%
BAGUA	1	0.4%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
CAJAMARCA	8	3.0%	0	0.0%	8	2.6%	0	0.0%
CAÑETE	1	0.4%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
CHICLAYO	4	1.5%	0	0.0%	4	1.3%	0	0.0%
LA LIBERTAD	4	1.5%	0	0.0%	4	1.3%	0	0.0%
LAMBAYEQUE	2	0.7%	0	0.0%	1	0.3%	1	33.3%
LORETO	3	1.1%	0	0.0%	3	1.0%	0	0.0%
PASCO	2	0.7%	0	0.0%	2	0.6%	0	0.0%
PIURA	4	1.5%	0	0.0%	4	1.3%	0	0.0%
PUCALLPA	2	0.7%	0	0.0%	2	0.6%	0	0.0%
PUNO	4	1.5%	0	0.0%	4	1.3%	0	0.0%
COREA DEL SUR	1	0.4%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
ARGENTINA	1	0.4%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
VENEZUELA	6	2.2%	0	0.0%	6	1.9%	0	0.0%
Total	269	100.0%	47	100.0%	313	100.0%	3	100.0%

Tabla N °3

Se halló que de las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 21.3% (10 gestantes) tienen como origen Cercado de Lima, asimismo, de las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) tienen como origen Callao, Los Olivos y Puente Piedra respectivamente.

Distrito	IgG VHE				IgM VHE			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
	n	%	n	%	n	%	n	%
CERCADO DE LIMA	37	13.8%	10	21.3%	47	15.0%	0	0.0%
SAN MARTIN DE PORRES	39	14.5%	7	14.9%	46	14.7%	0	0.0%
INDEPENDENCIA	12	4.5%	3	6.4%	15	4.8%	0	0.0%
RIMAC	11	4.1%	3	6.4%	14	4.5%	0	0.0%
SJL	19	7.1%	3	6.4%	22	7.0%	0	0.0%
ATE	4	1.5%	2	4.3%	6	1.9%	0	0.0%
BREÑA	5	1.9%	2	4.3%	7	2.2%	0	0.0%
CALLAO	9	3.3%	2	4.3%	10	3.2%	1	33.3%
CARABAYLLO	10	3.7%	2	4.3%	12	3.8%	0	0.0%
LOS OLIVOS	18	6.7%	2	4.3%	19	6.1%	1	33.3%
SAN JUAN DE LURIGANCHO	13	4.8%	2	4.3%	15	4.8%	0	0.0%
Otro distrito	92	34.2%	9	19.1%	100	31.9%	1	33.3%
		100.0		100.0		100.0		100.0
Total	269		47		313		3	

Tabla N °4

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con la edad de las madres gestantes

Se encontró que de las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 51.1% (24 gestantes) presentan edades de 27 a 36 años, el 27.7% (13 gestantes) presentan edades entre 37 a 46 años y solo el 21.3% (10 gestantes) presentan edades entre 15 a 26 años. Sobre la base de la prueba chi- cuadrado ($X^2=3.239$ y $Sig=0.198>0.05$) se puede afirmar que no existe relación entre la edad de la gestante y la condición del IgG VHE. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo

para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) presenta edad entre 15 a 26 años, el mismo resultado se observó en los grupos de edad de 27 a 36 años y 37 a 46 años.

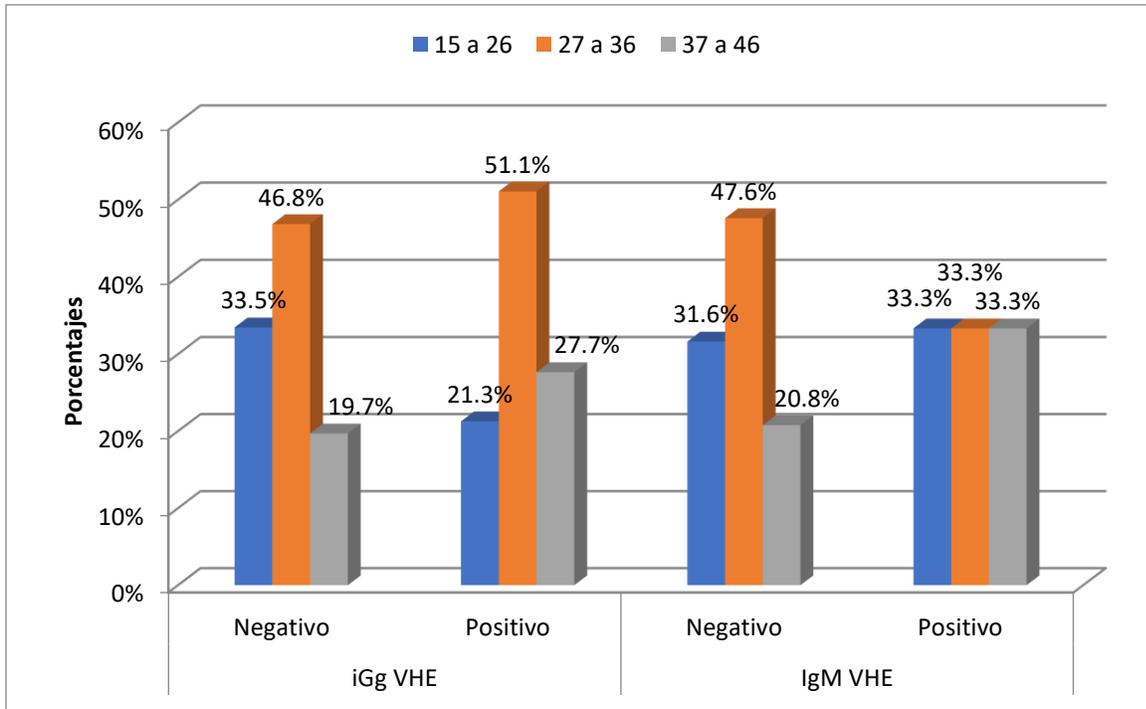


Figura N °1

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo a la edad gestacional de embarazo de las madres gestantes

Se encontró que de las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 42.6% (20 gestantes) están en el periodo gestacional II, el 38.3% (18 gestantes) están en el periodo gestacional III y solo el 19.1% (9 gestantes) están en el periodo gestacional I. Sobre la base de la prueba chi-cuadrado ($X^2=1.232$ y $Sig=0.54>0.05$) se puede afirmar que no existe relación entre la edad gestacional y la condición del IgG VHE. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7% (2 gestantes) están en el periodo gestacional II, el 33.3% (1 gestante) está en el periodo gestacional I y ninguna se encuentra en el periodo gestacional III.

Periodo del tiempo gestacional	IgG VHE (+=Pos / -=neg)				IgM VHE (+=Pos / -=neg)			
	No		Si		No		Si	
	n	%	n	%	n	%	n	%
I	61	22.7%	9	19.1%	69	22.0%	1	33.3%
II	92	34.2%	20	42.6%	110	35.1%	2	66.7%
III	116	43.1%	18	38.3%	134	42.8%	0	0.0%
Total	269	100.0%	47	100.0%	313	100.0%	3	100.0%

Tabla N °5

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo al contacto con animales en madres gestantes

Se encontró que de las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 55.3% (26 gestantes) no tienen contacto con animales y el 44.7% (21 gestantes) si tienen contacto con animales. Sobre la base de la prueba chi- cuadrado ($X^2=0.463$ y $Sig=0.496>0.05$) se puede afirmar que no existe relación entre el contacto con animales y la condición del IgG VHE. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7% (2 gestantes) no presentan contacto con animales y el 33.3% (1 gestante) si presenta contacto con animales.

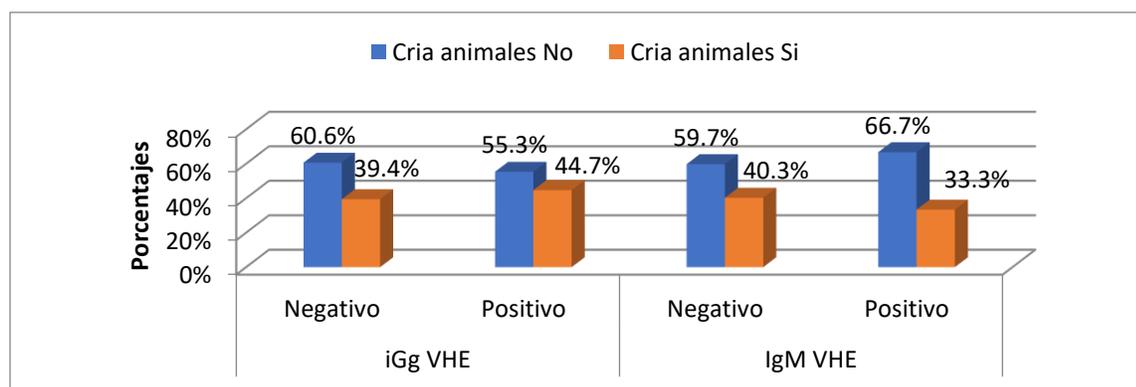


Figura N °2

Seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con el consumo de agua en madres gestantes

Se estimó que de las 47 madres gestantes con seroprevalencia de anticuerpo positiva IgG VHE el 81.4% (39 madres gestantes) consume agua potable y el 17.0% (8 madres gestantes) no consume agua potable, sobre la base de la prueba chi-cuadrada de independencia ($X^2=0.0655$ y $Sig=0.7980>0.05$) se puede afirmar que no existe relación entre la presencia de IgG VHE y el consumo de agua potable. De las 3 madres gestantes con seroprevalencia de anticuerpo positiva IgM VHE el 100% (3 madres gestantes) consume agua potable y el 0% no consume agua potable, sobre la base de la prueba chi-cuadrada de independencia ($X^2=0.6809$ y $Sig=0.4093>0.05$) se puede afirmar que no existe relación entre la presencia de IgM VHE y el consumo de agua potable.

Consumo agua potable	IgG VHE				IgM VHE			
	Negativa		Positiva		Negativa		Positiva	
	n	%	n	%	n	%	n	%
No	50	18.6%	8	17.0%	58	18.5%	0	0.0%
Si	219	81.4%	39	83.0%	255	81.5%	3	100.0%
Total	269	100.0%	47	100.0%	313	100.0%	3	100.0%

Tabla N ° 6

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio, la seroprevalencia de anticuerpos antiviral de hepatitis E en mujeres gestantes del hospital san Bartolomé 2018, fue de 14,5% la frecuencia de seropositividad de Ig G e Ig M fue de 45 y 1 pacientes gestantes, respectivamente (tabla N°1), lo que se interpreta como la frecuencia positiva alta en comparación con el estudio de Guangyu G. (2015), en China, el cual demostraba alta mortalidad (15-20%), en 19904 gestantes. La seropositividad del 14,2% para Ig G, representados por 45 pacientes, y de 0.3% la frecuencia de seropositividad de Ig M, representada por 1 paciente (según tabla 2), comparado con el estudio de Obiri-Yeboah D. (2018), en Ghana (12,2% de seropositividad de Ig G y 0.2% de seropositividad de Ig M), resultaron muy similares. De las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para Ig G VHE, el 83% (39 gestantes) tiene como procedencia Lima, de la misma forma de las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7%(2 gestantes) tienen como procedencia Lima, como se observa en la tabla N°3, comparado con el estudio de Cong W. (2015), quien señala que en países subdesarrollados el VHE se transmite por vía fecal-oral por el consumo de agua contaminada con eliminación de aguas de residuo, a diferencia de nuestro estudio, en el lugar de residencia el agua no fue el foco de infección a excepción del suelo, precisando que el nivel de saneamiento ambiental sería un factor predisponente en la infección en ambos estudios. Por lo tanto, se sugiere que en estudios posteriores debe centrarse en el análisis de muestras ambientales con el fin de evaluar el nivel de contaminación de las localidades con VHE. De las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 51.1% (24 gestantes) presentan edades de 27 a 36 años, el 27.7% (13 gestantes) presentan edades entre 37 a 46 años y solo el 21.3% (10 gestantes) presentan edades entre 15 a 26 años (Tabla N°5), pudiéndose observar que no existe relación entre la edad de la gestante y la

condición del IgG VHE. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) presenta edad entre 15 a 26 años, el mismo resultado se observó en los grupos de edad de 27 años a 36 años y 37 a 46 años. Sin embargo, en comparación con el estudio de Abebe M. (2017), se encontró una asociación significativa entre la edad y los valores positivos altos anti HEV, los cuales demuestran las probabilidades de las mujeres embarazadas con edad entre 26-34 años estar infectados con VHE. La sinérgica asociación entre la edad y la seroprevalencia del VHE refleja probablemente la vida útil de exposición acumulativa al virus en ambos estudios. De las 47 gestantes (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 42,6% (20 gestantes) están en el periodo gestacional II, el 38,3% (18 gestantes) están en el periodo gestacional III y solo el 19.1% (9 gestantes) están en el periodo gestacional I. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7% (2 gestantes) están en el periodo gestacional II, el 33.3% (gestante) está en el periodo gestacional I y ninguna se encuentra en el periodo gestacional III. En comparación con el estudio de Abebe M. (2017), se encontró en el segundo trimestre una mayor prevalencia de la infección por VHE que en el primer y tercer trimestre la cual fue 35.8% (49 gestantes de 137 gestantes). En otro estudio realizado por Cong W. (2015), se encontró mayor prevalencia de la infección por VHE en el tercer trimestre de 18.7% (178 gestantes de 950 gestantes). Podemos afirmar la similitud con nuestro estudio, por lo tanto, las tasas de morbi-mortalidad por hepatitis E aumentan a medida que progresa la gestación que podría variar en el segundo o tercer trimestre. En relación con la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV en las gestantes con el contacto con animales (gatos, cerdos y perros) de las 47 de ellas (100%) que dieron positivo para IgG VHE, el 55.3% (26 gestantes) no tienen contacto con animales y el 44.7% (21 gestantes) si tienen contacto con animales. De las 3 gestantes (100%) que dieron positivo para IgM VHE, el 66.7% (2 gestantes) no presentan contacto con animales y el 33.3% (1 gestante) si presenta contacto con animales; y

comparando con el estudio de Cong W. (2015), se encontró una mayor prevalencia de 28.6% (58/203 gestantes) de contacto con gatos, mientras que en contacto con cerdos fue 26.5% (57/215 gestantes), además el contacto con perros fue de 19.4% (12/62 gestantes), por lo tanto, los datos obtenidos indican una mayor seroprevalencia HEV en las personas con contacto con gatos, cerdos y perros. En este estudio la importancia que cumple el contacto con cerdos por ser China la industria porcina más grande en el mundo, en cuanto a los gatos y perros a las medidas de higiene que se podrían establecer en el manejo y la alimentación de estos. Además, las mujeres embarazadas especialmente aquellas que viven en zonas rurales y marginales deben ser conscientes de los riesgos de transmisión que podrían adquirir. En la Tabla N° 6 se obtuvo de las 47 madres gestantes con seroprevalencia de anticuerpo positiva IgG VHE el 81.4% (39 madres gestantes) consume agua apta para el consumo humano 17.0% (8 madres gestantes) consume agua no apta para el consumo humano (agua de cisternas, pozo). De las 3 madres gestantes con seroprevalencia de anticuerpo positiva IgM VHE el 100% (3 madres gestantes) consume agua apta para el consumo humano y el 0% consume agua no apta para el consumo humano. En comparación con el estudio de Cong W. (2015), se estimó que la frecuencia del uso de grifo como fuente de agua fue del 16% (48/740); mientras que el de pozo y río fue de 16.8% (42/250). En los países en desarrollo, el VHE se transmite por vía fecal-oral, principalmente por el consumo de agua contaminada con eliminación de aguas residuales, especialmente en las zonas rurales donde se considera la falta de saneamiento e higiene. Sin embargo, el presente estudio mostró que el tipo de zona de residencia fuente (/ rural urbano / suburbano) el agua no fueron los principales causantes de la infección, a excepción de la presencia de suelo. Por lo tanto, la comparación entre los diferentes estudios será difícil debido a las diferencias en los niveles de saneamiento, la selección de la muestra y exposición de por vida, se sugiere realizar nuevos estudios que se centren en el

análisis de muestras ambientales con el fin de evaluar el nivel de contaminación de las comunidades con VHE.

Los resultados de este estudio son muy similares al que reporto Obiri-Yeboah D. en Ethiopia en el 2018, ya que él obtuvo una seroprevalencia de anti-HEV Ig G y anti-HEV IgM de 12,2% y 0.2% respectivamente.

La frecuencia obtenida de este estudio es casi análogo al que reporto Guangyu G. en China en el 2015, puesto que él obtuvo una seroprevalencia de anti-HEV Ig G y anti-HEV IgM de 11,1% (55/497) y 0.6% (3/497) respectivamente.

Los resultados obtenidos en este estudio son casi semejantes al que reporto Cong W. en China en el 2015, dado que él obtuvo una seroprevalencia de Ig G anti-HEV de 16.2%; Ig M anti-HEV, 2.6% en mujeres gestantes.

La frecuencia obtenida de este estudio es parecida al que proporciono Peláez D. en Colombia en el 2014, puesto que él obtuvo una seroprevalencia de 8.7% (30/344); de estas, 1.74%(6/344) presento IgM anti-HEV y 7.5% (26/344), IgG anti-HEV, asimismo podemos señalar de que los pacientes en este estudio son tantos varones como mujeres y no exclusivamente mujeres gestantes.

Los resultados obtenidos en este estudio son semejantes al que reporto Abebe M. en Ethiopia en el 2017, ya que obtuvo una seroprevalencia de Ig G anti-HEV de 31.6% (122/386); Ig M anti-HEV, 0.5% (2/386) en mujeres gestantes.

El propósito de este estudio fue generar conocimiento de cómo abordar a la infección por VHE durante el embarazo y determinar los agentes más prevalentes, así como las vías de transmisión y riesgo para el binomio madre-niño, con la finalidad de implementar estrategias de acción y manejo

(protocolos y guías clínicas para el tratamiento de esta infección por VHE) para desarrollarlas y disminuir la morbimortalidad de gestantes infectadas por VHE. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la alta seropositividad de infección VHE en gestantes tanto en el II y/o III trimestre de embarazo. Por lo tanto, se requiere de personal entrenado, insumos (vacunas), materiales y capacitación constante con el objetivo de combatir esta infección por VHE, así como también de estudios para demostrar la utilidad necesaria de implementación adecuada para realizar pruebas de tamizaje y pruebas confirmatorias para la detección precoz de esta infección VHE. Por ello teniendo este primer estudio en América con resultados que ameriten su revisión y evaluación hacemos un llamado a las entidades de salud y al gobierno local para el apoyo y aporte de bienes y divisas que permitan la adquisición de estos materiales e insumos para su realización y así disminuir las tasas de morbimortalidad en gestantes de esta infección por VHE. Se sugiere estudios futuros para comparar la prevalencia de otros tipos de virus de la hepatitis A, B Y C con la incidencia de VHE.

VI. CONCLUSIONES

1. La seroprevalencia para el virus de la hepatitis E en gestantes del Hospital San Bartolomé fue de 14,5% (45/316); de estas, 0,3% (1/316) presento IgM anti-HEV y 14,2% (45/316), IgG anti-HEV.
2. De acuerdo al lugar de procedencia, las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE y las 3 gestantes seropositivas para IgM VHE, el 83% y el 66.7% respectivamente tienen como procedencia Lima.
3. De acuerdo a la edad de las madres, las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE, el 51,11% (24 gestantes) presentan edades de 27 a 36 años, de igual modo, de las 3 seropositivas para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) presenta edad entre 15 a 26 años
4. Se determinó que de acuerdo a la edad gestacional de embarazo las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE, el 42.6 % (20 gestantes) están en el periodo gestacional II, el 38.3 % (18 gestantes) están en el periodo gestacional III. Asimismo, de las 3 gestantes seropositivas para IgM VHE, el 66.7 % (2 gestantes) están en el periodo gestacional II y el 33.3% (1 gestante) están el periodo gestacional I.
5. De acuerdo al contacto con animales, de las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE, el 44.7% (21 gestantes) si tienen contacto con animales. De las 3 gestantes seropositivas para IgM VHE, el 33.3% (1 gestante) si presenta contacto con animales.
6. De acuerdo con el consumo de agua, de las 47 gestantes seropositivas para IgG VHE el 81.4% (39 madres gestantes) consume agua apta para el consumo humano. De las 3 gestantes seropositivas para IgM VHE el 100% consume agua apta para el consume humano.

VII. RECOMENDACIONES

- 1.** Realizar capacitaciones a los profesionales de la salud en el tamizaje, detección, tratamiento y prevención de este patógeno en los distintos establecimientos de salud del país.
- 2.** Efectuar estudios complementarios a este estudio base con el propósito de estar mejor preparados ante cualquier ocurrencia con respecto a este patógeno
- 3.** Estimar un número determinado de reactivos con la finalidad de poder detectar este agente infeccioso.

VIII. REFERENCIAS

- Abebe, M., Ali, I., Ayele, S., Overbo, J., Aseffa, A., & Mihret, A. (2017). Seroprevalence and risk factors of Hepatitis E Virus infection among pregnant women in Addis Ababa, Ethiopia. *PLOS ONE*, *12*(6), e0180078. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180078>
- Cong, W., Sui, J.-C., Zhang, X.-Y., Qian, A.-D., Chen, J., & Zhu, X.-Q. (2014). Seroprevalence of hepatitis E virus among pregnant women and control subjects in China. *Journal of Medical Virology*, *87*(3), 446-450. <https://doi.org/10.1002/jmv.24058>
- Echevarría, J. M., González, J. E., Lewis Ximenez, L. L., Lopes dos Santos, D. R., Munné, M. S., Pinto, M. A., ... Rodríguez Lay, L. A. (2013). Hepatitis E Virus Infection in Latin America: A Review. *Medical Virology*. <https://doi.org/10.1002/jmv>
- Feng, Y., Feng, Y.-M., Wang, S., Xu, F., Zhang, X., Zhang, C., ... Yin, J. (2018). High seroprevalence of hepatitis E virus in the ethnic minority populations in Yunnan, China. *Plos One*, *13*(5), e0197577. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197577>
- Gu, G., Huang, H., Zhang, L., Bi, Y., Hu, Y., & Zhou, Y. H. (2015). Hepatitis E virus seroprevalence in pregnant women in Jiangsu, China, and postpartum evolution during six years. *BMC Infectious Diseases*, *15*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1308-y>
- Kamar, N., Dalton, H. R., Abravanel, F., & Izopet, J. (2014). Hepatitis E virus infection. *Clinical Microbiology Reviews*, *27*(1), 116–138. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-13>
- Lange, H., Overbo, J., Borgen, K., Dudman, S., Hoddevik, G., Urdahl, A. M., ... Sjurseth, S. K. (2017). Hepatitis e in Norway: Seroprevalence in humans and swine. *Epidemiology and Infection*, *145*(1), 181–186. <https://doi.org/10.1017/S0950268816002144>
- Obiri-Yeboah, D., Asante Awuku, Y., Adu, J., Pappoe, F., Obboh, E., Nsiah, P., Amoako-Sakyi,

- D., & Simpure, J. (2018b). Sero-prevalence and risk factors for hepatitis E virus infection among pregnant women in the Cape Coast Metropolis, Ghana. *PLOS ONE*, *13*(1), e0191685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191685>
- OMS. (2017). Hepatitis E. Retrieved from <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>
- Peláez, D., Hoyos, M., Rendón, J., Mantilla, C., Ospina, M., Cortés-Mancera, F., ... Navas, M. (2014). Infección por el virus de la hepatitis E en pacientes con diagnóstico clínico de hepatitis viral en Colombia. *Biomédica*, *34*(3), 354–365.
- Rodríguez-Frias, F., Jardi, R., & Buti, M. (2012). Hepatitis E: virología molecular, epidemiología y patogénesis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *30*(10), 624–634. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.01.014>
- Sánchez Partidas, D. A., & Gutiérrez García, C. del R. (2012). Virus de la hepatitis E. Características biológicas y epidemiológicas. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, *32*. <https://doi.org/10.4270/ruc.2010216>

IX. ANEXOS

ANEXO N°1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título: Seroprevalencia de anticuerpos anti-Virus de Hepatitis E en mujeres gestantes en hospital San Bartolomé

Investigador: Carlos Gerardo Ochoa Rojas.

¿Cuál es el propósito de este estudio?

El Servicio de Patología Clínica del Área de Laboratorio de Inmunología está realizando una investigación en mujeres gestantes con casos de Hepatitis E. Esta infección se manifiesta en forma de hepatitis aguda debido principalmente a la contaminación de los suministros de agua potable. Por lo que deseamos realizar el presente estudio con el fin de conocer la seroprevalencia del anticuerpo contra el Virus de la Hepatitis E, presente este grupo de riesgo para su prevención.

¿Quiénes pueden participar en este estudio?

Pueden participar en este estudio las gestantes que acudan a realizarse los controles de perfil prenatal con orden del médico ginecobstetra.

¿Cuál es el procedimiento?

Para realizar este estudio necesitamos tomarle a Ud. Una muestra de 5 ml. (una cucharadita) de sangre de su antebrazo. Las muestras obtenidas serán procesadas en el Laboratorio de Inmunología del hospital San Bartolomé-Lima. De encontrarse positivo se le comunicará directamente, manteniendo en todo momento la confidencialidad de esta información.

Se le entregara una encuesta para obtener datos importantes para el estudio de investigación (tales como edad, procedencia, antecedentes y otros).

¿Cuáles son los posibles riesgos de este estudio?

Este estudio de investigación no implica algún riesgo que comprometa su salud en lo absoluto.

¿Cuáles son los beneficios de este estudio?

Usted se beneficiará con los exámenes para saber si tiene la infección por el Virus de la Hepatitis E. La participación **no le costará (GRATUITO)** a Ud. Absolutamente nada.

¿Si tengo preguntas o inquietudes sobre este estudio de investigación, a quien puedo llamar?

Si usted tiene dudas puede hacer las preguntas que crea necesarias en este momento o al término de la lectura de este documento. Si usted tiene más preguntas sobre el estudio posteriormente puede contactarse, llamando al teléfono **922624890** o escribir al correo electrónico caor9410@gmail.com

Asimismo, si tiene alguna consulta puede comunicarse con el Lic. Tecnólogo Médico Manolo León Velásquez. Licenciado a cargo del servicio de Inmunología del Hospital San Bartolomé.

Su participación en este estudio de investigación es voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Si usted no participa del estudio, esto no afectara su tratamiento médico, o sus beneficios de salud en el hospital. Incluso si usted decidió participar en este estudio, puede retirarse del mismo en cualquier momento. Cualquier información que usted brinde durante el curso de este estudio será protegida.

DECLARACION DE LA PARTICIPANTE

Mi firma líneas abajo significa que:

- He leído este formato de consentimiento, o me lo han leído.
- Deseo participar en este estudio.
- Me han explicado los beneficios y riesgos por participar en este estudio.
- Todas mis preguntas han sido respondidas.
- Recibiré una copia de este formato de consentimiento luego de firmarlo.

Participante:

(Nombres y Apellidos de la participante)

Firma de la participante

DNI

Nota: En caso de menores de edad de 17 años los padres o apoderados deberán llenar sus datos y firmar.

Firma del Apoderado

DNI

ANEXO N°2

FICHA DE ENCUESTA

Ficha N° _____

Fecha de toma de muestra: _____

I. Información básica

1. Paciente: _____

2. Sexo: M () F ()

3. Edad: _____ años; altura: _____ cm; peso: _____ kg;

4. Estado civil: soltera () casada () viuda () divorciado () otro ()

5. Residencia actual: _____

6. Procedencia: _____

7. Profesión u ocupación: _____

8. Grado de instrucción: Primaria () Secundaria () Superior () Sin estudios ()

9. ¿Cuál es su ingreso mensual familiar?: _____ soles

II. Hábitos de vida y alimentación

1. ¿Usted consume agua potable? Si () No ()

2. El Consumo de agua es: Hervido () Sin hervir ()

3. Fuentes de captación del agua: Caño () Acequia () Pozo () Cisterna ()

4. Consume verduras crudas: Si () No ()

5. Animales que cría: Cerdo () Gato () Perro () No tengo ()

6. Servicios higiénicos: Baño y ducha () Baño () Silo () No cuento ()

7. Higiene de manos: Después de ir al baño () Antes y después de ir al baño () No
realizo higiene de manos frecuentemente () No realizo higiene de manos ()

Ficha de encuesta modificada de (Feng et al., 2018).

ANEXO N°3

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables	Definición conceptual	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Escala/Medición
V1 Virus de la Hepatitis E	Virus de la hepatitis E(VHE) se clasifica como un miembro del género Hepevirus en la familia Hepeviridae, que contiene un genoma de ARN monocatenario de aproximadamente 7.3 kb (Echevarría et al., 2013)	Será analizado por el programa spss versión 23, con la recolección de datos mediante una ficha de encuesta que consta de 13 preguntas.		Inmunoensayo ELISA HEV IgM	Cuantitativa nominal
				Inmunoensayo ELISA HEV IgG	Cuantitativa nominal
V2 Mujer Gestante	El embarazo es una condición de salud pública que involucra adolescentes y mujeres adultas (Luz et al., 2011)		Edad	Historia Clínica	Cuantitativa nominal
			Lugar de Procedencia		
			Edad Gestacional		
			Contacto con animales		
			Consumo de agua		

ELABORACION PROPIA

ANEXO N°4

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<p>¿De qué manera se relaciona el Virus de la Hepatitis E y mujeres gestantes del Hospital San Bartolomé en el 2018?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la seroprevalencia de anticuerpo anti-HEV en madres gestantes del Hospital San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>(1) Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con el lugar de procedencia de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p> <p>(2) Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con el distrito de procedencia de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p> <p>(3) Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con la edad de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p> <p>(4) Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con la edad gestacional de embarazo de las madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p> <p>(5) Determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV de acuerdo con el consumo de agua no tratada en madres gestantes del Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, durante los meses de diciembre 2018- enero del 2019.</p>	<p>No se plantea</p>

INTERPRETATIONS OF THE RESULTS

- **Negative Result** (A/C.O. <1): Samples giving a value less than the Cut-off value are negative for this assay, which indicates that no IgG to HEV have been detected with WANTAI HEV-IgG ELISA kit, therefore there are no positive results. (A/C.O. > 1): Samples giving a value which is equal to, or greater than the Cut-off value are considered initially reactive, which indicates that IgG to HEV have probably been detected using this HEV-IgG kit. Repeating diagnosis of HEV with another sensitive sample is recommended. Repetitive samples could be considered as HEV positive samples. (A/C.O. = 1): Samples with a value equal to the reference borderline (A/C.O. = 0.9-1.1). Samples with a value to Cut-off ratio between 0.9 and 1.1 are considered borderline and retesting of these specimens in duplicates is required to confirm the initial result.
- If after retesting of the initially reactive samples, both wells are negative results (A/C.O. <0.9), these samples should be considered as non-reactive. Positive or false positive results recorded as negative. As with many very sensitive ELISA assays, false positive results can occur due to the several reasons, most of which are connected with, but not limited to, inadequate washing step. For more information regarding Wantai ELISA Troubleshooting, please refer to "Wantai ELISA Troubleshooting Guide" or contact Beijing Wantai technical support for further assistance.
- If after retesting, one or both wells are positive results, the final result from this ELISA test should be recorded as repeatedly reactive. Repeatedly reactive specimens could be considered positive for IgG antibodies to HEV.
- After retesting in duplicates, samples with values close to the Cut-off value should be interpreted with caution and considered as "borderline zone sample", or "unrepeatable for the site of testing".
- If the results of the retesting are still positive, the final result should be recorded as "borderline zone sample".
- Following the above instructions, the results of the assay should be interpreted with other analytical systems in reference. Clinical diagnosis should not be established based on a single test result. It should integrate clinical and other laboratory data and findings.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Detection of HEV antibodies in samples from patients with 10 years of HEV post infection history.

Reagents	Samples	Pos. rate%	Cut-off		Positive samples OD		Avg pos S/C/O
			lowest	avg	highest	highest	
WT-IgG*	50	86	0.148	0.232	1.398	2.227	9.24
EA1**	90	36	0.512	0.514	1.018	2.415	1.98
EA2**	90	30	0.228	0.229	0.427	1.094	2.08

* Beijing Wantai BP HEV-IgG ELISA (WT-IgG)

** Commercially available HEV-IgG ELISA tests.

2. Detection of serial serum samples from acute HEV phase

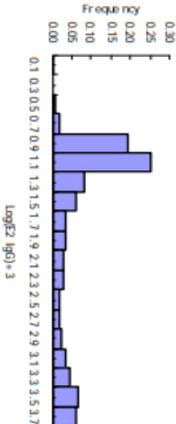
Since no golden standard for hepatitis E is available, the reference HEV-IgM assay served as control reagent. Parallel comparison testing was performed with acute hepatitis E samples (Testing Center 1), if the true positive status was defined as positive for any of the two tests used in the study, the sensitivity of Wantai HEV-IgG and the reference HEV-IgG was 97.96% and 91.84% respectively.

In the evaluation of 120 serial sera sample obtained from 30 hepatitis E (Testing Center 2). The sensitivity of Wantai HEV-IgG was 100%, while the sensitivity of the reference HEV-IgG were 93.33%.

The sensitivity of Wantai HEV-IgM was 99.08%. In the parallel testing of a total of 216 serum samples of acute hepatitis E, which was significantly higher than the reference HEV-IgG tests (92.66%).

Testing Center	Case Number	WT-IgG		EA1**	
		Positive Number	Positive Rate	Positive Number	Positive Rate
1	98	96	97.96%	90	91.84%
2	120	120	100.0%	112	93.33%
TOTAL	218	216	99.08%	202	92.66%

3. Testing 10687 blood samples from blood donors, the results showed in the Fig. 1 from the frequency distribution map, it existed two peaks of WT-IgG: the first peak was higher, of which the center was near the OD value 0.0736, representing the people who did not infect HEV. The OD logarithm of the first peak was similar to the log-normal distribution. Considering the first peak as the center, calculate the standard deviation of the data on the left. The corresponding OD values in accordance with 95%-ile and 99.9%-ile dependency were 0.088 and 0.122, respectively. The results showed that 96.98% of the samples were not infected with HEV. The OD value 0.122 represents the HEV infection population, and its logarithm behaved as negative skewed distribution. As a result, the specificity of WT-IgG was much higher, with false positive rate at 0.01%.



Sample	Reproducibility		Within Run		Between Run	
	No.	Mean S/C/O	C.V.%	Mean S/C/O	C.V.%	Mean S/C/O
Weak positive	10	4.89	9.1%	4.89	9.5%	9.5%
Moderate positive	10	11.21	7.0%	10.49	7.5%	7.5%
Strong positive 1	10	16.42	4.2%	16.07	4.4%	4.4%
Strong positive 2	10	13.31	3.8%	13.12	4.0%	4.0%

LIMITATIONS

- Positive results must be confirmed with another available method and interpreted in conjunction with the patient clinical information.
1. Non-repeatable positive result may occur due to the general biological and biochemical characteristics of ELISA method. The test is designed to achieve very high performance characteristics of high sensitivity and specificity.
 2. Any positive results must be interpreted in conjunction with patient clinical information and other laboratory testing.
 3. If after retesting of the initially reactive samples, the assay results are negative, these samples should be considered as non-repeatable (false positive) and interpreted as negative. As with many very sensitive ELISA assays, false positive results can occur due to the several reasons, most of which are related but not limited to inadequate washing step. For more information regarding Wantai ELISA Troubleshooting, please refer to Wantai's "ELISAs and Troubleshooting Guide" or contact Beijing Wantai technical support for further assistance.
 4. Common sources for mistakes: kits beyond the expiry date, bad washing procedures, contaminated reagents, incorrect assay procedure steps, insufficient aspiration during washing, failure to add samples or reagents, equipment, wrong volumes, sample nature and quality.
 5. The kit is intended ONLY for testing of individual serum or plasma samples. Do not use it for testing of cadaver samples, saliva, urine or other body fluids, or pooled (mixed) blood.
 6. This kit is a qualitative assay and the results cannot be used to measure antibodies concentrations.

REFERENCES

1. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. Science 1990; 247: 1335-1339
2. Clayton E, Innis B, Meyer K, et al. Detection of hepatitis E virus infections among domestic swine in the Kathmandu Valley of Nepal. Am J Trop Med Hyg 1995; 53:228-232
3. Meng J-L, Purcell RH, Haber PC, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. Proc Natl Acad Sci USA, 1991; 88: 9860-9865
4. Meng J-L, Purcell RH, Han B, et al. Genetic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. Lancet 2003; 362(9313):1371
5. Zheng Y-L, Zhang J, Xia NS. A debate about that hepatitis E is a zoonosis. Chinese J Zoonosis (in press)
6. Wang YC, Zhang HY, Xia NS, et al. Prevalence, Isolation, and Partial Sequence Analysis of Hepatitis E Virus From Domestic Animals in China. J Med Virol 2002; 67:516-521

SUMMARY OF THE MAJOR COMPONENTS OF THE KIT:

- Use this summary only as a reference and always follow the comprehensive method sheet when performing the assay. Note the components of individual kits are not for interchangeable.
1. Negative Control
 2. Positive Control
 3. Sample Dilution
 4. HRP-Conjugate
 5. Substrate
 6. Chromogen solution A
 7. Chromogen solution B
 8. Stop Solution
 9. SRO Solution

SUMMARY OF THE ASSAY PROCEDURE:

- Use this summary only as a reference and always follow the detailed method sheet when performing the assay.
- Add Sample Dilution**
- | | |
|---------------------|---------------------|
| Sample | 100ul |
| Dilution | 10ul |
| Substrate | 20minutes |
| Chromogen | 100ul |
| Add HRP Conjugate | 100ul |
| Incubate | 30minutes |
| Wash | 5times |
| Substrate | 5minutes |
| Chromogen | 5minutes |
| Stop the reaction | 50ul stop solution |
| Read the absorbance | 490nm or 450/630 nm |

EXAMPLE SCHEME OF CONTROL SAMPLES DISPENSING:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	S3
B	NSP	NSP
C	NSP	NSP
D	NSP	NSP
E	Pos.	Pos.
F	Pos.	Pos.
G	Str	Str
H	Str	Str

CE MARKING SYMBOLS:

- IVD** In Vitro diagnostic medical device
- CE** CE Marking - IVD0 887/ICE
- ICB/REP** EU Authorized Representative
- REF** Content sufficient for 10^3 tests
- LOT** Batch
- Use By** Instructions for Use
- Manufacturer**

For technical questions, please contact:
Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise CO., LTD.
 No. 31 Xueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
 Tel: (86)10 897 026-48, Fax: (86)10 897 028-48
 Email: wantai@wtb.com; wtb@wtb.com



Grand-bvba, Vandendrieste 11, B-2400 Maldebeek, Belgium
 wtbe@grand-bvba.com



