



**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURI”
CENTRO DE INVESTIGACIONES, DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA**

**Tesis de Terminación de la Especialidad para optar por el Título de
Especialista en 1er. Grado de Microbiología Médica**

**Título: Caracterización virológica, clínica y
epidemiológica de la infección por el virus de la
hepatitis A en Cuba, 2022-2023.**

Autor: Dra. Yeny Avila Hernández

La Habana

2024

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURI”
CENTRO DE INVESTIGACIONES, DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

**Tesis de Terminación de la Especialidad para optar por el Título de
Especialista en 1er. Grado de Microbiología Médica**

**Título: Caracterización virológica, clínica y
epidemiológica de la infección por el virus de la
hepatitis A en Cuba, 2022-2023.**

Autor: Dra. Yeny Avila Hernández

Tutora: Dra. Licel de los Ángeles Rodríguez Lay DrC.

La Habana, 2024

El triunfo depende de la preparación, y si no te preparas lo suficiente, no te sorprendas por el fracaso.

Confucio

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta tesis.

En primer lugar, agradezco a mi tutora de tesis Dra. Licel de los Ángeles Rodríguez Lay, por su apoyo y paciencia a lo largo de este proceso. Su conocimiento y consejos han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A mis profesores y compañeros de la Especialidad, gracias por sus enseñanzas, debates enriquecedores y por crear un ambiente de aprendizaje tan estimulante. Cada uno de ustedes ha contribuido de manera significativa a mi formación académica y personal.

A mi familia por su amor incondicional y apoyo constante. Gracias por creer en mí y por motivarme a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles. Su aliento ha sido mi mayor fortaleza.

A mis amigos, quienes han estado a mi lado en este camino, brindándome su apoyo emocional y motivación. Agradezco cada momento compartido y cada palabra de aliento, especialmente a mi gran amiga Dainet.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de alguna manera, contribuyeron a la realización de esta investigación. Sin su colaboración, este trabajo no habría sido posible.

Gracias a todos.

Dedicatoria

A mis pequeños Adrián y Bryan.

A mis padres.

RESUMEN

La infección por el virus de hepatitis A (VHA) es endemo-epidémica en Cuba. El objetivo de éste estudio fue caracterizar desde el punto de vista virológico, clínico y epidemiológico a la hepatitis A en el período 2022-2023, realizado por la alerta de casos de hepatitis aguda grave de etiología desconocida en niños. Se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, en el cual se colectaron 1106 muestras correspondientes a 674 pacientes. Se realizó detección de IgM anti-VHA e IgM anti-VHE y PCR-TR de VHE; además se introdujo la PCR-TR para detectar el ARN-VHA. El VHA fue el agente etiológico del 41.8% y el VHE del 6.6% de los casos, así como en los brotes estudiados (92.8%). Entre las características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los pacientes de la vigilancia intensiva de 2022, encontramos que la mediana de edad fue de 12 años (11-15), predominó el sexo masculino, ser residente en La Habana y presentar íctero, vómitos y coluria. En los brotes predominó la procedencia de La Habana y el patrón de transmisión comunitaria. El uso de técnicas moleculares permitió detectar el ARN del VHA, siendo la muestra de heces la que mostró mayor positividad (73.6%), seguido del suero (45.6%) y en último lugar la sangre total (10.5%). El íctero constituyó una variable con significación estadística ($p < 0.05$) y asociación positiva con la probabilidad de tener hepatitis A. La frecuencia elevada de infección por el VHA solo y en co-infección con el VHE, subraya la necesidad de fortalecer las medidas higiénico-epidemiológicas y las estrategias de prevención y control.

LISTADO DE ABREVIATURAS

Ácido ribonucleico	ARN
Alanina amino transferasas	ALAT
Aspartato amino transferasas	ASAT
Células asesinas naturales	NK (del inglés)
Center for Disease Control	CDC
Coeficiente de sedimentación	CS
Complejo mayor de histocompatibilidad	MHC (del inglés)
Efecto citopático	ECP
Ensayos inmunoenzimáticos	EIE
Enzyme Linked Immunosorbent Assay	ELISA
Falla hepática aguda	FHA
Fosfatasa alcalina	FA
Hepatitis viral aguda	HVA
Inmunomicroscopía electrónica	IME
Sitio de entrada interno del ribosoma	IRES (del inglés)
Línea celular de Riñón de mono <i>Rhesus</i> Fetal	FRhK4
Laboratorio Nacional de Referencia de Hepatitis Virales	LNRHV
Marco abierto de lectura	MAL
Microscopía electrónica	ME
Ministerio de Salud Pública	MINSAP
No codificante	NC
Organización Mundial de la Salud	OMS
Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real	PCR TR
Virus de la hepatitis A	VHA
Virus de la hepatitis B	VHB
Virus de la hepatitis C	VHC
Virus de la hepatitis E	VHE
World Health Organization	WHO

Contenido

I. INTRODUCCIÓN	2
I.2. OBJETIVOS	6
I.2.1 Objetivo General	6
I.2.2 Objetivos Específicos.....	6
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	8
II.1. Historia y origen del VHA	8
II.2. Clasificación taxonómica	8
II.3. Estructura del virión	9
II.4. Descripción del genoma	9
II.5. Propiedades físicas	11
II.6. Replicación viral	11
II.7. Patogénesis	13
II.8. Epidemiología	15
II.9. Genotipos del VHA	17
II.10. Cuadro Clínico	19
II.11. Complicaciones	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
III.1. Diseño del estudio:	27
III.2. Muestras	27
III.2.1. Universo:	27
III.2.2. Muestras.....	27
III.3. Condiciones de Bioseguridad	27
III.4. Métodos	28
III.4.1. Detección de IgM anti-VHA.....	28
III.4.2. Detección de IgM anti-VHE.	28
III.5. Extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos mediante PCR-TR en diferentes muestras clínicas	29
III.5.1 Extracción de ácidos nucleicos (ARN).....	29
III.5.2. Amplificación y detección del ARN-VHA.	29
III.5.3. PCR en Tiempo Real	29
III.5.4. Amplificación y detección del ARN-VHE.....	30
III.5.5. PCR en Tiempo Real	30
III.6. Análisis Estadístico:	31

III.7. Consideraciones Éticas:	33
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
IV.1. Determinar la frecuencia de infección por el VHA en individuos con diagnóstico de hepatitis viral aguda y su comparación con la hepatitis E en el período 2022-2023.	35
IV.2. Describir las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda en el periodo 2022-2023.	40
IV.3. Determinar la utilidad de los diferentes tipos de muestras para la detección del VHA mediante PCR-TR.	46
IV.4. Asociación entre la infección por el VHA y algunas variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas en niños y adolescentes con diagnóstico de HVA en 2022.	51
V. CONCLUSIONES	53
VI. RECOMENDACIONES	54

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La hepatitis es una enfermedad inflamatoria que afecta al hígado. Su causa puede ser infecciosa (viral, bacteriana), inmunitaria (por auto anticuerpos, hepatitis autoinmune) o tóxica (por ejemplo, por alcohol, venenos o fármacos). También se considera, que algunas hepatitis virales tienen su origen en la transmisión sexual.^{1,2}

El siglo XX develó el misterio sobre la causa de las hepatitis virales, identificándose cinco diferentes agentes causantes de tales virosis: virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis D (VHD) y virus de la hepatitis E (VHE). Estos virus son responsables de un millón de muertes anuales. El VHB, el VHC y el VHD provocan hepatitis aguda, crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular. A su vez, el VHA y el VHE causan enfermedad hepática auto limitada y, más reciente, han sido informados casos de hepatitis E crónica en trasplantados. El riesgo de hepatitis fulminante es elevado en mujeres embarazadas.³

El VHA fue descrito en 1973 por análisis de inmunomicroscopía electrónica (IME) a partir de muestras de suero y materia fecal de pacientes infectados con la cepa MS-1 identificada en Nueva York en 1964.⁴

Su distribución es mundial, se observa en países en vías de desarrollo, especialmente en las zonas de los trópicos, donde las deficientes condiciones higiénicas y sanitarias favorecen la difusión del virus. En estos países, la infección es endémica y el 100% de los niños se infectan antes de los 12 años y se calcula que existen entre 30 y 100 casos por 100 000 habitantes cada año. La diversidad genética, la estabilidad ambiental y las vías de transmisión le permiten diseminarse rápidamente sin mayor restricción.⁵

El hígado es el sitio primario de replicación, aunque está presente además, en bilis, heces y sangre durante la fase final del período de incubación y en la fase pre sintomático y preictérico de la enfermedad. La infección confiere inmunidad permanente. El VHA es capaz de sobrevivir en agua de mar o en heces secas, a temperatura ambiente durante 4 semanas y en ostras vivas durante 5 días.⁶

Dentro de las formas atípicas están hepatitis recurrente, colestasis prolongada o persistente, falla hepática fulminante o asociada a hepatitis autoinmune. El curso clínico típico de la infección aguda por el VHA es hacia una remisión espontánea en más del 90% de los casos, sin embargo, los cursos atípicos presentan una prevalencia que varía de <1-20%.⁷

El período de incubación oscila entre 15-50 días y se puede detectar el virus en las heces durante más de un mes. En países en vías de desarrollo, la mayoría de los niños contraen la enfermedad antes de los 10 años de edad, mientras que, en los países desarrollados, la incidencia cae significativamente, afectando a individuos de edades más avanzadas, lo que implica mayor gravedad de los casos. Momento en que el riesgo de diseminación es mayor.^{6,7,8} Se estima que solo el 10-30% de los casos cursan con síntomas y, en algún caso, la presentación clínica es de curso bifásico, apareciendo un aumento de transaminasas tras un período de entre 4 y 8 meses tras estar el paciente asintomático. Muy pocos pacientes (entre 0,015 a 0,5%) presentarán una hepatitis fulminante con fallo hepático agudo, siendo responsable de aproximadamente el 10% de los trasplantes en la infancia. No se ha descrito la hepatitis crónica por este virus y hay descritos casos de colecistitis alitiásica durante la infección por VHA.⁹

Está descrito que la hepatitis A presenta un ciclo natural cada 7-10 años en los países desarrollados y cada 5 años en los países en vías de desarrollados, siendo la acumulación de susceptibles la principal causa de estos ciclos, influido también por las deficientes conductas y prácticas de la prevención por la población y los problemas que puedan existir en las coberturas de agua potable, alcantarillado y tratamiento de las aguas servidas.^{10,11,12}

En Cuba la evolución de las Hepatitis desde 1970 ha mostrado una tendencia ascendente. Observándose igual tendencia en la Hepatitis A desde 1989, cuando se comienza a clasificar la entidad en sus diferentes tipos, aunque en los últimos cuatro años de la serie, exactamente desde 1999 se aprecia una leve disminución de la incidencia.¹³

Para el diagnóstico de hepatitis A, hay que tener en cuenta también la infección por el virus de la hepatitis E (VHE) ya que comparten las vías de transmisión, además, el cuadro clínico en ocasiones es indistinguible. Además, podría presentarse una coinfección por estos dos virus cuya enfermedad en ambos casos suele presentarse de manera asintomática o como hepatitis leve. Sin embargo, en individuos con enfermedad hepática crónica preexistente esta coinfección podría generar complicaciones graves y un aumento de la mortalidad debido a la insuficiencia hepática aguda.^{14,15} Sin embargo, a diferencia del VHA, la infección por VHE no confiere inmunidad de por vida. Esto da lugar tanto a casos esporádicos como a brotes periódicos, que se producen periódicamente cuando la seroprevalencia de IgG anti-HEV en la población cae por debajo de un umbral crítico para la inmunidad de rebaño.¹⁶

La hepatitis E está causada por uno de los bien reconocidos agentes virales hepatotropos, llamados de la A a la E. El primer reporte bien documentado de esta enfermedad ocurrió en 1978 - 1979 en Kashmir, India donde se reportaron 52 000 casos con 1700 muertes y retrospectivamente en la gran epidemia de Nueva Delhi, en el mismo país, donde ocurrió una gran epidemia de casi 30 000 casos de hepatitis en 1955 - 1956 después de la inundación del río Yamuna, que contaminó el agua potable de la ciudad. Más tarde, de 1976 - 1977 había 20 000 casos reportados en Mandalay, Myanmar con un 18% de mortalidad en mujeres embarazadas. En ninguno de estos brotes se encontraron marcadores serológicos específicos para las hepatitis A y B, por lo que un nuevo agente fue implicado en la etiología de las hepatitis virales, este fue llamado inicialmente hepatitis no A no B de transmisión entérica. El virus fue observado en heces mediante microscopía electrónica y posteriormente el virus fue aislado y secuenciado, así surgía el VHE y un nuevo camino a explorar, pasando de ser una enfermedad de países subdesarrollados limitados a Asia y África, a ser una entidad de más amplio rango de hospederos, distribución geográfica, modo de transmisión y presentación clínica.¹⁷

Lemos y col., 2000 informaron por primera vez sobre la incidencia de enfermedades relacionadas con el VHE en Cuba. Sus hallazgos sugirieron que

un número importante de los casos esporádicos de hepatitis viral en Cuba podrían deberse al VHE. ¹⁸

El presente estudio permitió un abordaje desde el punto de vista virológico, clínico y epidemiológico de la situación de la hepatitis A en el período 2022-2023, responder algunas interrogantes acerca del comportamiento de esta entidad en Cuba. Aportó además nuevos conocimientos científicos que sirvieron de base para la vigilancia genómica del mismo, lo cual contribuye a una mejor comprensión y control de la enfermedad.

I.2. OBJETIVOS

I.2.1 Objetivo General

Caracterizar desde el punto de vista virológico, clínico y epidemiológico la hepatitis A en el período 2022-2023 en Cuba.

I.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la frecuencia de la infección por el VHA en individuos con diagnóstico de hepatitis viral aguda y su comparación con la hepatitis E en el período 2022-2023.
- Describir las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda en el período 2022-2023.
- Determinar la utilidad de los diferentes tipos de muestras para la detección del VHA mediante PCR-TR.
- Definir la asociación entre la infección por el VHA y las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas en niños y adolescentes en el período Mayo-Noviembre 2022.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. Historia y origen del VHA

El virus de la hepatitis A (VHA) produce un cuadro infeccioso agudo generalmente autolimitado en el ser humano para el cual no existe tratamiento específico. Es una enfermedad que ha sido documentada desde el siglo XVII, especialmente durante la guerra; sin embargo, la etiología viral fue postulada en 1940 y confirmada en 1944 cuando se demostró que puede ser transmitida por la ingestión de un filtrado fecal libre de bacterias. Tiene un período de incubación de 14 a 15 días y afecta preferentemente a los niños en una forma anictérica y frecuentemente subclínica.^{19,20}

Es la forma más común de hepatitis viral aguda (HVA) y a pesar de que afecta aproximadamente a 10 millones de personas al año, su estudio se ha visto eclipsado en las últimas décadas en gran medida por un mayor interés en la hepatitis B y la hepatitis C. El VHA es un virus ARN no citopático, transmitido principalmente por la vía fecal-oral, por alimentos o agua contaminados y en ocasiones da lugar a brotes epidémicos.^{21, 22}

II.2. Clasificación taxonómica.

El VHA está clasificado como miembro del género *Hepatovirus* dentro de la familia *Picornaviridae*, incluidos varios otros virus médicos y veterinarios. Aunque comparte muchas características con otros miembros de la familia *Picornaviridae*, su secuencia parcial de nucleótidos y numerosas características únicas lo distinguen de otros picornavirus, lo que requiere que se clasifique en su género. Las cepas de VHA obtenidas de primates no humanos y las encontradas recientemente en murciélagos, erizos, musarañas y androdentes parecen compartir elementos antigénicos con el VHA humano y se encuentran entre los virus designados como hepatovirus.^{23, 24, 25,26} El VHA tiene un serotipo con seis genotipos según el examen de un fragmento de 168 nucleótidos de la región VP1-2A. Además, los genotipos IV-VI no pueden infectar a los humanos.²⁶ Los genotipos y subtipos tienden a mostrar diferentes distribuciones geográficas.²⁷

II.3. Estructura del virión.

Es un virus de 27 a 32 nm de diámetro, desnudo, sin envoltura lipídica cuya cápside se caracteriza por tener simetría icosaédrica, morfológicamente indistinguible de otros picornavirus. (Figura 1) ²⁸

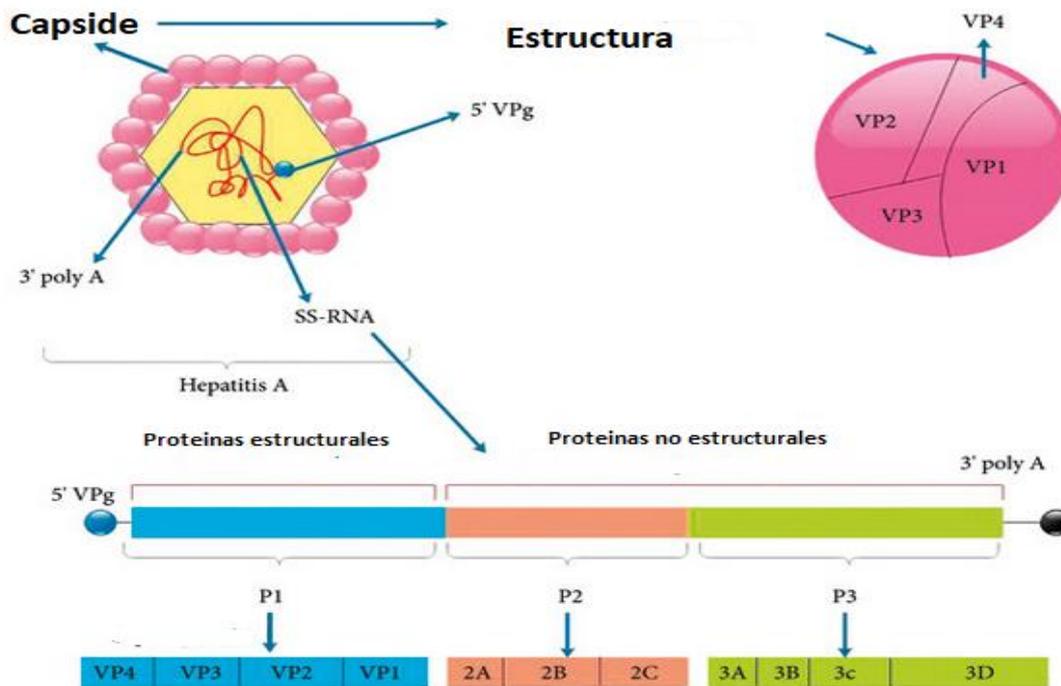


Figura 1. Estructura del VHA: P1 1A-VP4, 1B-VP2, 1C-VP3 y 1D-VP1 son componentes proteicos estructurales que forman el polipéptido de la cápsida. P2 se compone de tres polipéptidos no estructurales: 2A, 2B y 2C, todos necesarios para la replicación viral. P3 consta de cuatro proteínas no estructurales: 3A ancla el componente de replicación a las membranas celulares, 3B es una proteína que también se llama VPg. Al mismo tiempo, 3C es una cisteína proteasa que descompone los polipéptidos en proteínas y 3D es una ARN polimerasa que requiere ARN para funcionar.

Fuente. ²⁸

II.4. Descripción del genoma

El genoma del VHA está constituido por una cadena sencilla de ARN lineal de 7,5 kb en sentido positivo, flanqueada en sus extremos 5' y 3' por regiones no codificantes o NCR (por la sigla en inglés de non-coding regions); contiene un solo marco de lectura abierto (ORF, por su sigla en inglés *open reading*

frame) que codifica para una poliproteína de 2.227 aminoácidos.²⁹ La NCR 3', de aproximadamente 60 nucleótidos, se encuentra unida a una señal de poliadenilación, y la NCR 5', de aproximadamente 750 nucleótidos, contiene un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES, por su sigla en inglés de *internal ribosome entry site*) que direcciona el ribosoma hacia el codón de iniciación para la síntesis de la poliproteína.^{30,31,32} La poliproteína generada puede organizarse en tres regiones principales,^{22,33} a saber: P1 que codifica para las cuatro proteínas de cápside, VP1, VP2, VP3 y VP4. Y P2 y P3, que comprenden proteínas no estructurales con funciones bioquímicas que soportan la replicación viral, como la 2A que interviene en la morfogénesis de la cápside, la 2C con función helicasa, la 3C con función proteasa y la 3D como ARN polimerasa.^{22,34}

El virus se une al receptor celular HAVcr-1 (por su sigla en inglés *Hepatitis A virus cellular receptor 1*), una glicoproteína integral de membrana clase I caracterizada por dominios similares a los de mucinas e inmunoglobulinas.^{32, 35, 36,37} Sin embargo, se propone que otros receptores deben intervenir en el proceso de unión y entrada del virus a la célula puesto que HAVcr-1 está presente en otras poblaciones celulares además de los hepatocitos.^{36,37}

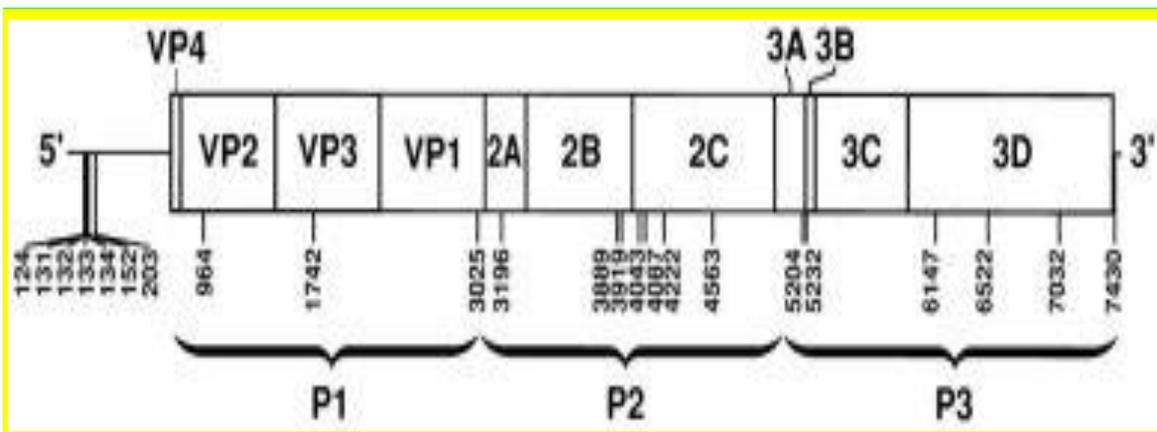


Figura 2. Diagrama del genoma del VHA.

Fuente:³⁸

II.5. Propiedades físicas

Las partículas del VHA son estables en el medio ambiente, permanecen de días a meses en suelos, fuentes de agua, sedimento marino y ostras.^{35, 39, 40,41}^{42,43} Son resistentes al pH en un rango de 3 a 10; se requiere un pH superior a 10 para inactivarlas. Sin embargo, a pH 1 pueden retener su infectividad por 8 horas a temperatura ambiente y a 38 °C por más de 90 minutos, a diferencia de otros picornavirus.^{32,44,45} También resiste temperaturas de refrigeración y congelación. Es relativamente resistente a temperaturas altas, pues retiene su infectividad a 60 °C por aproximadamente una hora.^{32,45} El VHA se inactiva en minutos de 98 °C a 100 °C y por autoclavado y radiación ultravioleta.^{32,44,45} La eficiencia de compuestos clorados como el hipoclorito de sodio para la inactivación del VHA es relativa teniendo en cuenta que en escenarios ambientales las partículas virales se asocian a la materia orgánica presente en el medio, lo que dificulta la inactivación.^{44,45,46,47}

II.6. Replicación viral

El VHA se replica en el hígado⁴⁸, penetra en las células hospedera al interactuar con las moléculas de la superficie celular, en particular el ácido siálico y los gangliósidos, y luego descubre y libera el ARN viral en el citoplasma. La poliproteína viral se sintetiza en distintas proteínas estructurales y no estructurales bajo la supervisión de un IRES. Luego, el VHA utiliza membranas celulares para construir estructuras similares a orgánulos en las que se replica el genoma viral. Cuando los genomas recién sintetizados se empaquetan, el VHA recién sintetizado deja las células en forma de viriones casi envueltos (Figura 3).⁴⁹ El VHA es un virus con un ciclo largo de replicación, que lo distinguen del resto de picornavirus de mamíferos. Las proteínas del VHA se producen mediante la traducción independiente bajo el control de un IRES. La replicación del genoma es lenta y no citopática, como en los picornavirus, y la transcripción se lleva a cabo presumiblemente mediante un cebador proteico uridilado.⁵⁰

Una vez liberado el ARN de sentido positivo, este es amplificado a través de un intermediario de cadena negativa. El proceso de replicación se lleva a cabo en dos fases: la primera involucra la copia de la cadena de ARN positiva en una cadena negativa y la segunda utiliza esta cadena negativa para la síntesis

posterior de ARN de cadena positiva. El ARN mensajero viral debe ser traducido de forma independiente, lo cual sucede por intermedio de un mecanismo interno de unión al ribosoma, que involucra la subunidad de 40S de este organelo. Las proteínas comienzan a aparecer en la célula infectada de acuerdo con su ubicación 5'-3' en el genoma y se produce como una gran poliproteína. Esta es procesada proteolíticamente, mientras se sigue formando, para originar un precursor de P1, P2 y P3. Esta última (P3) se autoprocresa para originar tres pequeñas proteínas que son: una proteinasa (3C), requerida para el procesamiento posterior del resto de las proteínas virales; la proteína 3AB, que origina la Vpg necesaria para el inicio de la síntesis del ARN viral y la polimerasa de ARN (3D).⁵¹

Finalmente, con el incremento de la concentración de proteínas y la de ARN+, estas moléculas son empaquetadas en el virión, conjuntamente con el proceso de ensamblaje de las subunidades proteicas. De esta forma queda conformada la progenie viral. La formación de la partícula infectiva tiene lugar por un proceso de maduración, en el cual la mayoría de la VPO es transformada a la forma madura de cuatro subunidades formadas por VP4, VP2, VP3 y VP1, lo cual es característico de todos los miembros de la familia Picornaviridae.⁵¹

Aunque la replicación del VHA parece encontrarse en el citoplasma de los hepatocitos, la proteína humana se encuentra principalmente en el núcleo y está vinculada con el metabolismo del ARN, la replicación y la traducción dependiente del IRES del VHA.⁵²

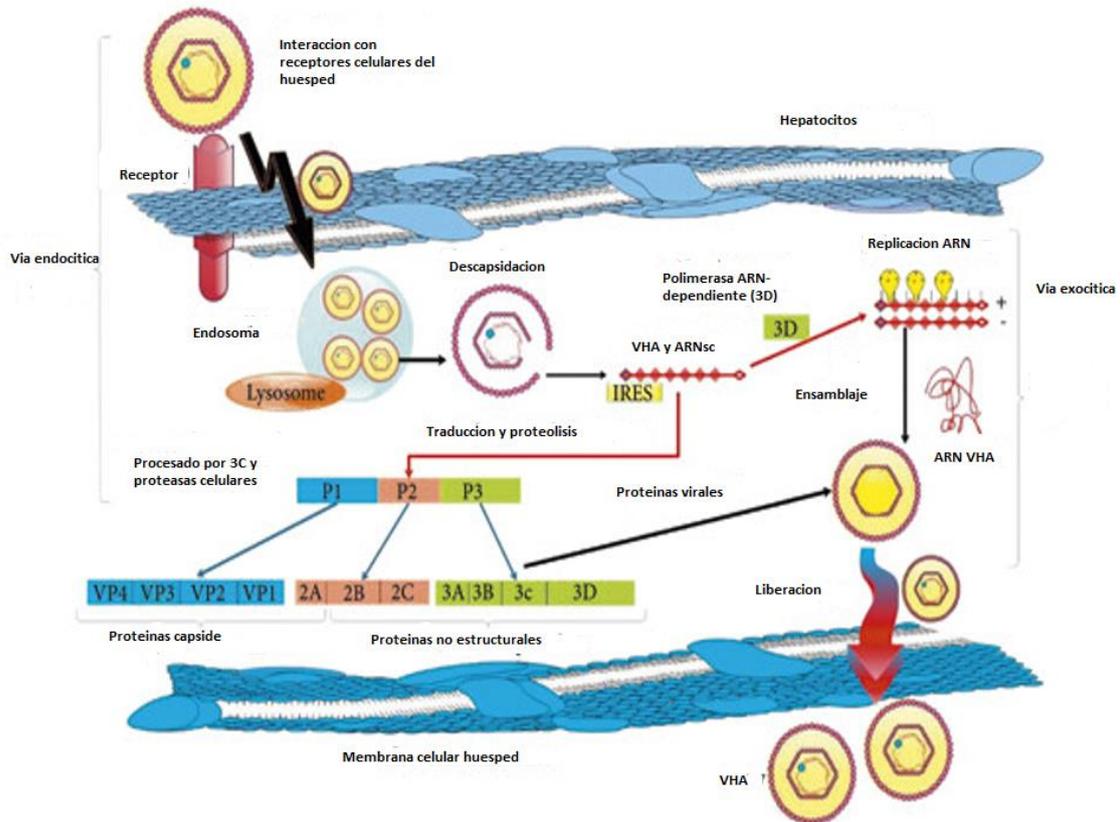


Figura 3. Ciclo de replicación del VHA.

Fuente. ²⁸

II.7. Patogénesis.

La infección natural con el VHA, usualmente sigue a la ingestión del virus por material contaminado con heces infectadas. La secuencia de eventos que comienza con la entrada vía tracto gastrointestinal (TGI), no ha sido completamente resuelta. Aunque el primer sitio de replicación es el hepatocito, la naturaleza del receptor celular del huésped que determina el tropismo no ha sido bien elucidada. Durante el período de incubación, la viremia ocurre al mismo tiempo que la eliminación fecal. Se piensa que el VHA alcanza el TGI por la bilis. La viremia termina después que se desarrolla la hepatitis, mientras que las heces se mantienen infecciosas por 1 ó 2 semanas más. Por transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (TR-RCP) se ha determinado que la viremia dura 30 días (rango 5-59 días).⁵³

Aunque se han detectado coproanticuerpos, estos no poseen actividad neutralizante. Sin embargo, se ha observado la formación de complejos

inmunes entre anticuerpos específicos IgA y VHA fecal. Esto puede explicar porque el VHA puede ser detectado por hibridación molecular aun después que el antígeno se hace negativo por inmunoensayo. Los pacientes con recaídas de hepatitis A pueden continuar excretando VHA detectable, incluso siendo su suero negativo a la IgM anti-VHA.⁵³

Se ha reportado que el VHA se une a la IgA anti-VHA en el intestino, y este complejo viaja al hígado por vía sanguínea, el hepatocito ingiere el complejo VHA-IgA anti-VHA a través de la asialoglicoproteína. En el caso de las recaídas, el hígado se reinfecta a través del mismo mecanismo.⁵⁴

Si existe un sitio de replicación extrahepática, este ha sido difícil de demostrar, en infecciones experimentales el antígeno o material genómico ha sido observado en bazo, riñones, amígdalas y saliva, pero ha sido inconsistentemente identificado en la mucosa intestinal, aunque datos más recientes indican que el virus se replica en la superficie apical de las células epiteliales de la porción distal del ileum.⁵⁴ La detección del VHA en amígdalas y saliva antes de la viremia sugiere que un evento replicativo temprano puede ocurrir en la orofaringe o en las glándulas salivales.⁵⁴

El VHA no es el responsable directo de los cambios citopatológicos observado en los hepatocitos, la enfermedad hepática parece resultar primariamente por mecanismos inmunes. Estudios "in vitro" han demostrado lisis de las células infectadas por el VHA mediado por células asesinas naturales (NK, por sus siglas en inglés) y linfocitos CD8+ restringido al sistema mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) clase I. No obstante, el efecto directo viral puede ocurrir.⁵⁵

La yuxtaposición de la hepatitis con la aparición de IgM anti-VHA, complejos inmunes y niveles reducidos de complemento sérico pueden ser coincidentes o relevantes a los cambios histopatológicos. Análisis de los complejos inmunes han revelado IgM e IgG, proteínas de la cápside y el componente C3d del complemento.⁵⁶ Los pacientes con hepatitis A parecen tener ausencia de anticuerpos citotóxicos dependientes del complemento, altos niveles de α -2 microglobulina, presencia de anticuerpos anti-músculo liso y presencia de

anticuerpos anti-actina, que parece ser expresión de la estimulación no específica de los linfocitos B. Niveles crecientes de interferón (IFN) han sido detectados en suero. ^{55,56}

II.8. Epidemiología

Se presenta tanto de forma esporádica como epidémica. A efectos prácticos, el mundo se puede dividir en zonas con endemidad muy baja, baja, intermedia y alta, aunque la endemidad puede variar de una región a otra dentro de un país.

Los países del norte de Europa se pueden considerar de endemia muy baja, produciéndose la mayoría de los casos en grupos de riesgo definidos tales como los viajeros que vuelven de zonas endémicas y los consumidores de drogas por vía inyectada. En las zonas de baja endemidad (Europa Occidental, América del Norte y Australia), la hepatitis A se manifiesta de manera habitual en forma de casos aislados en los grupos de alto riesgo o de brotes que afectan a un pequeño número de personas. En los países con endemidad intermedia (Europa Oriental) la mayor parte de los casos se observan hacia el final de la infancia y el comienzo de la edad adulta, en estas zonas la hepatitis A representa una carga importante desde el punto de vista médico y económico. En las zonas de alta endemidad (algunas zonas de África, Asia, América Central y Sudamérica) la mayor parte de los habitantes contraen la infección de manera asintomática durante la infancia y son raros los casos clínicos de hepatitis A. ^{57,58}

Se estima que hay 1,5 millones de casos de hepatitis A aguda anual a nivel mundial, o dependiendo de la endemidad local, alrededor de 150/100 000, la mayoría de los cuales ocurren en áreas con mala higiene y una mala infraestructura sanitaria. La prevalencia y la incidencia de la infección por VHA están relacionadas a las condiciones socioeconómicas. La infección predomina en la infancia y con frecuencia más de 90 % de los niños de los países en desarrollo se infectan con el VHA. ^{59,60}

Es la forma más común de hepatitis viral aguda y a pesar que afecta más de un millón de personas al año, su estudio se ha visto eclipsado en las últimas décadas en gran medida por el interés en la hepatitis B y la hepatitis C. ⁶⁰

La prevalencia del anticuerpo contra la hepatitis A (anti-VHA) se correlaciona de forma inversa con el estatus socioeconómico y el estándar de higiene en una región. En áreas endémicas, su prevalencia es casi universal a los cinco años de edad, mientras que en los países industrializados su prevalencia global es inferior al 5 %. ⁵⁹

Entre junio de 2016 y mayo de 2017 se detectó un extenso brote de hepatitis A en 17 países europeos contabilizándose 4 600 casos, confirmándose microbiológicamente el 30,4 %. ⁵⁹

En un brote en Berlín en el 2017, se documentaron 38 casos positivos por hepatitis A de los cuales 37 eran hombres y uno mujer. La orientación sexual era conocida en 32 de los casos, de estos 30 se identificaron como hombres que tienen sexo con hombres, uno como heterosexual y la mujer como homosexual. ⁶¹

Durante el 2017 se reportaron 1 521 informes de infecciones por hepatitis A aguda de California, Kentucky, Michigan y Utah, en los Estados Unidos; donde la mayoría de las infecciones fueron entre personas que reportaron uso de drogas inyectables o no inyectables o personas sin hogar. Se evidenció transmisión directa del VHA de persona a persona, a diferencia de otros brotes recientes y grandes del VHA atribuidos al consumo de productos alimenticios comerciales contaminados. Los brotes con transmisión directa del VHA entre personas con uso de drogas o falta de vivienda indicaron un cambio en la epidemiología de la infección por VHA en los Estados Unidos. ⁶²

La hepatitis A en Colombia registró un aumento del 57,7 % en la incidencia, en el año 2018. ⁵⁹

Durante los últimos 10 años (2010-2019), se reportó en promedio, 13 534 casos anuales de hepatitis A en México; si bien desde entre 2015 y 2017 se observó una tendencia al descenso, tras lo cual se observó un leve repunte

tanto en el número de casos como en la tasa de incidencia de esta enfermedad. Durante 2019 se registraron 10 079 casos de hepatitis A en México, con una tasa de incidencia nacional de 7,96 casos por cada 100 000 habitantes.⁶³

En Cuba la enfermedad es frecuente y cada cinco años hace brotes cíclicos. Esta enfermedad aprovecha los elementos climatológicos adversos (abundantes lluvias o la sequía) para su propagación, hay que recordar que Cuba es uno de los países que en los últimos años se ha visto afectado por estas variaciones climáticas. También suelen aparecer brotes de magnitud pequeña en escuelas, familias o comunidades.⁶⁴

II.9. Genotipos del VHA

Para estudiar la diversidad genética del VHA, se utilizó en un principio el método de clasificación genética empleado por Rico-Hesse y colaboradores para explorar la distribución geográfica del poliovirus, en el que las cepas se agruparon comparando la región VP1-2^a.^{19,65,66} En 1992 se analizaron 152 cepas de VHA recuperadas de muestras de suero, heces y tejido hepático provenientes de humanos y simios, recolectadas alrededor del mundo.¹⁹ Los resultados demostraron la existencia de siete genotipos (I-VII) y cuatro subgenotipos (IA, IB, IIIA, IIIB). En el estudio se encontró que la variabilidad nucleotídica entre genotipos fue de alrededor del 15%, y entre subgenotipos, del 7,5%.¹⁹ En el 2002, Costa-Mattioli y col., con base en la secuencia completa de 900 nucleótidos de la proteína VP1, reportaron una nueva clasificación, de seis genotipos (I-VI) y seis subgenotipos (IA, IB, IIA, IIB, IIIA y IIIB), con un porcentaje de variabilidad nucleotídica de aproximadamente 15% entre los genotipos y 7% entre los subgenotipos.^{19,65,67,68} El antiguo genotipo VII representado por la cepa SFL88 aislada en Sierra Leona, se reclasificó como genotipo II, subgenotipo B.⁶⁹ Los genotipos I, II y III han sido aislados de muestras de origen humano.^{44, 65,70} Los genotipos IV, V y VI, representados cada uno por una cepa única, han sido aislados de simios de los géneros *Aotus*, *Macaca*, *Cercopithecus* y *Saguinus*.^{19, 67, 71,72} Cabe aclarar que el genotipo III es el único grupo que incluye aislamientos de humanos y de primates. Los aislamientos de simios pueden diferenciarse por un polimorfismo característico

en la unión VP3-VP1 que no poseen las cepas aisladas de humanos.^{73,74,75,76} Se ha estudiado la diversidad genética del VHA utilizando principalmente tres regiones del genoma: la C-terminal de VP3, la N-terminal de VP1 y la VP1-2^a,^{65,67,76} aunque también se han usado las regiones VP1-2B (58), VP3-2B y VP1.⁷⁷ En 2008, Joshi y col., comprobaron mediante diferentes métodos filogenéticos que estas regiones tienen del 80% al 85% de identidad nucleotídica, por lo que no son candidatas para genotipificar y subgenotipificar.⁶⁸ Por el contrario, se ha denominado la “prueba estándar de oro” al análisis de la región VP1; el porcentaje de identidad nucleotídica entre genotipos de esta región es del 75% al 85% lo que, respaldado por su longitud, la hace una región óptima para estudios filogenéticos y sustenta la nueva clasificación de VHA reportada en 2002 por Costa-Mattioli y colaboradores.⁷⁷

El VHA difiere de otros integrantes de la familia Picornaviridae en el tamaño de las proteínas que codifica y en las secuencias de nucleótidos y aminoácidos.²⁹ Se ha descrito un solo serotipo del VHA caracterizado por un dominio antigénico único constituido por epítopes conformacionales que corresponden a los residuos 102, 171 y 176 de VP1 y a los residuos 70 y 74 de VP3; estos epítopes se encuentran muy cerca de la superficie de la partícula viral. Se ha propuesto un segundo sitio de neutralización, conformado por los residuos 11 a 25 de la VP1 (TVSTEQNVDPQVGI), 96 a 107 de la VP2 (GLLRHYHTYARFG) y 110 a 121 de la VP3 (FWRGDLVDFQV),^{15,44,78} aunque este sitio se caracteriza por inducir una respuesta neutralizante débil.²²

Aunque la organización del genoma del VHA y algunas de sus características fisicoquímicas se asemejan a las de otros picornavirus, se ha evidenciado que diverge significativamente de otros miembros de la familia *Picornaviridae*. En comparación con otros virus ARN, el VHA no acumula cambios genéticos con alta frecuencia; en efecto, su tasa de mutación es de alrededor de 10⁻⁴ a 10⁻⁵ sustituciones por base/ciclo de replicación contrario al caso de otros picornavirus como los poliovirus, cuya tasa de mutación es de 2 x 10⁻³ sustituciones por base/ciclo de replicación, es decir, que del 10% al 20% de los genomas virales mutan por ciclo de replicación.^{44,65,79}

II.10. Cuadro Clínico

Los síntomas relacionados con las hepatitis virales agudas son variables e inespecíficos. Por lo anterior, no es posible distinguir por clínica una forma de hepatitis viral aguda de otra. Su curso clínico varía de forma amplia desde una fase asintomática manifestada solo por elevación de las aminotransferasas hasta hepatitis fulminante con ictericia franca y coma hepático. Existe una fase prodrómica que dura entre un día y dos semanas durante la cual solo hay síntomas constitucionales inespecíficos. Durante esta el síntoma más común reportado es la pérdida de apetito. Fatiga y debilidad son síntomas comunes reportados en un 90 % de los pacientes y pueden ser lo suficientemente graves como para limitarlos a la cama. ⁸⁰

Antes del inicio de la ictericia, de dos tercios a tres cuartos de los pacientes se quejan de fiebre baja y síntomas parecidos a la gripe. La diarrea no es una característica común de la hepatitis aguda y ocurre en menos del 25 % de los casos de infección por VHA. La fase prodrómica es seguida por la fase ictericia. El inicio de la ictericia suele coincidir con el pico de ALT en suero. ⁸⁰

La duración de la ictericia es variable, desde cuatro días a varios meses, pero tiene un promedio de dos a tres semanas. Durante la fase de convalecencia, la mayoría de los síntomas resuelven, sin embargo, la fatiga puede persistir hasta dos y 6 meses. ⁸⁰

Estudios como el de la Vega y Lledín, manifiestan que el comienzo se caracteriza por un cuadro de: anorexia, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre, seguido de coluria, hipocolia e ictericia, dolor en hipocondrio derecho con hepatomegalia y, en ocasiones, esplenomegalia y adenopatías asociadas. A veces, pueden presentarse manifestaciones extrahepáticas, como artritis y vasculitis. ⁸¹

La ictericia persiste por lo general alrededor de dos semanas y la normalización de los parámetros analíticos puede necesitar hasta varios meses. Entre las manifestaciones atípicas se encuentran: colestasis prolongada; hepatitis fulminante: es una complicación rara, con una incidencia alrededor de 0,015-0,5 %; recaída: se caracteriza por un patrón bifásico, con repunte de la cifra de

transaminasas, se produce hasta en un 25 % de los casos sintomáticos, al tener una evolución favorable; otras: anemia hemolítica autoinmune, anemia aplásica, artritis reactiva, pancreatitis aguda, colecistitis acalculosa, síndrome de Guillain Barré, glomerulonefritis mesangio proliferativa y fallo renal agudo, derrame pleural y ascitis.⁸²

El hallazgo más característico de laboratorio es la elevación en los niveles séricos de aminotransferasas. Los niveles de ALT son más específicos para la necrosis de hepatocitos y por lo general son más altos que los niveles de AST. Durante una hepatitis aguda, los niveles van desde 10 hasta 20 veces el límite superior de lo normal y el pico correlaciona con el inicio de la ictericia. El nivel de elevación de ALT o AST se correlaciona con el grado de destrucción de los hepatocitos, pero no con el resultado clínico final. Para el médico general, los puntos principales son la detección y los tratamientos disponibles, por lo que debe conocer los factores de riesgo y los marcadores seroviológicos de infección, las comorbilidades hepáticas (sobre todo el consumo excesivo de alcohol y el síndrome metabólico) para su control higiénico-dietético y, por último, los tratamientos para optimizar la información y colaborar en el manejo especializado.^{83,84}

El curso clínico usual o típico de la infección aguda por el virus de hepatitis A es hacia una remisión espontánea hasta en más del 90 % de los casos, sin embargo, existen cursos atípicos con una prevalencia que varía de 1 % a 20 %, según la manifestación (colestasis prolongada, hepatitis recurrente y hepatitis fulminante).⁸⁴

Se ha descrito que la infección por el virus produce seroconversión asintomática en 75 % de los niños menores de seis años de edad que adquieren la infección, logrando así inmunidad permanente contra este virus. Esta infección asintomática va disminuyendo en individuos mayores y llega a ser sintomática en alrededor de 70 % a 80 % de los adultos.⁸²

El diagnóstico de certeza se realiza mediante las pruebas serológicas y técnicas de biología molecular para la identificación del virus. A veces es

necesaria la realización de una biopsia hepática para determinar el grado de lesión en dicho órgano.⁸⁵

Para el diagnóstico de la hepatitis A aguda, se utilizan pruebas de inmunoensayo para detectar anticuerpos IgM anti-VHA en el suero (hasta seis meses después del inicio de los síntomas). La búsqueda de anticuerpos IgG anti-VHA, ya sea mediante pruebas anti-VHA IgG o anti-VHA total (IgM e IgG), ayuda en la identificación de individuos no inmunizados o previamente infectados. Estas pruebas deben solicitarse siempre a personas expuestas a situaciones de riesgo de esta infección. La presencia de anticuerpos IgG anti-VHA indica una inmunidad duradera.⁸¹ Desde 1995, la hepatitis A es una enfermedad prevenible con la vacuna específica, cuya estrategia de aplicación ha resultado costo-efectiva. Existen dos tipos de vacuna: a virus vivo atenuado y virus inactivado. Estas últimas han demostrado ser más inmunogénicas, seguras y mejor toleradas.⁸⁵

Se dispone de vacunas frente a la hepatitis A, que se preparan a partir de cepas del virus adaptadas para los cultivos celulares e inactivados con formaldehído. También existe un preparado de vacuna combinada hepatitis A y hepatitis B. Todas las vacunas de hepatitis A son altamente inmunógenas, entre un 94-100 % de las personas vacunadas desarrollan anticuerpos un mes después de la primera dosis; todas las personas presentan anticuerpos después de la segunda dosis.^{85,86}

Se recomienda la vacunación a los siguientes grupos de riesgo: infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH); tratamiento inmunosupresor en el caso de terapias con efecto hepatotóxico; trasplante de órgano sólido: si el trasplante es hepático o hay riesgo de hepatotoxicidad farmacológica; personas con patología hematológica o hemofílica, hepatopatías crónicas, incluyendo personas con alcoholismo crónico. Insuficiencia renal estadio cuatro y cinco; receptores crónicos de hemoderivados; viajeros a países de alta endemia; hijos e hijas de padre o madre de país endémico; familiares y cuidadores de niños o niñas adoptados procedentes de países endémicos y que vayan a estar en contacto dentro de los 60 días posteriores a su llegada al país de adopción; personas usuarias de drogas inyectables; hombres que tienen sexo con

hombres; personas en situación de prostitución; personal de centros infantiles que trabajan en contacto con niños y niñas que necesitan pañales; personal expuesto a aguas residuales; servicios públicos esenciales que se desplacen a trabajar a zonas de alta o moderada endemia; y personal que trabaje de forma específica con el VHA.⁸⁷

Si bien las vacunas anti hepatitis A son seguras y efectivas, el alto costo del esquema propuesto con dos dosis puede ser la causa de su falta de implementación universal en los diferentes países.⁸⁷

Considerando la elevada respuesta inmunológica luego de la primera dosis post-vacuna anti VHA y la duración sostenida de anticuerpos protectores, la utilización de un esquema con dosis única podría ser una estrategia efectiva y aplicable en países en desarrollo con tasas de endemidad intermedia o alta.⁸⁷

La prevención incluye medidas generales como mejoras en las condiciones socio-sanitarias de la población (potabilización del agua y saneamiento). El virus se inactiva con cloro, con formol y a altas temperaturas.⁸⁸ No está disponible un tratamiento antiviral específico para la hepatitis A, solo medicamentos para alivio de los síntomas, los que por lo general desaparecen cerca de los dos meses.⁸¹

Aproximadamente 95% de los individuos infectados por el VHE presentan un cuadro asintomático,⁸⁸ y el porcentaje restante desarrolla una infección aguda o crónica. La infección aguda generalmente es de curso autolimitado y dura aproximadamente ocho semanas, caracterizada por fiebre, dolor abdominal, anorexia, náuseas, emesis y, en algunos casos, ictericia y hepatomegalia, haciéndola indistinguible de otras enfermedades hepáticas agudas.⁸⁹ En países en vía de desarrollo afecta principalmente a adultos jóvenes entre 15 y 30 años y en países desarrollados a adultos de edad media o > 55 años. La tasa de mortalidad oscila entre 0,5 y 4,0%.⁵¹ Se han descrito complicaciones extra hepáticas luego de una infección aguda entre los que se destacan trastornos neurológicos, principalmente amiotrofia neurálgica y síndrome de Guillain-Barré, pancreatitis aguda, glomerulonefritis, crioglobulinemia, trombocitopenia intensa y anemia hemolítica, causados probablemente por la replicación del

virus en esos tejidos, aunque los mecanismos que conducen al desarrollo de esas manifestaciones no están completamente dilucidados.⁹⁰

En la actualidad no existen pruebas para el diagnóstico clínico del VHE avaladas por la FDA (del inglés Food and Drug Administration); sin embargo, en investigación para la identificación del virus se utilizan pruebas que incluyen la detección de anticuerpos específicos IgG e IgM antiVHE. La presencia de anticuerpos IgM anti-VHE en suero es considerada un marcador importante para el diagnóstico de infección aguda por este virus. Adicionalmente, se utilizan pruebas moleculares que amplifican secuencias específicas del ARN viral.⁹¹ La variabilidad y bajo rendimiento en términos de sensibilidad y especificidad de las pruebas inicialmente usadas explican en parte, la diferencia en las frecuencias de anticuerpos anti-VHE reportadas en diferentes poblaciones. En la actualidad, la estandarización de nuevas técnicas y modificaciones en las mismas que mejoran el rendimiento de las ya existentes, evidencian una alta calidad en comparación con las pruebas anteriores.⁹¹ La amplificación de secuencias específicas del ARN del VHE por medio de técnicas moleculares no se realiza en todas las poblaciones de estudio y pocos laboratorios han estandarizado una técnica de RT-PCR para este virus. El diagnóstico molecular es de gran importancia en individuos inmunocomprometidos debido a que los anticuerpos anti-VHE en ellos a menudo son indetectables, por lo cual, la detección del ARN viral constituye una herramienta diagnóstica muy importante de infección aguda o crónica en esta población, así como en casos crónicos y/o con otras enfermedades hepáticas, incluyendo los receptores de trasplantes de hígado.⁹²

El tratamiento de la HVA es en gran parte de soporte y dirigido a asegurar una nutrición e hidratación adecuadas y a monitorizar a los pacientes con el fin de evitar el desarrollo de hepatitis fulminante. El tratamiento farmacológico rara vez está indicado para la hepatitis viral aguda A porque hasta el 99 % de los pacientes se recuperan sin secuelas. La mayoría de los pacientes pueden tratarse de forma extrahospitalaria, mientras puedan mantener una hidratación e ingesta de calorías adecuada. La antigua indicación de reposo en cama ya no se recomienda a menos que el paciente experimente fatiga grave. Ninguna

medida dietética específica o suplemento ha demostrado ser eficaz. La proteína debe restringirse sólo en pacientes con signos clínicos de encefalopatía hepática. Se debe evitar el alcohol, las drogas hepatotóxicas y el uso de medicamentos que sea imprescindibles.

Deben de evitarse aquellas drogas que son metabolizadas por el hígado, como las benzodiazepinas, o bien reducir su dosis si son muy necesarias.^{93,94} Los procedimientos de vigilancia y control de la hepatitis A deben incluir:

- a) El proporcionar agua potable y dispositivos adecuados para el tratamiento de los residuos humanos;
- b) la investigación de los fondos marinos donde se cultivan crustáceos;
- c) el control de la incidencia de la enfermedad;
- d) la determinación de la causa de la infección;
- e) la identificación de los contactos del caso índice para la profilaxis postexposición;
- f) la detección de los brotes epidémicos, y g) la contención de la propagación.⁸⁴

En mayo de 2016, la Asamblea Mundial de la Salud aprobó la primera Estrategia Mundial del Sector de la Salud Contra las Hepatitis Víricas, 2016-2021, en la que se destaca el papel fundamental de la cobertura sanitaria universal y cuyas metas están alineadas con las de los Objetivos de Desarrollo Sostenible. El objetivo último de la estrategia es eliminar las hepatitis víricas como problema de salud pública.

Con ese fin fija como metas mundiales para 2030 reducir las nuevas infecciones por virus de la hepatitis en un 90 % y la mortalidad por las enfermedades que causan en un 65 % y define las medidas que han de adoptar los países y la Secretaría de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para alcanzar estas metas.⁸⁷

Para ayudar a los países a avanzar hacia el logro de las metas mundiales de la Agenda 2030 de Desarrollo Sostenible referidas a las hepatitis la OMS trabaja

en las esferas siguientes: sensibilización, promoción de alianzas y movilización de recursos; formulación de políticas de base científica y compilación de datos para la acción; incremento de las equidades en materia de salud dentro de la respuesta a las hepatitis; prevención de la transmisión; y ampliación de los servicios de detección, asistencia y tratamiento.⁹⁸ Desde el año 2011 la OMS,⁹³ organiza, junto con los gobiernos de los países, la sociedad civil y sus asociados, campañas anuales con motivo del Día Mundial contra la Hepatitis para aumentar la concienciación y los conocimientos acerca de las hepatitis víricas. Se trata de una de las nueve campañas sanitarias emblemáticas de la Organización. El Día Mundial contra la Hepatitis se celebra el 28 de julio por ser el día del nacimiento del Dr. Baruch Blumberg, el científico laureado con el Premio Nobel que descubrió el virus de la hepatitis B e inventó una prueba diagnóstica y la vacuna para contrarrestarlo.⁸⁷

II.11. Complicaciones

La complicación más temida es la hepatitis fulminante, caracterizada por una rápida progresión a insuficiencia hepática asociando encefalopatía. Si bien solo el 1% –2% de todos los casos de hepatitis virales agudas se complican con hepatitis fulminante, el 75% de los casos de hepatitis fulminante son causados por hepatitis virales. La hepatitis fulminante ha sido reportada con todos los virus hepatotróficos. Esta tiene una tasa de mortalidad extremadamente alta sin embargo la supervivencia ha aumentado con las mejoras de las unidades de cuidados intensivos y con la disponibilidad del trasplante hepático. Entre los factores de riesgo para la hepatitis A fulminante se incluyen edad avanzada al momento de la infección, el riesgo de hepatitis A fulminante con la hepatitis C crónica subyacente se ha encontrado en algunos estudios, pero no en otros.⁹⁵

CAPÍTULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Diseño del estudio: Se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal con componente analítico, en el cual se analizó el comportamiento de la hepatitis A y su comparación con la hepatitis E en el período 2022-2023.

III.2. Muestras

III.2.1. Universo: Todas las muestras que se recibieron en el Laboratorio Nacional de Referencia de Hepatitis Virales (LNRHV) en el período 2022-2023 para realizar detección de IgM-VHA o IgM-VHE procedentes de casos clínicos de hepatitis viral aguda (HVA) o de brotes epidémicos.

III.2.2. Muestras: Se estudiaron 1106 muestras correspondientes a 674 pacientes recibidos en los años 2022-2023. De ellas, 281 muestras (264 de suero y 17 de heces) de 264 pacientes recibidos por la vigilancia normal del año 2022; 622 muestras (179 de suero, 198 de heces/hisopado rectal y 53 de sangre total) de 207 pacientes procedentes de la vigilancia intensiva a causa de la alerta de la hepatitis aguda grave en niños en el periodo mayo-noviembre de 2022 y 203 muestras de suero del mismo número de pacientes de la vigilancia del 2023. Según el antecedente clínico-epidemiológico, se incluyeron 14 brotes de HVA, 10 ocurridos en 2022 y 4 en 2023.

III.3. Condiciones de Bioseguridad

Las muestras para el diagnóstico y la vigilancia de la hepatitis A se procesaron en laboratorio Clase II. Fue de obligatorio cumplimiento el seguimiento de las medidas de bioseguridad en este tipo de laboratorio y el uso del vestuario y los medios de protección adecuados.

En el caso de la vigilancia intensiva de la hepatitis aguda grave, las muestras siguieron un protocolo diferente. Una vez colectadas las muestras, éstas se mantuvieron a 4°C hasta su envío inmediato al LNR del IPK. En caso de demorar el transporte por más de 24 h estas se congelaron a -20°C hasta su envío. Las muestras de tejido para PCR en casos fatales debían conservarse siempre a -20°C hasta su envío al IPK. El transporte de las muestras para diagnóstico se realizó teniendo en cuenta el sistema triple empaque en valijas seguras y en condiciones de conservación a 4°C. Para el envío de estas muestras se utilizó: una valija (termo) independiente para los casos

sospechosos de hepatitis aguda grave (se usó una valija solo para estas muestras). En caso de no tener suficientes valijas para el envío de forma independiente, se enviaron con el resto de las muestras, en triple empaque siendo la valija el cuarto empaque. Dichas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular, una vez extraídos los ácidos nucleicos, fueron enviadas al LNRHV.

III.4. Métodos

III.4.1. Detección de IgM anti-VHA.

Se utilizaron 2 estuches diagnósticos: HAV IgM ELISA (DRG Instruments GmbH, Alemania) y HAV IgM ELISA (DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl, Italia), de acuerdo a la disponibilidad de los mismos en el laboratorio y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Principios de los ensayos

Los ensayos están basados en el principio de “captura de IgM” donde los anticuerpos IgM presentes en la muestra son capturados por la fase sólida que está recubierta con el anticuerpo anti-IgM. Después de un paso de lavado, los otros componentes de la muestra, particularmente los anticuerpos IgG, son eliminados. Los anticuerpos IgM específicos capturados en la fase sólida son detectados mediante la adición de un conjugado con peroxidasa del rábano picante (HRP). Después de la incubación, las microplacas se lavan y posteriormente se le añade el sustrato. Ante la presencia de la peroxidasa, el sustrato incoloro es hidrolizado hacia un producto final con color, cuya densidad óptica puede ser detectada y que es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

III.4.2. Detección de IgM anti-VHE.

Se utilizaron 2 estuches diagnósticos: HEV IgM ELISA (DRG Instruments GmbH, Alemania) y HEV IgM ELISA (DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl, Italia), de acuerdo a la disponibilidad de los mismos en el laboratorio y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Principios de los ensayos

Las microplacas se recubren con antígenos recombinantes específicos al VHE codificados para determinantes conservados e inmunodominantes de los 4 subtipos. Posteriormente se añade la muestra diluida y son capturados los anticuerpos IgM anti-VHE. Después de un paso de lavado se eliminan los otros componentes de la muestra. En la segunda fase de la incubación, son detectados los anti-IgM del VHE, mediante la adición de anticuerpos anti-IgM conjugados con peroxidasa (HRP). La enzima capturada en la fase sólida, genera una señal óptica que es proporcional con la cantidad de IgM anti-VHE presentes en la muestra.

III.5. Extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos mediante PCR-TR en diferentes muestras clínicas.

III.5.1 Extracción de ácidos nucleicos (ARN)

La extracción de ácidos nucleicos se realizó mediante un sistema automatizado, en el equipo Qiacube (Qiagen, Alemania). El ARN fue extraído a partir de 140 µL de muestra usando el juego comercial QIAamp RNA mini kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

III.5.2. Amplificación y detección del ARN-VHA.

Se utilizó un PCR en Tiempo Real para detectar el ARN del VHA según el protocolo del Instituto Nacional Holandés de Salud Pública y Medio Ambiente (RIVM por sus siglas en inglés *Dutch National Institute of Public Health and the Environment*) con algunas modificaciones.⁹⁶

III.5.3. PCR en Tiempo Real

Se amplificó una región de 71bp de la región 5' no traducida (NTR) (nt504 – nt574) (genbank NC_001489). Se utilizó el estuche QuantiFast Multiplex PCR Kits (Qiagen, Alemania). La tabla 1 muestra la secuencia de los cebadores y sonda utilizados.

Tabla 1. Secuencia de los cebadores y sonda a utilizada para la PCR-TR del VHA.

Nombre (ID)	Secuencia 5'-3'	Dirección
HAV-RT1	CAGTGGATGCATTGAGTG	Sentido
HAV RT2	CTAAGCACAGAGAGGTC	Anti-sentido
HAV Pr (FAM)	CCTARAGACAGCCCTGAC (TAMRA)	

Tabla 2. Mezcla utilizada para la Transcripción reversa del ARN y amplificación de la región 5' NTR del VHA.

Componentes de la mezcla	Concentración 1X (µl)
H ₂ O	5.85
Tampón 5X	12.5
Cebador 1 (20 µM)	0.5
Cebador 2 (20 µM)	0.5
Sonda (20 µM)	0.4
Enzima mix RT+Taq	0.25
Total	20

III.5.4. Amplificación y detección del ARN-VHE.

Se utilizó un PCR en Tiempo Real para detectar el ARN del VHE según Jothikumar y col., 2006 con algunas modificaciones.⁹⁷

III.5.5. PCR en Tiempo Real

Se amplificó una región del marco abierto de lectura 3 (MAL3). Se utilizó el estuche OneStep Real Time-PCR de Invitrogen. La tabla 3 muestra la secuencia de los cebadores y sonda utilizados.

Tabla 3. Secuencia de los cebadores y sonda a utilizada para la PCR-TR del VHE.

Nombre (ID)	Secuencia 5'-3'	Dirección
JVHEVF	GGTGGTTTCTGGGGTGAC	Sentido
JVHEVR	AGGGGTTGGTTGGATGAA	Anti-sentido
JVHEVP	FAM -TGATTCTCAGCCCTTCGC TAMRA	-

Tabla 4. Mezcla utilizada para la Transcripción reversa del ARN y amplificación de la región del MAL 3 del VHE.

Componentes de la mezcla	Concentración 1X (µl)
H ₂ O	6
Tampón 5X	12.5
Cebador S (20 µM)	0.5
Cebador AS (20 µM)	0.5
Sonda (20 µM)	0.25
Enzima mix RT+Taq	0.25
Total	20

Las condiciones de ciclaje tanto para la amplificación y detección del ARN del VHA como para el del VHE fueron las siguientes: después de un ciclo inicial de RT, de 50°C, por 20 min., se continuará con la desnaturalización a 95°C, 15 min y 50 ciclos de PCR de 95 °C (10 s) y 60 °C (50 s.). Las mismas se realizaron en el equipo de PCR-TR BIOER (BIOER TECHNOLOGY, FQD-96A, China)

III.6. Análisis Estadístico:

Para la recolección de los datos se revisaron las encuestas realizadas a los casos de sospecha de hepatitis aguda grave y aquellas que acompañan el estudio de los brotes de HVA (Encuesta de datos epidemiológicos y clínicos, Anexo I). Para el análisis de los resultados se confeccionó una base de datos en Microsoft Excel. Se utilizaron medidas de estadística descriptiva a partir de la distribución de frecuencias absolutas. El análisis de los resultados cuantitativos se realizó empleando el paquete estadístico **GraphPad Prism 5.0.1**, utilizando un intervalo de confianza (IC) del 95% y la prueba de Mann Whitney, en la que se consideraron significativos los valores del estadígrafo a una $p < 0.05$. Para los análisis de asociación se utilizó el programa estadístico **SPSS versión 22.0** para Windows.

Operacionalización de las variables

Variables	Operacionalización de las variables	
	Escala de clasificación	Definición de categorías de la escala
Género	Masculino Femenino	Definido según sexo biológico
Grupo de edades	Menores o igual de 18 años Entre 2 - 5 años Entre 6 - 10 años Entre 11 - 15 años Entre 16-18 años	Edad según Carnet de Identidad
Provincia de residencia	Pinar del Rio Artemisa Mayabeque La Habana Matanzas Cienfuegos Villa Clara Sancti Spiritus Ciego de Ávila Camagüey Las Tunas Holguín Granma Santiago de Cuba Guantánamo Isla de la Juventud	Dirección domiciliaria referida en Historia Clínica según División Político Administrativa vigente.
Relacionado con brotes	Si No	Según datos clínicos y epidemiológicos que acompañan a las muestras
Manifestaciones clínicas (Íctero, Vómitos, Coluria Astenia/anorexia, Fiebre Dolor abdominal, Hepato-esplenomegalia y Acolia)	Si No	Signos y síntomas registrados en la Encuesta de datos epidemiológicos y clínicos (Anexo I)

III.7. Consideraciones Éticas:

Las normas éticas y científicas para realizar estudios biomédicos en sujetos humanos han sido desarrolladas y establecidas por Guías Internacionales, entre las que se incluyen la Declaración de Helsinki, las Guías Éticas Internacionales para estudios biomédicos en sujetos humanos: CIOMS, entre otras.

El presente proyecto se ha concebido de acuerdo a lo establecido en los mencionados documentos, a fin de preservar la dignidad, los derechos, la seguridad y la salud de los participantes en esta investigación. El participar en la investigación no implica riesgo alguno para el paciente. El presente estudio no precisa de Consentimiento Informado, ya que son muestras que llegan al laboratorio como parte del diagnóstico y la vigilancia de las hepatitis virales en el país.

Todos los datos generados en la presente investigación fueron almacenados en bases de datos a los que tuvieron acceso los investigadores responsables del proyecto, al aplicar una clave de entrada al fichero creado para el estudio. Los investigadores del laboratorio, así como el personal técnico fueron los responsables de la custodia de las muestras. Los datos fueron protegidos en discos extraíbles a la que solo se tuvo acceso con claves para conservar y garantizar la seguridad de la información.

Los estudios se realizaron siguiendo las Buenas Prácticas Clínicas (BPC), el personal científico que realizó las investigaciones está calificado y se emplearon métodos para la realización de las pruebas de laboratorio y estadísticas reconocidos a nivel internacional.

Los resultados del estudio se enviaron a los médicos de asistencia a través de un informe del Laboratorio Nacional de Referencia en Hepatitis Virales una vez analizadas las muestras. Los resultados fueron estrictamente confidenciales, por lo que fueron del dominio sólo de los autores del estudio, del personal médico y de las autoridades de salud. La confidencialidad de los datos de todos los participantes fue mantenida a través de todo el estudio.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Determinar la frecuencia de infección por el VHA en individuos con diagnóstico de hepatitis viral aguda y su comparación con la hepatitis E en el período 2022-2023.

Hepatitis A en el año 2022 y 2023

El año 2022, se caracterizó por la vigilancia intensiva del síndrome icterico que se realizó entre los meses de mayo a noviembre en niños cubanos de todo el país, a causa de la alerta de la OMS de un aumento de casos de fallo hepático fulminante de etiología desconocida en niños. No obstante, se mantuvo la vigilancia que hace el laboratorio de la enfermedad en la población adulta, el estudio de brotes y los casos graves y fatales. El 2022 se caracterizó, además, por la introducción del método de PCR-TR en la vigilancia, que, a pesar de no constituir el estándar del diagnóstico, en el primer semestre del año, no se contaba con los reactivos para la detección de IgM.

En la tabla 5 se muestra la frecuencia de infección por el VHA, la frecuencia de infección por el VHE y la frecuencia de co- infección entre ambos virus en las muestras colectadas en el período 2022-2023, ya que al ser entidades que poseen las mismas vías de transmisión y ser clínicamente indistinguibles, como criterio se realiza la vigilancia de forma conjunta. En el Gráfico 1 se muestra el porcentaje de positividad al VHA, VHE y co-infección VHA/VHE en pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda en el período 2022-2023.

Tabla 5. Frecuencia de infección por el VHA en pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda y su comparación con la hepatitis E en el período 2022-2023.

Año		Marcador	Positivos	Porcentaje (%)
2022	Vigilancia del LNRHV N=264	IgM/PCR-VHA	66	<u>25</u>
		IgM/PCR-VHE	9	3.7
		Co-infecciones VHA/VHE	7	2.9
	Vigilancia intensiva en niños y adolescentes N=207	IgM/PCR-VHA	112	<u>54.1</u>
		IgM/PCR-VHE	3	1.4
		Co-infecciones VHA/VHE	19	9.1
2023	Vigilancia del LNRHV N=203	IgM-VHA	74	<u>36.4</u>
		IgM-VHE	3	1.4
		Co-infecciones VHA/VHE	4	1.9

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

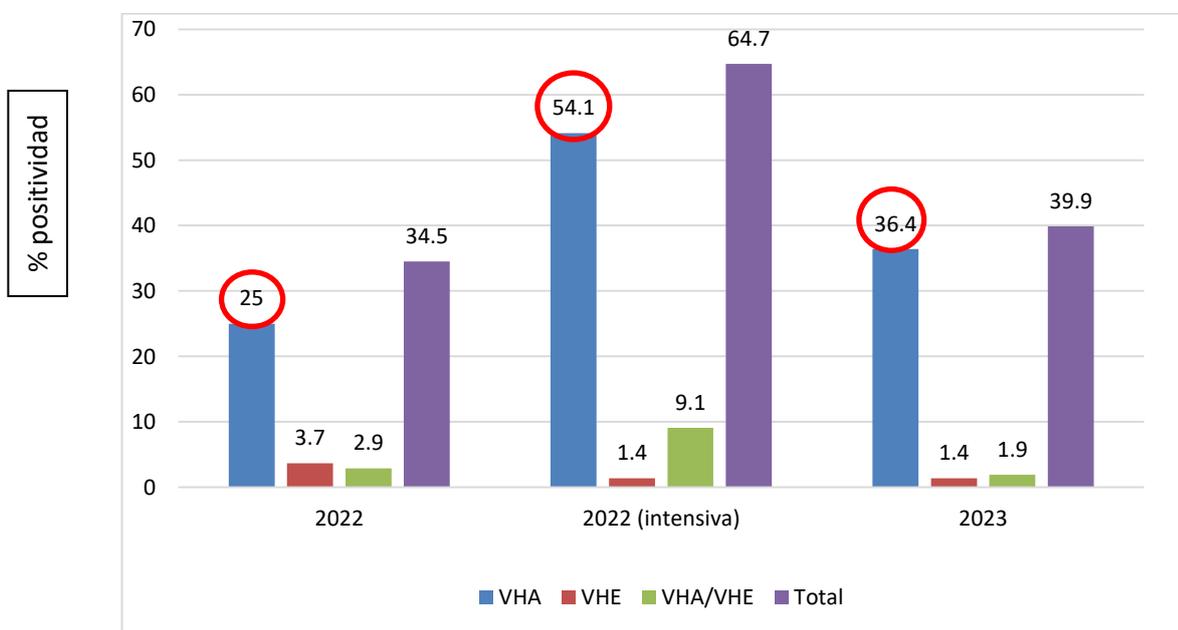


Gráfico 1. Porcentaje de positividad al VHA, VHE y co-infección VHA/VHE en pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda en el período 2022-2023.

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

En ambos años se observa una mayor positividad al VHA y menor al VHE, así como de co-infecciones VHA/VHE. La positividad se incrementa en el período de vigilancia intensiva, lo cual es esperado, ya que debido a la alerta de la OMS hubo un llamado nacional liderado por el MINSAP para estudiar todos aquellos niños y adolescentes (0-18 años) con criterio de hepatitis aguda dada por la presencia de íctero y transaminasas por encima de 500 UI/L. Dichos pacientes eran hospitalizados y colectadas las muestras en las primeras 24 horas de su ingreso y enviadas en condiciones de bioseguridad al LNRHV del IPK.

En resumen, en el periodo analizado, el VHA fue el agente etiológico del 41.8% (282/674) y el VHE del 6.6% (45/674) de los casos, corroborando el papel de estos virus en los cuadros de HVA del país.

Brotos de hepatitis viral aguda, recibidos en el LNRHV en el período 2022-2023.

En el año 2022 se estudiaron 10 brotes y en 2023 fueron estudiados 4 brotes, los cuales todos fueron positivos al VHA, excepto 1 brote, del cual no podemos descartar que se tratara del VHA, ya que fue procesada por PCR-TR que no es el método más adecuado para el estudio de brotes (tabla 6). Tres brotes, 2 en 2022 y 1 en 2023 tuvieron además casos positivos a IgM VHE.

Tabla 6. Brotes de HVA estudiados en el LNRHV en el periodo 2022-2023

Años (n)	VHA + (%)	VHE + (%)
2022 (n=10)	9 (90)	2 (20)
2023 (n=4)	4 (100)	1 (25)
Total (n=14)	13 (92.8)	3 (23.1)

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

Antes de 1989 los tipos de hepatitis virales se notificaban solamente como hepatitis virales, porque no se realizaba la clasificación de la misma. Es a partir de este año que comenzó a clasificarse la hepatitis B mediante la determinación de su antígeno de superficie (HBsAg) y la IgM anti-HBc y las restantes se clasificaban con este criterio diagnóstico más los criterios clínicos

y epidemiológicos en hepatitis A. En el año 1998 se introduce el diagnóstico de la Hepatitis C a través del anti-VHC; y así comenzó la clasificación en B o C, considerándose la hepatitis A por un criterio de exclusión. Según Aguiar y col., la Hepatitis viral tipo A en Cuba constituye un problema de salud con relación a la morbilidad y no a la mortalidad, situándose entre los países de alta endemicidad junto a Chile, con una tasa de incidencia de 71 x 100 000 habitantes y Argentina 63,9 x 100 000 habitantes.^{13,98,99}

Las hepatitis virales ocupan actualmente la quinta causa de morbilidad por enfermedades infecciosas en Cuba. En la población se observan con frecuencia epidemias y casos clínicos esporádicos de hepatitis viral. La vigilancia serológica previa mediante anticuerpos IgM anti-VHA, así como estudios clínicos y epidemiológicos demostraron que el VHA es el principal agente responsable de estos brotes.¹⁰⁰ El virus de la hepatitis E (VHE) tiene una distribución global y se sabe que causa grandes epidemias de hepatitis icterica transmitida por el agua. Se observó principalmente en el subcontinente indio, Asia central y África. Estudios en América Latina describieron el VHE en México, Brasil, Venezuela y otros lugares¹⁸ informaron por primera vez sobre la incidencia de enfermedades relacionadas con el VHE en Cuba. Sus hallazgos sugirieron que un número importante de los casos esporádicos de hepatitis viral en Cuba podrían deberse al VHE. Otro informe de 2005 confirmó la circulación de este virus en Cuba.¹⁰¹

Estudios previos en Cuba demuestran la cocirculación y coinfección con estos dos virus de transmisión entérica; sin embargo, se observó una mayor positividad para los anti-VHA que para los anti-VHE.¹⁰²

La Organización Mundial de la Salud estima que cada año se producen 1,5 millones de casos de hepatitis A en todo el mundo, con un resultado aproximado de 7.000 muertes.⁹ En comparación, se calcula que cada año se producen 20 millones de infecciones por VHE, que dan lugar a 3,3 millones de casos sintomáticos y unas 44.000 muertes.³⁷ Estas cifras se refieren únicamente a las partes del mundo donde el VHE es endémico y, como tales, es probable que representen una subestimación de la carga real de la enfermedad a nivel mundial.¹⁰³

En el año 2022, Cuba reportó una incidencia de **1319** casos de hepatitis viral tipo A (tasa 11.9/100 000 habitantes), mientras que, en 2023, esta fue de **495** (tasa 4.8/100 000 habitantes).¹⁰⁴

La doble infección, también conocida como coinfección, es un fenómeno que se ha documentado en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo. Se han documentado coinfecciones por VHA/VHE en informes de países en vías de desarrollo, como India, México, Kenia, Bangladesh y Egipto. En la India, la tasa de coinfecciones por VHA/VHE fue del 1,3%. La tasa de infección por VHE fue del 16,1% y la del VHA del 12,6%. En comparación con las mono infecciones por VHE y VHA, los casos de doble infección presentaban más anomalías en las funciones hepáticas.¹⁰⁵

Numerosos estudios han demostrado que la doble infección por VHE y VHA puede tener consecuencias graves. Arora y col., realizaron una investigación para determinar la causa de la FHA entre los niños. Descubrieron que la infección dual por VHA y VHE representaba la mayoría de los casos de FHA en niños (20,45%), de los cuales tres fueron mortales.¹⁰⁵ La doble infección por VHA y VHE causó una mayor incidencia de FHA que cualquiera de los dos virus por separado. Las tasas fueron del 9% para el VHA y del 13,6% para el VHE. Una infección doble por VHA/VHE también puede provocar complicaciones como cistitis acalculosa y neuropatía hepática, que son los peores resultados posibles.

El hallazgo de cocirculación de VHA y VHE en Cuba no fue del todo inesperado, debido a las similitudes entre los virus y el conocimiento previo sobre la circulación del VHE en Cuba.

Los picos en los casos de la Hepatitis A comúnmente ocurren en los meses de otoño, especialmente en los niños. Además en muchos países predominan los brotes comunitarios donde los niños susceptibles desempeñan un papel fundamental en la transmisión, porque la infección por el virus transcurre muchas veces asintomática y usualmente no se detecta hasta que se transmite a contactos adultos.¹³

En Cuba estos brotes son frecuentes, generalmente de poca dimensión, y accidentalmente se han presentado brotes de gran magnitud, relacionados con la contaminación del agua potable únicamente, lo cual ocurre con frecuencia en cualquier parte del mundo, por ejemplo, en EEUU se reportaron 674 brotes de origen hídrico entre 1971 y 1996.¹⁰⁶

IV.2. Describir las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico de hepatitis viral aguda en el periodo 2022-2023.

En este objetivo nos referiremos a las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de la vigilancia intensiva realizada en Cuba en mayo-noviembre 2022, así como aspectos epidemiológicos de los brotes estudiados en 2022-2023.

En la Tabla 7 se muestran las características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de los niños y adolescentes con sospecha de hepatitis aguda grave incluidos en la vigilancia intensiva, Cuba, Mayo - Noviembre 2022. La mediana de edad de los pacientes fue de 12 años, rango de 11 a 15 años, así como predominio del sexo masculino. La provincia que envió más muestras sospechosas fue La Habana. Desde el punto de vista clínico, la ictericia, los vómitos y la coluria fueron los signos más frecuentemente observados. El 99,1% de los casos presentó una clínica de ligera a moderada, solo 2 casos (0,9%) se reportaron de graves, aunque sin criterio diagnóstico y microbiológico de Hepatitis Aguda Grave de etiología desconocida, siendo negativos a todos los agentes virales y bacterianos estudiados. No hubo complicaciones asociadas y todos los casos evolucionaron favorablemente.

En cuanto a las enzimas hepáticas alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA) y gamma glutamil transpeptidasa (GGT), la media de los valores fue: ALT: **1443** UI/L, AST: **1190** UI/L, FA: **582** UI/L y GGT: **264** UI/L (valores normales: ALT: 0 - 41 UI/L, AST: 0 - 37 UI/L, FA 40-130 UI/L y GGT: hasta 61 UI/L).

Tabla 7. Características sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas de los niños y adolescentes con sospecha de hepatitis aguda, Cuba, May - Nov 2022.

Variables	Rangos	N=207, No (%)
Edad en años (mediana: 12 años)	2-5	16 (7.7)
	6-10	55 (26.6)
	11-15	81 (39.1)
	16-18	55 (26.6)
Sexo	F	88 (42.5)
	M	119 (57.5)
Provincia de residencia	Pinar del Rio	1 (0.4)
	La Habana	99 (47.8)
	Mayabeque	1 (0.4)
	Villa Clara	19 (9.1)
	Sancti Spiritus	2 (0.9)
	Ciego de Ávila	37 (17.8)
	Camagüey	11 (5.3)
	Las Tunas	24 (11.5)
	Granma	2 (0.9)
	Santiago de Cuba	9 (4.3)
Guantánamo	2 (0.9)	
Síntomas y Signos	Íctero	175 (84.5)
	Vómitos	111 (53.6)
	Coluria	106 (51.2)
	Astenia/anorexia	102 (49.2)
	Fiebre	96 (46.3)
	Dolor abdominal	80 (38.6)
	Hepato-esplenomegalia	20 (9.6)
	Acolia	13 (6.2)
	Otros (diarreas, mialgias, cefalea, tos, dolor de garganta, lipotimia, artralgias, dolor retro-orbitario, escalofríos, edemas, secreción nasal, disuria, cólicos, sangramiento, rash, prurito)	36 (17.3)

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

Factores de interés epidemiológicos relacionados con los brotes de hepatitis viral aguda, Cuba, 2022-2023.

En el Gráfico 3 se muestra la procedencia de los brotes de HVA estudiados en el periodo 2022-2023, se observa que la mayoría de los mismos ocurrieron en la provincia de La Habana (10/14, 71.4%).

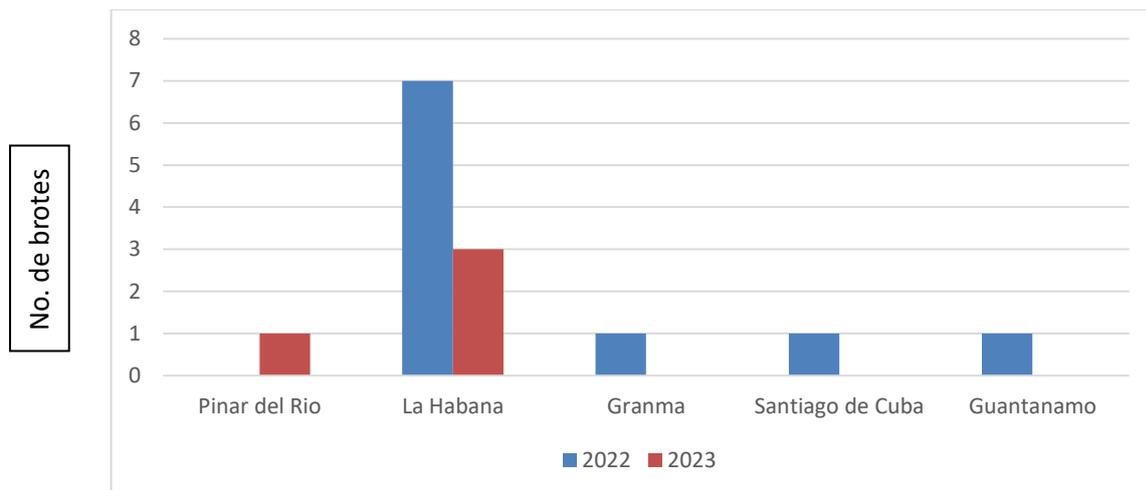


Gráfico 3. Brote de hepatitis viral aguda según el lugar de procedencia, Cuba, 2022-2023.

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

En la tabla 8 se muestra la distribución de los brotes según patrones de transmisión. Es de notar que la transmisión Comunitaria o en población abierta fue la forma de transmisión (50%) más observada en el periodo de estudio, seguido por la transmisión en espacios cerrados (28.5%) y en menor cuantía la transmisión en los hogares (21.4%).

Tabla 8. Distribución de los brotes de hepatitis viral aguda según Patrones de Transmisión. Cuba, 2022-2023.

Patrones de transmisión	Lugar de detección/ Provincia
Comunitaria o población abierta (50%)	El Fanguito/ La Habana
	Contramaestre/ Santiago de Cuba
	Buey Arriba/ Granma
	Habana Vieja/ La Habana
	Yateras/ Guantánamo
	Habana Vieja/ La Habana
	Marianao/ La Habana
Espacios cerrados (28.5%)	Combinado del Este/ La Habana
	Hotel Melia Habana/ La Habana
	Escuela primaria Centro Habana/ La Habana
	EIDE Mártires de Barbados/ La Habana
Hogares (21.4%)	Arroyo Naranjo/ La Habana
	San Miguel del Padrón/ La Habana
	Minas de Matahambre/ Pinar del Río

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

La mayor incidencia de hepatitis A se observa en países en vías de desarrollo, especialmente en las zonas de los trópicos, donde las deficientes condiciones higiénicas y sanitarias favorecen la difusión del virus. En estos países, la infección es endémica y el 100% de los niños se infectan antes de los 12 años y se calcula que existen entre 30 y 100 casos por 100 000 habitantes cada año.¹⁰⁷

En áreas de baja endemicidad la enfermedad ocurre en adultos de los grupos de alto riesgo, mientras que en los países con endemicidad intermedia es más frecuente en los adultos jóvenes y donde la endemicidad es alta afecta fundamentalmente la infancia y adolescencia.¹⁰⁸

En la mayoría de los casos, los niños pequeños son asintomáticos o experimentan una enfermedad muy leve, y la infección por VHA suele conferir inmunidad de por vida. Por el contrario, en las regiones de altos ingresos y baja endemicidad, como Norteamérica, Europa Occidental, Japón y Australia, la exposición en la infancia es más rara. Como resultado, una proporción mucho menor de la población adulta tiene anticuerpos anti-VHA.¹⁰⁹

En el presente estudio el grupo de edad más afectado fue el de 11-15 años con un 39,1%, seguidos de los grupos de 16-18 años y de 6-10 años, ambos con un 26,5%. Estudios previos que analizan el comportamiento de la hepatitis A en Cuba, reportan al grupo de 10-14 años (326,74 x 100 000 habitantes para el período), 5-9 (292,33) y 1-4 (238,61) seguidos de los grupos de 15-24 años (138,55), 25-59 (61,88), 60-64 (26,39), menores de 1 año (12,58) y 65 y más (11,74). El 45% de los casos notificados corresponden a menores de 15 años y el 71,7% a menores de 24 años.¹³

Berdasquera y cols., también encontró que los grupos de edades más afectados fueron los menores de 15 años con un 48,2 %, seguido del grupo de 25 a 29 años con un 24,8 % y del grupo de 15 a 24 años con un 22%.¹¹⁰ Esto podría estar en relación con el comportamiento estacional del VHA, especialmente entre septiembre y noviembre, que pudiera tener relación con el inicio del curso escolar. De esta forma se pudiera explicar por qué la mayoría de los casos reportados son individuos jóvenes menores de 15 años de edad,

quienes no han entrado en contacto con el virus, y, por tanto, no han desarrollado la inmunidad contra este agente.¹¹⁰

En nuestro estudio el sexo más afectado fue el masculino, con un 57.5% para una razón de 1,3:1. Según el estudio de Aguiar y col., en el comportamiento por sexos el masculino presentó una mayor tasa de 144,7 por 100 000 habitantes para una razón de 1,5:1.¹³ Igualmente, Berdasquera y col refieren que el sexo más afectado en su estudio, fue el masculino con un 57 %.¹¹⁰

La incidencia por sexo difiere a la reportada en la literatura internacional que refiere una razón de 4:1 y por ejemplo en EEUU en el 2001 está razón fue de 8:1 relacionado fundamentalmente por los casos reportados en hombres que mantienen sexo con otros hombres.¹¹¹ El VHA, infecta a las personas sin distinción de sexo ni edad, aunque la mayor incidencia ocurre en las edades pediátricas (particularmente entre los 5 y los 15 años), y se difunde fácilmente en las comunidades con condiciones socioeconómicas desfavorables.

En referencia a la provincia de emisión de muestras, La Habana envió casi el 50% de las muestras procesadas (47.8%), seguida de Ciego de Ávila y Las Tunas, Aguiar y cols., en su estudio señaló que todas las provincias tuvieron una tendencia ascendente en el período de análisis, siendo la antigua provincia de La Habana (3137,71 x 100 000 habitantes) la de mayor incidencia, seguida de Villa Clara (3020,27), Matanzas (2763,11) y la Ciudad de la Habana (2383,84), las de menor incidencia fueron Granma (945,61), Isla de la Juventud (697,66) y Guantánamo (653,49).¹³

Berdasquera y col., en su estudio, La provincia La Habana, y en particular el municipio Guanajay, durante los últimos años ha alcanzado tasas que han sobrepasado la media nacional.¹¹⁰

Otro estudio describe que la provincia de La Habana, en el año 2000, alcanzó una tasa de 189.33 x 100 000 hab., la cual superó a la nacional (162.7) ocupando el tercer lugar del país después de Matanzas y Villa Clara.¹¹²

La presencia de íctero, vómitos y coluria fueron los signos más frecuentemente observados en esta cohorte de niños y adolescentes, seguido de astenia y anorexia, fiebre, dolor abdominal, hepato-esplenomegalia y acolia. Estos son

los signos y síntomas más observados en Cuba y en la literatura. Sin embargo, Martínez y cols., en su estudio de 1996 encontró que sólo el 1,5% de los individuos estudiados, desarrollaron un cuadro clínico sugestivo de hepatitis viral aguda (íctero, hipocolia, coluria, anorexia y toma del estado general).¹¹³

La elevada frecuencia de casos asintomáticos, así como la comprobada eficiencia de la transmisión de los agentes productores de infecciones entéricas en los niños, favorecen la aparición de brotes de hepatitis A en escuelas y otros centros infantiles haciendo que estos sean una importante fuente de virus en la comunidad.¹¹³

Durante el período se han reportado 14 Brotes, el 50% de los brotes ocurrieron en población abierta, el 28.5% en espacios cerrados y el 21.4% en hogares.

Lugar El 25% de los brotes fue reportado por la Ciudad de La Habana seguida de Santiago de Cuba con el 10%. Sin embargo, los brotes de mayor magnitud se reportaron en Villa Clara, Matanzas y Ciego de Ávila.¹³

Un estudio en la antigua provincia de la Habana, el 64,7 por ciento de los brotes ocurrieron en instituciones cerradas y el 35.3 por ciento en población abierta. Del total de brotes al 92,3% se le atribuye un origen hídrico, al 3,1% por alimentos, 1,8 % como transmisión persona-persona y en el 2,8% no se pudo determinar la fuente.¹¹²

En el mundo se han reportado brotes de hepatitis A de gran magnitud, como el ocurrido en 1987 con 87 fallecidos y más de 3 000 casos en Somalia y Sudán relacionado con la existencia de campos de refugiados etíopes. La baja incidencia de la Hepatitis A en los países desarrollados se afecta por la ocurrencia de brotes por agua o alimentos contaminados o de persona a persona en el grupo de hombres que mantienen sexo con otros hombres. EEUU reportó la ocurrencia de un brote con 555 casos notificados por el consumo de cebollas importadas. Otros brotes se han reportado en EEUU, Australia y Canadá relacionados con la transmisión entre homosexuales. También entre los meses de enero a julio del 2003 Chile ha reportado la ocurrencia de 64 brotes.¹³

IV.3. Determinar la utilidad de los diferentes tipos de muestras para la detección del VHA mediante PCR-TR.

Análisis de la utilidad de la PCR-TR VHA para el diagnóstico de la hepatitis A.

En el año 2022 se introdujo la PCR-TR para el diagnóstico de la hepatitis A, que si bien no constituye un método diagnóstico efectivo (el estándar del diagnóstico de la hepatitis A es la IgM), las condiciones epidemiológicas del país, la alerta de la hepatitis grave de la OMS y la necesidad de obtener muestras positivas al ARN del VHA para caracterización genómica, fueron justificaciones válidas para su uso en el diagnóstico y la investigación. En la tabla 9 se muestran los resultados del análisis de la positividad mediante PCR-TR para la detección del ARN-VHA, 2022, ya sea en condiciones normales de envío y transporte de muestras y en la vigilancia intensiva creada después de la alerta de la OMS.

Tabla 9. Distribución de la positividad mediante PCR-TR para la detección del ARN-VHA, 2022.

TIPOS	RESULTADO PCR-TR VHA	N (%)
Vigilancia intensiva (May-Nov 22)	Positivo	57 (31.8)
	Negativo	122 (68.1)
	Total	179
Vigilancia en condiciones normales, 2022	Positivo	19 (16.8)
	Negativo	94 (83.1)
	Total	113

Fuente: Resultados y Bases de Datos del LNRHV

La mayor positividad al utilizar la PCR-TR se encontró en la Vigilancia intensiva que como ya se explicó anteriormente permitió colecta, almacenamiento y envío de las muestras de forma eficiente.

En la tabla 10 se muestra el análisis de la positividad mediante PCR-TR teniendo en cuenta el tipo de muestra utilizada en la PCR-TR.

Tabla 10. Distribución de la positividad mediante PCR-TR teniendo en cuenta el tipo de muestra utilizada en la PCR-TR.

Tipo de vigilancia	Tipos de muestras	Pos	%
Vigilancia Intensiva (May-Nov 2022) (n=57)	Suero	13	22.8
	Heces/hisopado rectal	28	49.1
	Sangre total	0	0
	Suero + Heces/hisopado rectal	10	17.5
	Sangre total + Heces/hisopado rectal	3	5.2
	Sangre total + suero	2	3.5
	Suero + sangre total + Heces/hisopado rectal	1	1.7
	Subtotal	57	100
Vigilancia en condiciones normales, 2022 (n=19)	Suero	14	73.6
	Heces/hisopado rectal	5	26.3
	Subtotal	19	100

Fuente: Resultados y Bases de Datos del LNRHV

Disponer de varios tipos de muestras, tanto de heces, suero o sangre total permitieron obtener una mayor positividad, la combinación de estas como se observa permitieron que, en la vigilancia intensiva, la muestra de heces fue la que mostró una elevada positividad (42/57, **73.6%**), seguido del suero (26/57, **45.6%**) y en último lugar la sangre total (6/57, **10.5%**). En la vigilancia normal, por el contrario, la muestra de suero fue la que obtuvo la mayor positividad, esta es la muestra que más recibe el LNRHV para la vigilancia de todas las hepatitis virales.

La mediana del Ct (umbral de ciclos o *cycle threshold* por sus en inglés) en las muestras de heces/hisopado rectal fue de 28.00, mientras que en la de suero fue de 35.00 y en la de sangre total 36.00.

En el Gráfico 4 se muestra el análisis utilizando el valor de Ct en las diferentes muestras empleadas. Se observa que existen diferencias estadísticamente significativas en el Ct de las muestras utilizadas ($p < 0.05$).

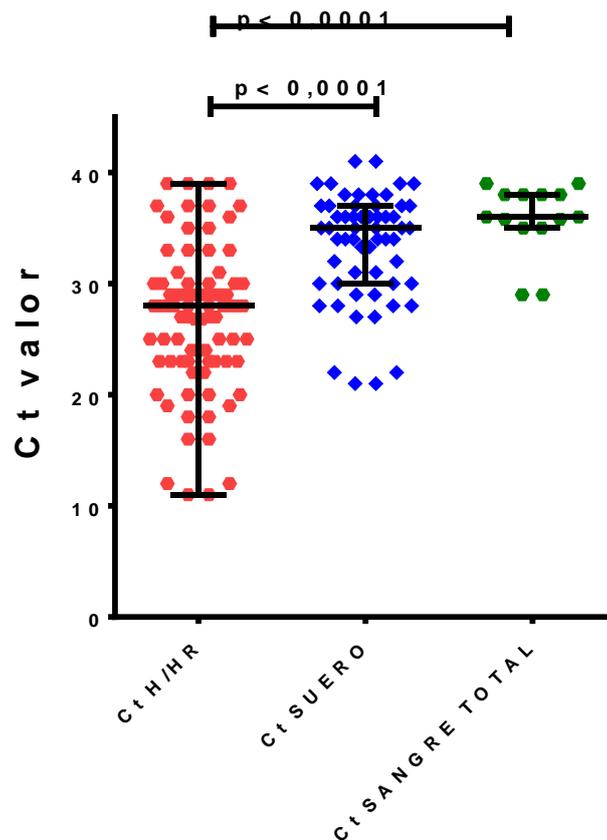


Grafico 4. Análisis del valor del Ct en las muestras de heces/hisopado rectal, suero y sangre total positivas. Se muestra el valor de p de la prueba de Mann-Whitney.

Fuente. Resultados y Bases de Datos del LNRHV

Es de destacar que de las 57 muestras positivas procedentes de la vigilancia intensiva de may-nov 22, el 91% de los pacientes presentaban cifras de ALT con valores 10 veces superiores al rango de normalidad (rango normal ALT: 0 - 41 UI/L).

La hepatitis A no puede ser diferenciada de otras hepatitis virales agudas teniendo solamente en cuenta las características clínicas y epidemiológicas. El diagnóstico preciso de esta entidad requiere de una prueba serológica que detecte la presencia de anticuerpos específicos del tipo IgM (IgM anti-VHA) contra las proteínas de la cápside viral. En la mayoría de las personas la IgM anti-VHA puede detectarse 5-10 días después de la exposición y persiste elevada hasta 6 meses después. ¹¹³

Desde 1990 se dispone en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), de técnicas para el diagnóstico de la hepatitis A (VHA), mediante la detección de la IgM anti-VHA en sangre y del antígeno viral (Ag VHA) en heces fecales. Este hecho ha ampliado las posibilidades de diagnóstico de esta enfermedad que anteriormente solo se basaba en las características clínico-epidemiológicas de la misma, así como en la elevación de los niveles de la enzima ALT en el suero de los individuos. ¹¹³

La excreción fecal del virus disminuye cuando empiezan a elevarse los anticuerpos contra él, a partir de la segunda o tercera semana de la infección, no siendo detectable muchas veces en el momento de la presentación de los síntomas. Varios autores han planteado la mayor durabilidad de la eliminación fecal de virus en los niños en comparación con los adultos. ¹¹³

El virus que se multiplica en el hígado y se elimina por la bilis, se encuentra en concentraciones altas en las heces, de ahí que esta sea la principal fuente de infección. Las concentraciones máximas aparecen dos semanas antes de la ictericia o el aumento de las transaminasas, correspondiendo al periodo de mayor infectividad y disminuyen de manera rápida después de que surja la disfunción hepática o los síntomas, que coinciden con la aparición de los anticuerpos circulantes contra el VHA en el suero. ⁸²

Posterior a la ingesta, el virus sobrevive al ácido gástrico, atraviesa la mucosa intestinal, llega al hígado a través de la vena porta, donde es captado por los hepatocitos. Ahí, las partículas virales se replican, se ensamblan, se secretan en los canalículos biliares, desde donde pasan al conducto biliar y regresan al intestino delgado, con su excreción eventual en las heces. ²²

Los ciclos enterohepáticos del ciclo de vida del virus continúan hasta que aparecen anticuerpos neutralizantes que junto con otros mecanismos inmunitarios interrumpen el mismo. ²²

Debido a dicha secreción hacia los canalículos biliares, los títulos virales son más altos en heces y pueden alcanzar 10^8 viriones/mL. Los títulos virales en suero son aproximadamente dos veces más bajos que los de heces; por lo que la propagación parenteral no es una ruta significativa de transmisión. ²²

Munne y cols., estudio prospectivamente muestras de suero y materia fecal de 20 niños con hepatitis aguda autolimitada por el VHA. El ARN del VHA fue detectado en 18/20 niños en muestras basales y en 19/20 sumando una muestra posterior. El ARN, además, fue detectable en 9/20 pacientes hasta 30 días en suero; en materia fecal en 2/20 hasta 60 días y en 1/20 hasta 90 días.¹¹⁴

Un estudio de la excreción fecal en 67 pacientes de la India, incluyendo 59 niños, contaba en la mayoría de los casos con muestras únicas. El 50% de los pacientes tenía una muestra dentro de la primera semana de la presentación de los síntomas, siendo el ARN del VHA positivo solo en 36.6% de ellos. En 4/10 materias fecales el ARN fue positivo entre las 4 y 5 semanas y en 0/8 a partir de la semana 6.¹¹⁵

En un brote en niños en Tailandia el ARN del VHA fue detectable en el 34.3% de las muestras de suero al momento del diagnóstico con anticuerpos IgM anti-VHA positivos. El ARN viral en materia fecal no fue detectado más allá de las 3 semanas luego de la presentación de los síntomas.¹¹⁶

Tjon y cols., estudiaron la carga viral del VHA de forma prospectiva en heces y suero mediante PCR anidada competitiva. El VHA se excretó en heces durante un período medio de 81 días después del inicio de la enfermedad, y el 50% de los pacientes todavía excretan niveles altos el día 36 (2×10^6 – 2×10^8 copias/ml suspensión de heces). Se detectó viremia, pero no cuantificable, por un período medio de 42 días.¹¹⁷

En el presente estudio, el 91% de los pacientes que presentaron ARN-VHA positivo, presentaban cifras de ALT con valores 10 veces superiores al rango de normalidad. Otros autores han reportado que en los primeros 10 días después del inicio de enfermedad, los niveles de ALT se correlacionaron positivamente con niveles virémicos en sangre, sin indicios que el grado de daño hepático durante este período influyó en la duración de la excreción del VHA en las heces.¹¹⁷ De igual modo, Sainokami y cols., han encontrado que los niveles de ALT y VHA en sangre están correlacionados positivamente.¹¹⁸

IV.4. Asociación entre la infección por el VHA y algunas variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas en niños y adolescentes con diagnóstico de HVA en 2022.

En la tabla 11 se muestra la asociación entre la infección por el VHA y algunas variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas en niños y adolescentes.

Tabla 11. Asociación entre la infección por el VHA y las variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas en niños y adolescentes, 2022.

VARIABLES	Rangos	N=207 n (%)	VHA (+) n (%)	Valor de p	OR (IC95%)
Edad en años	2-5	16 (7,7)	8 (50)	0,189	0,55 (0,20-1,54) 1,42 (0,73-2,74) 1,16 (0,65-2,08) 0,74 (0,40-1,40)
	6-10	55 (26,5)	<u>38 (69,1)</u>	0,190	
	11-15	81 (39,1)	<u>53 (65,4)</u>	0,358	
	16-18	55 (8,6)	32 (58,1)	0,225	
Sexo	M	119	72 (60,5)	0,207	0,75 (0,42-1,34)
	F	88 (42,5)	59 (67,04)		
Íctero	Si	175	116	0,030	2,23 (1,04-4,77)
	No	(84,5) 32 (15,5)	(66,2) 15 (46,8)		
Vómitos	Si	111	72 (64,8)	0,358	1,15 (0,66-2,04)
	No	(53,6) 96 (46,4)	59 (61,4)		
Coluria	Si	106	71 (66,9)	0,162	1,39 (0,79-2,44)
	No	(51,2) 101 (48,8)	60 (59,4)		
Astenia/anorexia	Si	102	62 (60,7)	0,277	0,81 (0,46-1,42)
	No	(49,2) 105 (50,8)	69 (65,7)		
Fiebre	Si	96 (46,3)	59 (61,4)	0,358	0,86 (0,49-1,52)
	No	111 (53,7)	72 (64,8)		

OR: (Razón de productos cruzados, del inglés, Odd Ratio); IC: intervalo de confianza.

Se evidencia que el íctero constituyó una variable con significación estadística ($p < 0.05$) y asociación positiva con la probabilidad de tener hepatitis A, es decir, la infección por el VHA curso con presencia de íctero 2 veces más frecuente que en aquellos que no la tenían. El íctero, además de ser un signo común en los pacientes con infección por el VHA, una de las características de la vigilancia intensiva fue precisamente la presencia de íctero en los niños y adolescentes.

El resto de las variables no se asociaron a la infección por el VHA, que, a pesar de ser frecuentes en la infección no fueron estadísticamente significativos.

Clínicamente se considera caso de hepatitis viral A, aquellos individuos que presentan una enfermedad constituida por al menos uno de los siguientes síntomas y signos: fatiga importante, náuseas, vómitos, coloración amarilla de piel y mucosas, orinas oscuras y heces blanquecinas. Se consideran además la elevación de los niveles séricos de las aminotransferasas.³⁸ Por otro lado, también es conocido y frecuentemente reportado en la literatura, la existencia de un bajo número de individuos, especialmente niños, con síntomas ante una infección por VHA. Se plantea que menos del 30% de los niños y del 25 al 50% de los adultos, sufren la infección de manera asintomática.³⁸ Nuestro estudio evidencia que el íctero en la población menor de 18 años es frecuente y se asocia con la positividad al VHA.

Martínez y col., en su estudio de un brote de HVA en un Círculo infantil, solo encontró presencia de cuadro clínico sugestivo de hepatitis viral aguda en el 12,5% de los casos IgM positivos.¹¹³

No se encontró asociación estadística entre la infección por el VHA y la edad, no obstante, se observa una mayor frecuencia en el rango de edad de 6-10 y 11-15, aspecto planteado por Aguiar en 2004 en el análisis del Comportamiento Epidemiológico de la Hepatitis A en Cuba en el periodo 1992-2002, donde los grupos de edad más afectados fueron el de 10-14 seguido por el de 5-9.¹³ Sin embargo, en el presente estudio la positividad al VHA fue mayor en el sexo femenino que en el masculino, y la mayoría de los estudios realizados en Cuba apuntan al sexo masculino como el más afectado.^{13,113}

V. CONCLUSIONES

- La frecuencia elevada de infección por el VHA solo y en co-infección con el VHE encontrada, subraya la necesidad de fortalecer las medidas higiénico-epidemiológicas y las estrategias de prevención y control.
- Las características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los niños y adolescentes estudiados demuestran la elevada exposición a la hepatitis A fundamentalmente en edades tempranas de la vida.
- La elevada frecuencia de brotes de hepatitis viral aguda con un patrón de transmisión comunitaria o en población abierta acentúa la necesidad de mejorar el saneamiento medio-ambiental fundamentalmente en la provincia de La Habana.
- El uso en la práctica clínica de un ensayo molecular para detectar el genoma del VHA indica que podría utilizarse para ayudar al diagnóstico y la vigilancia de dicho agente, siendo las muestras de heces/hisopado rectal y suero las más recomendadas.
- Los niños constituyen un grupo vulnerable de infección por el VHA, indicando la necesidad de aplicar medidas higiénicas, sanitarias y ambientales de inmediato para disminuir su exposición.

VI. RECOMENDACIONES

Caracterizar genéticamente el VHA en las muestras positivas identificadas, para profundizar en la epidemiología molecular y el origen de los virus circulantes

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medellín Ramírez H, González González EL, Arce Núñez M, Moré Pérez A, López Mejía VM, Echevarría García Y. Comportamiento del virus de Hepatitis C en pacientes hemodializados. Acta médica del centro [Internet]. 2018 [citado 13 Oct 2021];12(1). Disponible en: <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/842/1106>
2. da Silva Leite JM, de Oliveira Inácio J, Silva de Melo Monteiro R, da Câmara Marques C, Pinheiro Barreto V, Rodrigues Feijão A. Caracterización sociodemográfica y clínica de pacientes portadores de Hepatitis C crónica. Enfermglob [Internet]. 2019 Oct [citado 13 Oct 2021];18(55). Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412019000300006
3. Louis C, Machado I, Guzmán A, Dagher L, Delgado MG, Fernández S, et al. Guía Nacional de Tratamiento para Pacientes con Hepatitis C en Venezuela 2016. Gen [Internet]. 2017 Jun [citado 13 Oct 2021];71(2). Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S001635032017000200002
4. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purceli RH. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science. 1973 Dec;182(4116):1026–8.
5. Nainan O V, Margolis HS, Robertson BH, Balayan M, Brinton MA. Sequence analysis of a new hepatitis A virus naturally infecting cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). J Gen Virol. 1991 Jul;72 (Pt 7): 1685–9.
6. García Ferreira AE, Ortega Alonso A, Moreno García AM, García Cortés M. Actualización epidemiológica del virus de la hepatitis A y el virus de la hepatitis E. Revista andaluza de patología digestiva.2018; Vol. (41): 133-141.
7. Rodríguez Acosta C. Actualización sobre hepatitis viral: etiología, patogenia, diagnóstico microbiológico y prevención. Rev Cubana Med Gen Integr.2000; 16 (6): 574-85.

8. Rojo M, Sjogren H, Bassett JT. En: Feldman. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 10ma ed. Elsevier. 2015. 1302-1308
9. World Health Organisation. Hepatitis A fact sheet, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a>; 2020 [accessed 17 August 2020].
10. Dourell SF. Seasonal Variation in Host susceptibility and cycles of Certain Infectious Diseases. *MMWR* 2001; 7(3):1-32.
11. Shapiro CN and Margolis HS. Worldwide epidemiology of hepatitis A virus infection. *J Hepatol* 1993; 18 (Suppl 2):S11-S14.
12. Armstrong GL and Bell BP. Hepatitis A virus infection in the United States. *Pediatrics* 2002; 109(5):839-45.
13. Aguiar P. Comportamiento Epidemiológico de la Hepatitis A en Cuba. Reporte técnico de vigilancia Vol. 9, No. 3 Mayo-Junio, 2004 ISSN 1028-4338.
14. Agrawal M, Ruchi K, Ashish B, Pallab S. A study of seroprevalence and co-infection of hepatitis A and hepatitis E viruses in sporadic cases in an endemic area. *J Med Sci Health*. 2016; 02(03): 1-5.doi.org/10.46347/JMSH.2016.V02I03.001
15. Joon A, Rao P, Shenoy S M, Baliga S. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and hepatitis E virus (HEV) in the patients presenting with acute viral hepatitis. *Indian J Med Microbiol*. 2015; 33: S102-S105. [https:// doi.org/10.4103/0255-0857.150908](https://doi.org/10.4103/0255-0857.150908).
16. World Health Organisation. Hepatitis E fact sheet, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>; 2020 [accessed 17 August 2020].
17. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, Xia NS, Ijaz S, Izopet J, Dalton HR. Hepatitis E. *Lancet*. 2012 Jun 30; 379(9835):2477 – 2488.[doi:10.1016/S0140-6736\(11\)61849-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61849-7)
18. Lemos, G, Jameel, S, Panda, S, Rivera, L, Rodríguez, L, Gavilondo, J.: Hepatitis E virus in Cuba. *J of Clinical Virology* 16: 71-75, 2000.

19. Robertson BH, Jansen RW, Khanna B, Totsuka A, Nainan O V, Siegl G, et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol.* 1992 Jun;73 (Pt 6):1365–77.
20. Cohen JI, Ticehurst JR, Purcell RH, Buckler-White A, Baroudy BM. Complete nucleotide sequence of wildtype hepatitis A virus: comparison with different strains of hepatitis A virus and other picornaviruses. *J Virol.* 1987 Jan;61(1):50–9.
21. Fierro NA. Is hepatitis A virus infection under control? lessons in the application of viral sequencing for the development of vaccination schemes in emergency situations. *EBio Medicine [Internet].* 2019 Ene [citado 13 Oct 2021]; 39:11-12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6354706/>.
22. Hollinger F, Emerson S. Hepatitis A Virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology.* 5th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2007.
23. Gonzalez-Lopez O, E. E. Rivera-Serrano, F. Hu et al., “Redundant late domain functions of tandem VP2 YPX3L motifs in nonlytic cell culture of quasi-enveloped hepatitis A virus,” *Journal of Virology*, vol. 92, no. 23, pp. e01308–e01318, 2018.
24. S. E. Williford and S. M. Lemon, “Hepatitis A virus,” in *Clinical Virology*, pp. 1165–1188, 2016.
25. J. Kulsuptrakul, R. Wang, N. L. Meyers, M. Ott, and A. S. Puschnik, “A genome-wide CRISPR screen identifies UFMylation and TRAMP-like complexes as host factors required for hepatitis A virus infection,” *Cell Reports*, vol. 34, no. 11, Article ID 108859, 2021.
26. Watanabe S, Morimoto N, Miura K et al., “Full-genome characterization of the RIVM-HAV16-090-like hepatitis A virus strains recovered from Japanese men who have sex with men, with sporadic acute hepatitis A,” *Hepatology Research*, vol. 49, no. 5, pp. 521–530, 2019.

- 27 Cella E, Golkocheva-Markova N E, Trandeva-Bankova D et al., "The genetic diversity of hepatitis A genotype I in Bulgaria," *Medicine*, vol. 97, no. 3, Article ID e9632, 2018
28. Gholizadeh O, Akbarzadeh S, Ghazanfari Hashemi M, Gholami M, Amini P, Yekanipour Z, et al. Hepatitis A: Viral Structure, Classification, Life Cycle, Clinical Symptoms, Diagnosis Error, and Vaccination. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2023(1), DOI: (10.1155/2023/4263309)
29. Cohen JI, Ticehurst JR, Purcell RH, Buckler-White A, Baroudy BM. Complete nucleotide sequence of wildtype hepatitis A virus: comparison with different strains of hepatitis A virus and other picornaviruses. *J Virol*. 1987 Jan;61(1):50–9.
30. Hollinger F, Emerson S. Hepatitis A Virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2007.
31. Aguirre S, Malirat V, Scodeller E, Mattion N. First full-length genomic sequence of a hepatitis A virus isolated in Argentina shows recombination between subgenotypes IA and IB. *Virus Res*. 2011 Jan;155(1):316–24.
32. Jameel S, Aggarwal R. Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, editors. *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice*. 13th ed. Elsevier; 2011. p. 420–6.
33. Weitz M, Baroudy BM, Maloy WL, Ticehurst JR, Purcell RH. Detection of a genome-linked protein (VPg) of hepatitis A virus and its comparison with other picornaviral VPgs. *J Virol*. 1986 Oct;60(1):124–30.
34. Cristina J, Costa-Mattioli M. Genetic variability and molecular evolution of hepatitis A virus. *Virus Res*. 2007 Aug;127(2):151–7.
35. Cuthbert JA. Hepatitis A: old and new. *Clin Microbiol Rev*. 2001 Jan;14(1):38–58.
36. Debing Y, Neyts J, Thibaut HJ. Molecular biology and inhibitors of hepatitis A virus. *Med Res Rev*. 2014 Sep;34(5):895–917.

37. Feigelstock D, Thompson P, Mattoo P, Zhang Y, Kaplan GG. The human homolog of HAVcr-1 codes for a hepatitis A virus cellular receptor. *J Virol*. 1998 Aug;72(8):6621–8.
38. Hollinger FB, Emerson SU. Hepatitis A virus. In: Knipe DM y Howley PM eds. *Fields Virology*. Fourth edition. Vol. 1. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:799-840.
39. Chigor VN, Okoh AI. Quantitative RT-PCR detection of hepatitis A virus, rotaviruses and enteroviruses in the Buffalo River and source water dams in the Eastern Cape Province of South Africa. *Int J Environ Res Public Health*. 2012 Nov;9(11):4017–32.
40. Abad FX, Pintó RM, Bosch A. Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Appl Environ Microbiol*. 1994 Oct;60(10):3704–10.
41. Mbithi JN, Springthorpe VS, Sattar SA. Comparative in vivo efficiencies of hand-washing agents against hepatitis A virus (HM-175) and poliovirus type 1 (Sabin). *Appl Environ Microbiol*. 1993 Oct;59(10):3463–9.
42. Prado T, Fumian TM, Miagostovich MP, Gaspar AMC. Monitoring the hepatitis, A virus in urban wastewater from Rio de Janeiro, Brazil. *Trans R SocTropMedHyg*. 2012 Feb;106(2):104–9.
43. Yanez LA, Lucero NS, Barril PA, Díaz MDP, Tenaglia MM, Spinsanti LI, et al. Evidence of hepatitis A virus circulation in central Argentina: seroprevalence and environmental surveillance. *J Clin Virol*. 2014 Jan;59(1):38–43.
44. Nainan O V, Xia G, Vaughan G, Margolis HS. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. *ClinMicrobiol Rev*. 2006 Jan;19(1):63–79.
45. Appleton H, Banks M, Dentinger C, Chong GT. Foodborne viral hepatitis. In: Simjee S, editor. *Food borne diseases*. New Jersey: Humana Press; 2007. p. 175–214.
46. Peterson DA, Hurley TR, Hoff JC, Wolfe LG. Effect of chlorine treatment on infectivity of hepatitis A virus. *Appl Environ Microbiol*. 1983 Jan;45(1):223–7.

47. Li JW, Xin ZT, Wang XW, Zheng JL, Chao FH. Mechanisms of inactivation of hepatitis A virus in water by chlorine dioxide. *Water Res.* 2004 Mar;38(6):1514–9.
48. Costafreda M I, Kaplan G, Pfeiffer J K., “HAVCR1 (CD365) and its mouse ortholog are functional hepatitis A virus(HAV)cellular receptors that mediate HAV infection,” *Journal of Virology*, vol.92,no.9,pp.020655-17–e2117,2018.
49. Kulsuptrakul J, Wang R, Meyers N L, Ott M, Puschnik A S. “A genome-wide CRISPR screen identifies UFMylation and TRAMP-like complexes as host factors required for hepatitis A virus infection, “*Cell Reports*,vol.34, no. 11, Article ID 108859, 2021.
50. McKnightandS K L, Lemon M. “Hepatitis A virus genome organization and replication strategy,” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, vol. 8, no. 12, Article ID a033480, 2018.
51. Recaniello UR. Picornaviridae: The viruses and their replication. En: Kanipe DM y Howley PM eds. *Fields Virology Fourth edition*. Vol 1, New York Lippincott Williams & Wilkins, 2001:685-722.
52. T.Kanda,R.Sasaki,S.Nakamotoetal.,“Thesirtuininhibitor sirtinol inhibits hepatitis A virus (HAV) replication by inhibiting HAV internal ribosomal entry site activity,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 466, no. 3, pp. 567–571, 2015.
53. Kwan US, Byun KS, Yeon JE, Park SH, Kim JS, Kim JH, et al. Detection of hepatitis A viral RNA in sera of patients with acute hepatitis A. *J Gastroenterol-Hepatol* 2000, 15(9):1043- 7.
54. Dotzauer A, Gebhardt U, Bieback K, Gottke U, Kracke A, Mages J, et al. Hepatitis A virus-specific immunoglobulin A mediates infection of hepatocytes with hepatitis A virus via the asialoglycoprotein receptor. *J Virol* 2000;74(23):950-7.
55. Siegl G, Weitz M. Pathogenesis of hepatitis A: persistent viral infection as basic of an acute disease?. *Microb Pathog* 1993;14:-8.

56. Margolis HS, Nainan OV. Identification of virus components in circulating immune complexes isolated during hepatitis A virus infection. *Hepatology* 1990,11(1):31-7.

57. Herrera Corrales JA, Badilla García J. Hepatitis A. *Medleg* [Internet]. 2019 Sep-Dic [citado 13 Oct 2021];36(2). Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152019000200101

58. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Ginebra: OMS; ©2022 [citado 13 Oct 2021]. Hepatitis A. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a>

59. Andani A, van Elten TM, Bunge EM, Marano C, Salgado F, Jacobsen KH. Hepatitis A epidemiology in Latin American countries: a 2020 view from a systematic literature review. *Expert Review of Vaccines* [Internet]. 2020 Sep [citado 13 Oct 2021];19(9):795-805. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/14760584.2020.1813575>

60. Werber D, Michaelis K, Hausner M, Sissolak D, Wenzel J, Bitzegeio J, et al. Ongoing outbreaks of hepatitis A among men who have sex with men, Berlin, November 2016 to January 2017 - linked to other German cities and European countries. *Euro Surveill* [Internet]. 2017 Feb [citado 13 Oct 2021];22(5):30457. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5388120/>.

61. Foster M, Ramachandran S, Myatt K, Donovan D, Bohm S, Fiedler J, et al. Hepatitis A Virus Outbreaks Associated with Drug Use and Homelessness - California, Kentucky, Michigan, and Utah, 2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2018 [citado 13 Oct 2021]; 67:1208-10. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/67/wr/mm6743a3.htm>

62. Salas Zapata L. Boletín Epidemiológico de las Hepatitis Virales en Colombia, 2015–2018 [Internet]. Bogotá: Minsalud; 2020 [citado 13 Oct 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/boletin-hepatitis-2020-finalv2-05082020.pdf>

63. Dirección General de Epidemiología. Informe Epidemiológico Anual de Vigilancia Epidemiológica de Hepatitis Virales, México-2019 [Internet]. México: DGE; 2019 [citado 13 Oct 2021]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/574743/Informe_pidemiologico_hepatitis_virales_2019.pdf
64. Alfonso C. Detener la transmisión de la hepatitis A: ¿La solución? En sus manos. Trabajadores [Internet]. 11 Mar 2020 [citado 13 Oct 2021]. Disponible en: <https://www.trabajadores.cu/20200311/detener-la-transmision-de-la-hepatitis-a-la-solucion-en-sus-manos-pdf/>
65. Armstrong GL and Bell BP. Hepatitis A virus infection in the United States. *Pediatrics* 2002; 109(5):839-45.
66. Rico-Hesse R, Pallansch MA, Nottay BK, Kew OM. Geographic distribution of wild poliovirus type 1 genotypes. *Virology*. 1987 Oct;160(2):311–22.
67. Dourell SF. Seasonal Variation in Host susceptibility and cycles of Certain Infectious Diseases. *MMWR* 2001; 7(3):1-32.
68. Joshi MS, Walimbe AM, Chitambar SD. Evaluation of genomic regions of hepatitis A virus for phylogenetic analysis: Suitability of the 2C region for genotyping. *J Virol Methods*. 2008 Oct;153(1):36–42.
69. Desbois D, Couturier E, Mackiewicz V, Graube A, Letort M-J, Dussaix E, et al. Epidemiology and genetic characterization of hepatitis A virus genotype IIA. *J Clin Microbiol*. 2010;48(9):3306–15.
70. Holmes AW, Deinhardt F, Wolfe L, Froesner G, Paterson D, Casto B, et al. Specific neutralization of human hepatitis type A in marmoset monkeys. *Nature*. 1973 Jun;243(5407):419–20.
71. Deinhardt F, Holmes AW, Capps RB, Popper H. Studies on the transmission of human viral hepatitis to marmoset monkeys. I. Transmission of disease, serial passages, and description of liver lesions. *J ExpMed*. 1967 Apr;125(4):673–88.

72. Theamboonlers A, Abe K, Thongmee C, Poovorawan Y. Complete coding sequence and molecular analysis of hepatitis A virus from a chimpanzee with fulminant hepatitis. *J Med Primatol*. 2012 Feb;41(1):11–7.
73. Provost PJ, Hilleman MR. Propagation of human hepatitis A virus in cell culture in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1979 Feb;160(2):213–21.
74. Tsarev SA, Emerson SU, Balayan MS, Ticehurst J, Purcell RH. Simian hepatitis A virus (HAV) strain AGM-27: comparison of genome structure and growth in cell culture with other HAV strains. *J Gen Virol*. 1991 Jul;72 (Pt 7):1677–83.
75. Endo K, Takahashi M, Masuko K, Inoue K, Akahane Y, Okamoto H. Full-length sequences of subgenotype IIIA and IIIB hepatitis A virus isolates: characterization of genotype III HAV genomes. *Virus Res*. 2007 Jun;126(1-2):116–27.
76. Jansen RW, Siegl G, Lemon SM. Molecular epidemiology of human hepatitis A virus defined by an antigen-capture polymerase chain reaction method. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Apr;87(8):2867–71.
77. Costa-Mattioli M, Cristina J, Romero H, Perez-Bercof R, Casane D, Colina R, et al. Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein. *J Virol*. 2002 Sep;76(18):9516–25.
78. Bosch A, González-Dankaart JF, Haro I, Gajardo R, Pérez JA, Pintó RM. A new continuous epitope of hepatitis A virus. *J Med Virol*. 1998 Feb;54(2):95–102.
79. Sulbaran Y, Gutierrez CR, Marquez B, Rojas D, Sanchez D, Navas J, et al. Hepatitis A virus genetic diversity in Venezuela: exclusive circulation of subgenotype IA and evidence of quasispecies distribution in the isolates. *J Med Virol*. 2010 Nov;82(11):1829–34.
80. Laurain A, Pol S. Manejo de las hepatitis víricas en atención primaria. EM-consulte [Internet]. 2016 Dic [citado 18 Oct 2021]. Disponible en:

<https://www.em-consulte.com/es/article/1097683/>

manejo-de-las-hepatitis-

viricas-en-atencion-primar

81. de la Vega Bueno A, Lledín Barbancho MD. Hepatitis víricas. *Pediatr Integral* [Internet]. 2020 [citado 18 Oct 2021];XXIV(1):15-27. Disponible en: https://cdn.pediatrintegral.es/wp-content/uploads/2020/xxiv01/02/n1-015-027_AngelaVega.pdf

82. Muñoz Martínez SG, Díaz Hernández HA, Suárez Flores D, Sánchez Ávila JF, Gamboa Domínguez A, García Juárez I, et al. Manifestaciones atípicas de la infección por el virus de la hepatitis A. *Rev Gastroenterol Méx* [Internet]. 2018 Abr-Jun [citado 18 Oct 2021];83(2):134-43. Disponible en: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-manifestaciones-atipicas-infeccion-por-el-articulo> S0375090618300636

83. Arredondo Bruce AE, Prez Trujillo I, Arredondo Rubido AE. Nuevos progresos en el enfrentamiento a la Hepatitis C. *Rev méd electrón* [Internet]. 2018 [citado 18 Oct 2021];40(2). Disponible en: http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/1899/html_393

84. Galoppo M, Lezama Elecharri C, Solaegui M, Torres S, Galoppo C. Hepatitis virales en la infancia. *Rev Hosp Niños* [Internet]. 2016 [citado 18 Oct 2021];58(261):73-82. Disponible en: <http://revistapediatria.com.ar/wp-content/uploads/2016/07/261-73-82-Hepatitis.pdf>

85. Link Gelles R, Hofmeister MG, Nelson NP. Use of hepatitis A vaccine for post-exposure prophylaxis in individuals over 40 years of age: A systematic review of published studies and recommendations for vaccine use. *Vaccine* [Internet]. 2018 May [citado 18 Oct 2021];36(20):2745-2750. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29673941/>.

86. Salas Zapata L. Boletín Epidemiológico de las Hepatitis Virales en Colombia, 2015–2018 [Internet]. Bogotá: Minsalud; 2020 [citado 13 Oct 2021]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos-y-publicaciones/Bolet%C3%ADn-Epidemiol%C3%B3gico-de-las-Hepatitis-Virales-en-Colombia-2015-2018>

gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/boletin-hepatitis-2020-finalv2-05082020.pdf

87. Casanovas Taltavull T. ¿Qué debemos saber sobre la prevención de los diversos tipos de hepatitis víricas: Virus A, ¿B, C, D y E [Internet]? Barcelona: ASSCAT; 2018 [citado 18 Oct 202]. Disponible en: <https://asscat-hepatitis.org/wp-content/uploads/sesion-2-paciente-experto-abril.pdf>

88. Lhomme S, Marion O, Abravanel F, ChapuyRegaud S, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E pathogenesis. *Viruses*. 2016; 8(8), 212. <https://doi.org/10.3390/v8080212>

89. van Tong H, Hoan NX, Wang B, Wedemeyer H, Bock C T, Velavan T P. Hepatitis E virus mutations: functional and clinical relevance. *EBioMedicine*. 2016; 11: 31-42. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.07.039>

90. Pischke S, Hartl J, Pas S D, Lohse A W, Jacobs B C, Van der Eijk A A. Hepatitis E virus: infection beyond the liver? *J Hepatol*. 2017; 66(5): 1082-95. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.11.016>

91. Zhao C, Wang Y. Laboratory diagnosis of HEV infection. *Adv Exp Med Biol*. 2016; 948: 191209. https://doi.org/10.1007/978-94-024-09420_11/COVER/

92. Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Lhomme S, Miedougé M, Peron JM, Alric L et al. Performance of anti-HEV assays for diagnosing acute hepatitis E in immunocompromised patients. *J Clin Virol*. 2013; 58(4): 624-8. <https://doi.org/10.1016/J.JCV.2013.10.003>

93. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Ginebra: OMS; ©2022 [citado 13 Oct 2021]. Hepatitis A. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a> <http://revistaamc.sld.cu/>

94. Andani A, van Elten TM, Bunge EM, Marano C, Salgado F, Jacobsen KH. Hepatitis A epidemiology in Latin American countries: a 2020 view from a systematic literature review. *Expert Review of Vaccines* [Internet]. 2020 Sep [citado 13 Oct 2021];19(9):795-805. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/14760584.2020.1813575>

95. Marc G. Ghany, T. Jake Liang. Acute Viral Hepatitis. En: Daniel Podolsky. Yamada's Textbook of Gastroenterology. 6th edition. USA: Wiley Blackwell; 2016. 1886-1915.
96. Protocol Molecular detection and typing of VP1-2A region of Hepatitis A virus (HAV). Dutch National Institute of Public Health and the Environment (RIVM). Acceso (24 de septiembre de 2024, disponible en <https://www.rivm.nl>)
97. Jothikumar, N.; Cromeans, T.L.; Robertson, B.H.; Meng, X.J.; Hill, V.R. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J. Virol. Methods* 2006, 131, 65–71.
98. Ministerio de Salud de Chile. Situación epidemiológica de la Hepatitis A. 9 de diciembre de 2003. Disponible en : <http://www.epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/hepatitisA.htm>
99. PENERO, MS. Investigación de casos y riesgos de transmisión de Hepatitis viral tipo A. Barreal, provincia de San Juan, Mayo, 2002. 16 de diciembre de 2003. Disponible en: <http://www.direpi.vigia.or.ar/PRÉSSEC/pdf/ENFERMEDADES/TRANSMISIBLES/HEPATITIS/ETHEinformefinal-1.pdf>
100. Balmaseda A, Mas P, Delgado G, Ribas M, Rodríguez L. 1994. Estudio de brotes de hepatitis A ocurridos en C. de la Habana en el año 1991. *Rev Cubana Med Trop* 46:42–45.
101. Montalvo MC, Trujillo A, Rodríguez L, Goyenechea A, Bello M, Gutiérrez A, Sariego S. Acute hepatitis E virus infection in a Cuban patient. *Internat J of Infect Dis* 2005;9(5):286-7.
102. Rodríguez L, Quintana A, Montalvo MC, Lemos G, Bello M, Gutiérrez A, Aguiar P, Guzmán MG, Anderson D. Dual Infection with Hepatitis A and E Viruses in Outbreaks and in Sporadic Clinical Cases. Cuba 1998 – 2003. *J of Med Virol* 2008; 80(5):998-802.
103. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu; European Association for the Study of the Liver. EASL

Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol.* 2018;68(6):1256-71.

104. Ministerio de Salud Pública. Anuario estadístico de salud [Internet];2023 [2024 MAY 07]. La Habana: MINSAP. Disponible en : <https://temas.sld.cu/estadisticassalud/>

105. Arora NK, Nanda SK, Gulati S, Ansari IH, Chawla MK, Gupta SD, Panda SK: Acute viral hepatitis types E, A, and B singly and in combination in acute liver failure in children in north India. *J Med Virol.* 1996, 48:21521. 10.1002/(SICI)1096-9071(199603)48:3<215::AID-JMV1>3.0.CO;2-B

106. CDC. Surveillance for waterborne Disease Outbreaks. United States 1996-1996. *MMWR* 1997;46:129-35

107. Padrón Guillermo J. Bases moleculares para el estudio de las hepatitis virales. La Habana, Elfos Scientiae 1998.

108. Pereira F, Goncalves C. Hepatitis A. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(3):387-400.

109. Webb GW, Kelly S, Dalton HR. Hepatitis A and Hepatitis E: Clinical and Epidemiological Features, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Clin Microbiol Newsl.* 2020;42(21):171-179. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2020.10.001.

110. Berdasquera Corcho Denis, Galindo Santana Belkys María, Gala González Ángela. Hepatitis viral A: seis años de vigilancia en Guanajay. *Rev Cubana Med Gen Integr* [Internet]. 2006 Sep [citado 2024 Oct 07] ; 22(3) : . Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252006000300001&lng=es.

111. CDC. Hepatitis A vaccination of Man Who have Sex with Man. Atlanta, Georgia, 1996-1997. *MMWR* 1987;36(16):241-4.

112. Pérez A, Comportamiento territorial de los factores de riesgo que influyen en la transmisión de hepatitis viral A en la provincia de La Habana. *Biblio 3W, Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales, Universidad de*

Barcelona, Vol. X, nº 576, 10 de abril de 2005. [<http://www.ub.es/geocrit/b3w-576.htm>]. [ISSN 1138-9796].

113. Martínez R, Rodríguez L, Díaz B et al: Estudio clínico, epidemiológico y virológico de un brote de hepatitis viral. *Vaccimonitor*, 2:10-13, 2002.

114. Munné, M; Cañero Velasco, MC; Moreiro, R; Vladimírsky, S; Otegui, L; Castro, R; et al. Duración de la viremia y la excreción fecal del virus en niños con Hepatitis A. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 36(4), 2006, pp. 182-189.

115. Chitambar SD, Joshi MS, Sreenivasan MA, Arankalle VA. Fecal shedding of hepatitis A virus in Indian patients with hepatitis A and in experimentally infected Rhesus monkey. *Hepatol Res* 2001;19:237-246.

116. Poovorawan Y, Theamboonlers A, Chongsrisawat V, Jantaradsamee P, Chutsirimongkol S, Tangkijyanich P. Clinical features and molecular characterization of hepatitis A virus outbreak in a child care center in Thailand. *J Clin Virol* 2005;32:24-28

117. Grace M.S. Tjon, Roel A. Coutinho, Anneke van den Hoek, Sylvia Esman, Clementine J. Wijkmans, Christian J.P.A. Hoebe, Bert Wolters, Corien Swaan, Ronald B. Geskus, Nicole Dukers, and Sylvia M. Bruisten. High and Persistent Excretion of Hepatitis A Virus in Immunocompetent Patients. *Journal of Medical Virology* 78:1398–1405 (2006).

118. Sainokami S, Abe K, Ishikawa K, Suzuki K. 2005. Influence of load of hepatitis A virus on disease severity and its relationship with clinical manifestations in patients with hepatitis A. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1165–1175.

ANEXOS

Anexo 1

Datos del paciente

Nombre y Apellidos:

No. carné de identidad:

Edad:

Dirección particular:

Municipio:

Provincia:

Fecha de ingreso:

Hora:

Fecha inicio de síntomas:

Fecha toma de muestra:

Síntomas y signos clínicos:

Impresión diagnóstica:

Antecedentes de COVID-19 (fecha): N/R

Vacunación anti-COVID-19 última dosis (fecha):

Tipo de vacuna anti-COVID-19:

Nota:

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y CLÍNICOS:

El modelo a utilizar es el establecido para el diagnóstico microbiológico con todos los datos del paciente. Se enviará el modelo con todos los datos de interés recogidos en el mismo. Se anexará un resumen de Historia Clínica del caso.

RECORDAR QUE LOS MODELOS (PAPEL) CON LOS DATOS DEL PACIENTE VAN SEPARADOS DE LAS MUESTRAS (DEL CONTENEDOR PRIMARIO), DENTRO DE UN SOBRE DE NYLON.

Investigación epidemiológica de casos sospechosos, probables y confirmados de hepatitis aguda grave

Relación de contactos desde el inicio de los síntomas			
Nombre y apellidos	Edad	Centro de trabajo o estudios	Dirección del domicilio
Contactos intradomiciliarios			
Contactos extradomiciliarios			
Observaciones:			
APP:			
Antecedentes de hepatitis:			
Medicamentos:			
Operaciones:			
Transfusiones:			
Tatuaje:			
Piercing:			
Vacunación:			
Agua de consumo:			
Condiciones de la vivienda:			
Animales:			
Disposición de los residuales:			
Consumo de alimentos en la calle:			
Antecedentes de haber viajado:			
Antecedentes de haber recibido visitas del exterior:			
Baño en río:			
Resumen del estudio de contactos			
	≤ de 15 años	> de 15 años	
Reportados			
Estudiados			
Sospechosos			
Quimioprofilaxis			