

HEPATITIS B OCULTA (OBI) Y
MUTACIONES EN EL GEN
DEL ANTÍGENO DE
SUPERFICIE. IMPLICANCIAS
Y CAUSAS EN LA INFECCIÓN
POSTRANSFUSIONAL POR
VIRUS DE LA HEPATITIS B

TM Marco Moreno

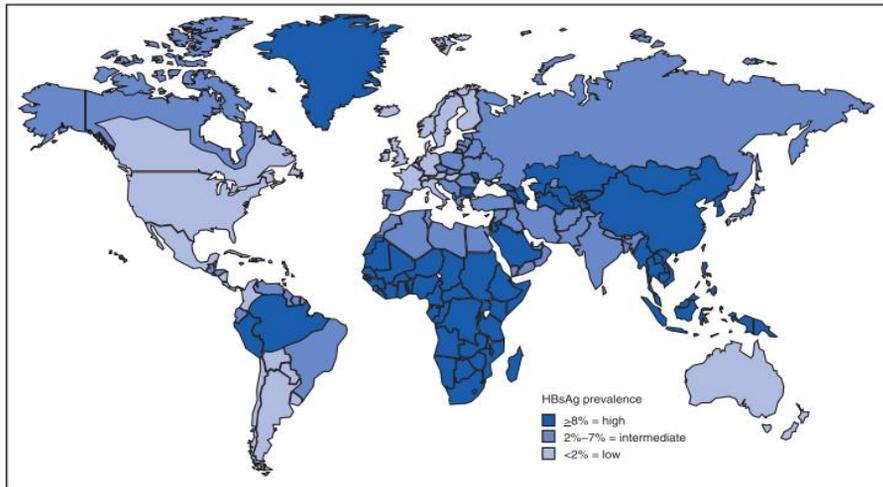
Colaborador: TM Guillermo Jerez

Marzo, 2016

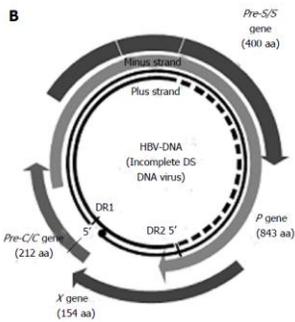
Introducción

- VHB: Enfermedad viral endémica en el mundo
- 2.000 millones de infectados
 - 360 millones con infección crónica
 - 8%: fases crónicas de la enfermedad
 - Hepatitis crónica
 - Carcinoma hepatocelular
- 1 millón de muertes al año

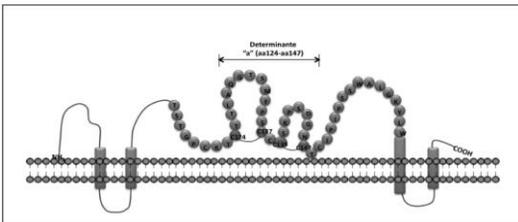
Prevalencia del VHB



Division of Viral Hepatitis; CDC (2015)



World Journal of hepatology 7(3), 583-592 (marzo 2015)

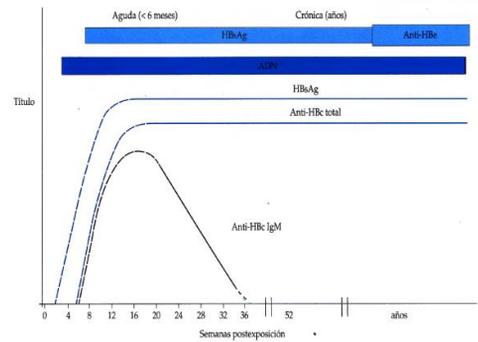
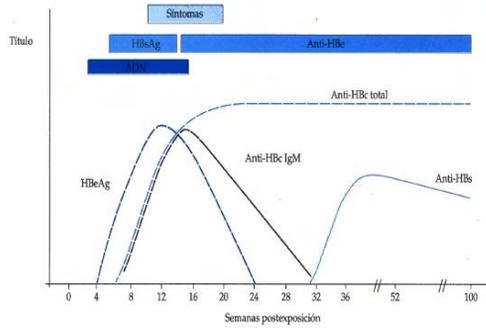


Acta Médica Colombiana 32(2), 190-197 (2015)

VHB

- 4 ORFs
- 4 genes
 - C: HBcAg y HBeAg
 - X: HBx
 - P: Polimerasa viral
 - S: 3 formas de HBsAg
 - HBsAg L
 - HBsAg M
 - HBsAg S
- HBsAg: 4 dominios transmembrana
- RHP (residuos 101 al 169)
- Determinante antigénico: "determinante a"

Etapas de la infección



Virología Clínica, Ed Mediterráneo, Santiago, Chile (2011)

Reactividad serológica	Infección inicial aguda	Infección aguda	Infección crónica
Anti-HBc	negativo	positivo (Ig M)	positivo
Anti-HBe	negativo	negativo	negativo
Anti-HBs	negativo	negativo	negativo
HBeAg	positivo	positivo	positivo
HBsAg	positivo	positivo	positivo
Virus infeccioso	positivo	positivo	positivo

Microbiología Médica, 6th ed; Barcelona (2009)

Detección del VHB

- HBsAg, HBeAg
- AntiHBs, AntiHBe y AntiHBc
- Ensayos disponibles: Enzima inmunoensayos EIA
 - ELISA, CLEIA
- Diagnóstico molecular
 - Métodos de hibridación de ácidos nucleicos
 - Métodos de amplificación de ácidos nucleicos
- No detección del HBsAg: ¿Remisión de la enfermedad?
- 1970: Infección oculta o silente: “AntiHBc *alone*”
- Bajos niveles de ADN
- Infección oculta por el VHB (OBI)

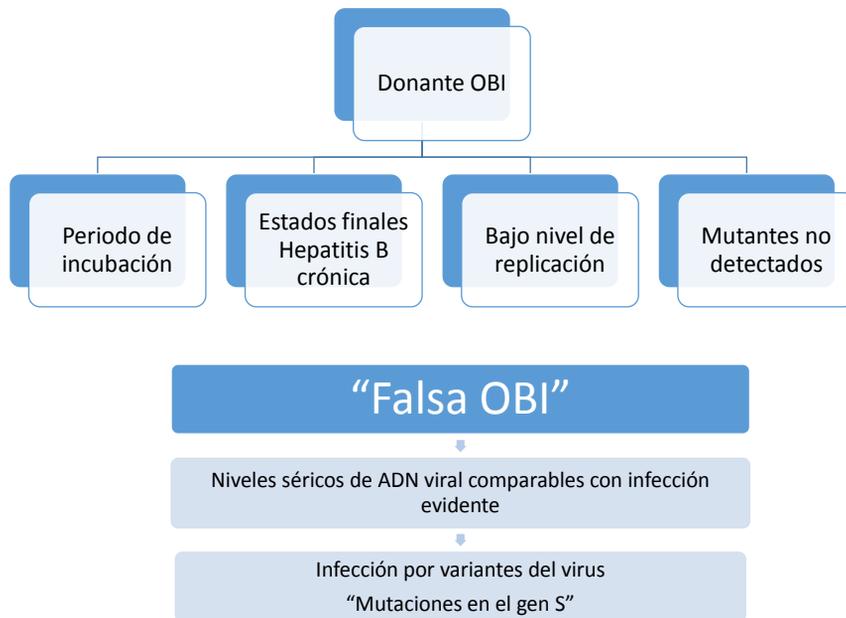
Infección oculta por el VHB (OBI)

- 2008 Taormina, Italia: “Declaraciones Taormina”

HBsAg negativo
ADN del VHB
ADN < 200 UI/ml

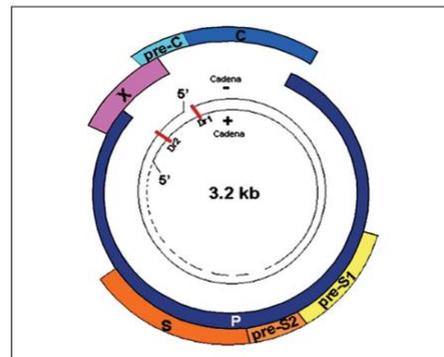


OBI seropositivos: AntiHBc y/o AntiHBs (+)
OBI seronegativos: AntiHBc y AntiHBs (-)



Mutaciones en el gen del HBsAg

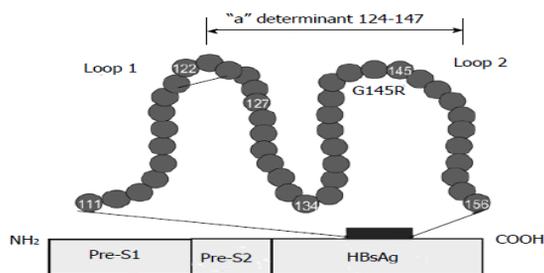
- Tasas de mutaciones:
 - 10 veces más alta que otros virus
 - 100 veces más alta que en el genoma humano
- Serología negativa
 - Mutaciones en la región S
 - Mutaciones en la región X
- Disminución síntesis y secreción:
 - Mutación región PreS



Rev Chilena de Infectología 32; 190-197 (2015)

Mutaciones en el “determinante a”

- Variantes de escape (a.a. 137-147)
- Falsos negativos para el HBsAg (modificación del epítipo)
- Polimerasa del VHB carece de actividad exonucleasa 3' ► 5'
- G145R (glicina → arginina)
 - Estable
 - Capacidad de replicación conservada
- Identificado en individuos vacunados y en pacientes transplantados



World Journal of Hepatology 7(3); 583-592 (marzo 2015)

Selección positiva de variantes de escape

Variantes de escape del VHB identificados en estudios de población infantil en Taiwán

Población de estudio	1984	1989	Año		2004
			1994	1999	
Muestras analizadas marcadores de VHB	1.200	1.134	1.515	1.357	7.234
Muestras analizadas para ADN-VHB en suero	148	91	65	71	94
Muestras seropositivas para ADN-VHB	103	51	32	13	31
Muestras con mutaciones en determinante "a"	8/103 (7,8%)	10/51 (19,6%)	9/32 (28,1%)	3/13 (23,1%)	7/31 (22,6%)
Variantes de escape identificadas en determinante "a"	T126A M133L F134L C138S T140R T140I T143M D144A	T126A P127T Q129H S143W G145R G145R W156L	T125A P120Q+P127T T126A+T143M T126S+D144H D144H+G145R T140P N146S T148I C147R+C149R	T131I G145R	T126A M133L F134L+T148A G145R G145A W156C

Revista Chilena de Infectología 32(2), 190-197 (2015)

Influencia de otras mutaciones

Distribución de las mutaciones en los aminoácidos de diferentes regiones del HBsAg encontradas en un estudio en Malasia

α Determinant region (124–147 aa)	MHR (100–160 aa)	Outside MHR
T125K	V106F	Q16K, G18V, G18R, G18M, L95Stop
D144G	S117R	T37N, T37I, S61Stop, F19L, F20L, W35R, W35G, W36C, W36R, G50A, G50D, G50V, H60P, H60S, R73L, I82L, V168L
T125A	C121W	T23I, V47G, C48G, C48V, L49I, Q54H
T125I	T123N	I25N, S55P, S55G, L12Q, L12P, L12R
S132C	T148A	V14L, V14G, Q16R, V180G, N52S, D99G
M133L	S155X	P29L, L13F, P11T, Q56T, S58Y, S132T
	A157D	I65Stop, L15Stop, I28T, I28E, S59R
	T125K	S59N, S64F, S64G, I68V, C69F, C90F
	D144G	C90R, C90S, F93V, F93L, L94M, I92H
	T125A	I92L, Q51Stop, F80L, C85G, C85F, C85L
	T125I	I86F, I86V, T63S, L88M, T27R, Q30R
	S132C	D33N, D33S, N40D, P62H, P62Q, R78W
	M133L	L89R, W74R, P66L, L39I, L39T, K24Q
	P151L	I57T, S53Y, Q54Stop
	L109P	
Total: 6	15	90

Eur J Clin Microbiol Infect Dis 34(7), 1349-1359 (2015)

Influencia de la carga viral

Characterization of donor and recipient HBV infection

Donante			Receptor		
VL (IU/ml)	HBsAg loop mutations	HBV DNA	VL (IU/ml)	% Homology	Clinical liver disease
5,3	P142L, S143L, D144E, G145K, I150T, F158L	POSITIVE	3.400	100	Acute liver failure

Transfusion 53, 1405-1415 (julio 2013)

- Cambios conformacionales dentro o fuera de la RHP
- Síntesis o secreción reducida del HBsAg

Detección de OBI y variantes de escape Países con los respectivos años que han implementado NAT. (Marzo 2015)

- Detección de AntiHBc
- Métodos moleculares NAT
 - PCR
 - TMA
 - Protocolos: MP (16-24) ID
 - Formato MPX
- CRJ MP500, MP50 (2000), MP20 (2004)
CRA MP16 (AntiHBc, HBsAg)
- Suiza y Japón: Directrices modificadas

Año	País
1997	Alemania
1999	Austria, Japón
2004	Singapur, España
2005	Polonia, Francia, Sud África
2006	Grecia, Italia, Portugal, Tailandia
2007	China (Hong Kong), Kuwait, Malasia, Nueva Zelandia, Eslovenia, Suiza
2008	Finlandia, Israel, Letonia, Holanda, Taiwán
2009	EE UU, Dinamarca, Irlanda, Reino Unido
2010	Australia, Escocia, Canadá
2012	Corea del Sur

TABLE 1. HBV screening algorithm applied at JRC blood centers*

Anti-HBc reactive	Anti-HBc titer	
	Low	High
4.9%	<2 ⁶ (2 ⁵) or	≥2 ⁶ (2 ⁵) or
261,000, 49,000	S/CO ≥ 1.0 but < 12.0	S/CO ≥ 12.0
Anti-HBs ≥ 200 IU/L	Accepted	Accepted
	2.04%	1.38%
	108,000, 20,000	73,000, 14,000
Anti-HBs < 200 IU/L	Accepted	Rejected
	1.31%	0.19%
	69,000, 13,000	10,000, 2,000

Transfusion 53, 1393-1404 (2013)

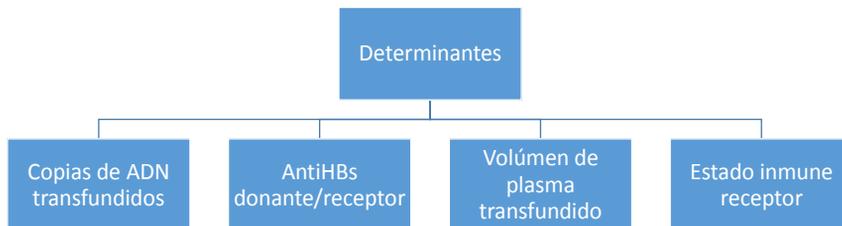
Experiencia con NAT

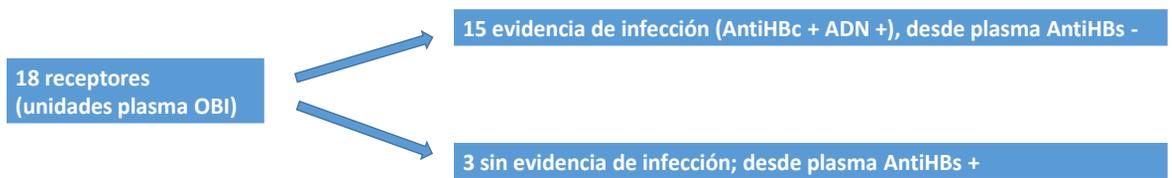
País	Años	Donantes	AntiHBc	NAT rendimiento (ADN +)	referencia
Australia	2000-2012	1.312.451	S/D	50	Vox Sanguis 105, 2013
India	2005-2006	2.175	413	31	Indian J Med 132, 2010
Sud África	2005-2009	36.100	S/D	2	Transfusion 53, 2013
E.E.U.U.	2009-2010	6,5 millones	S/D	142	Transfusion 52(2), 2011
Berna, Suiza	2007-2009	306.000	5	7	Transfusion 50, 2010
E.E.U.U.	2009-2011	12,8 millones	238	35	Transfusion 53, 2013
Malasia	2014	1.000	55	55	Eur J Clin Microbiol Infect Dis 34(7), 2015

- 2006, Suiza → 20.000 AntiHBc +/HBsAg - (2013 → 131 → 3 ADN + (OBI); 128 ADN -)

Infección transmitida por transfusión

- Décadas atrás principal fuente de infección
- Donaciones en periodo de ventana (90%)
- Variantes del virus
- Casos OBI





Transfusion 53, 2449-2458 (2013)

TABLE 4. Impact of anti-HBs in transfused products or in vaccinated recipients on OBI infectivity

Category	Anti-HBc positive in recipients/total (%)			
	All products	RBCs	PC	FFP
All*	45/105 (42.9)	23/74 (31.5)†	6/12 (50.0)	16/19 (84.2)
All receiving anti-HBs-positive blood	4/26 (15.4)	3/19 (17.6)	1/4 (25.0)	0/3 (0)
All receiving anti-HBs-negative blood	41/80 (51.3)	20/55 (35.7)	5/8 (62.5)	16/17 (94.1)
Unvaccinated patients receiving anti-HBs-negative blood‡	28/44 (63.6)	9/23 (39.1)	4/6 (66.7)	15/15 (100)
Adjusted rate (%) of transmission after deduction of 15% background anti-HBc	48	24	51	85

* All donors identified as OBI carried anti-HBc and all recipients considered infected were anti-HBc positive.
† One RBC unit and PC unit were transfused to the same recipient; the RBCs were not counted.
‡ Recipients for whom no information regarding vaccination was available were excluded.

Transfusion 53, 1405-1415 (2013)

- Infección por transfusión subestimada
 1. Decisión de cancelar o no realizar pruebas pre y postransfusionales
 2. Baja cobertura de vacunación
 3. Falta de manifestaciones clínicas
 1. Bajo nivel de datos documentados
 4. Dificultad de realizar búsqueda retrospectiva

- Riesgo residual
 - Reducción al menos a la mitad
 - E.E.U.U.: 1/765.000 – 1/1.006.000 a 1/843.000 – 1/1.208.000
(Ultrio frente a UltrioPlus; MP16)

Antes de NAT: 1/280.000 – 1/357.000

- RR desconocido en muchos países
 - Australia: Aplicación de NAT
 - Detección ADN junto con HBsAg

Discusión

- La introducción de NAT ha sido un éxito
- Experiencias distintas entre los estudios
 - MP frente a ID
- Ventajas de tener técnicas moleculares en el algoritmo de detección
- Prescindir de screening del HBsAg
 - Casos OBI
 - Variantes de escape
- Detección “AntiHbc *alone*”
 - Diferidos o excluidos definitivamente

- Casos OBI remitidos al servicio de salud
- Costo/Efectividad
- Tendencia a la reducción de los pools de muestras
- Estrategias para proporcionar sangre microbiológicamente segura
 - Donantes altruistas y de repetición
 - Entrevista
 - Estudio microbiológico
 - Vigilancia activa

Conclusión

- Muchos aspectos de OBI ya son conocidos
- Se deben evaluar las nuevas metodologías disponibles
- OBI y variantes de escape tienen un real impacto en la salud pública
- Sudamérica no está libre del peligro
- En Chile... ¿estamos preparados?