

## **Optimización del diagnóstico molecular de la infección aguda por el virus de la hepatitis E.**

**Referencia original:** Lopez-Lopez P, Frias M, Perez-Jimenez AB, Freyre-Carrillo C, Pineda JA, Aguilera A, Fuentes A, Alados JC, Reina G, Ramirez-Arellano E, Viciano I, Mesquita J, Caballero-Gomez J, Rivero-Juarez A, Rivero A; HEPAVIR and GEHEP-014 Study Groups. Optimization of the molecular diagnosis of the acute hepatitis E virus infection. *Microb Biotechnol.* 2023 Jun;16(6):1325-1332. doi: 10.1111/1751-7915.14247.

**Resumen:** Este artículo evalúa el valor diagnóstico que tiene, en la infección aguda por el virus de la hepatitis E (VHE), utilizar la combinación de dos ensayos de PCR de amplio espectro dirigidos a regiones diferentes y conservadas del genoma viral, ORF3 y ORF1. Para ello, se analiza prospectivamente, en 470 pacientes con sospecha de hepatitis aguda, la presencia de anticuerpos específicos Anti-VHE-IgM junto a la viremia del VHE determinada con ambos ensayos de PCR.

En base a los resultados (Figura 1 original), 145 (30,8%) pacientes fueron diagnosticados de hepatitis aguda por VHE. De ellos, 122 (84,1 %) presentaron Anti-VHE-IgM y 81 (55,8 %) tenían ARN viral detectable para al menos una de las PCR. Mientras que en 64 (44,1%) pacientes la infección por VHE se identificó solamente con la presencia confirmada de anticuerpos Anti-VHE-IgM, usando el ensayo para ORF3 fueron identificados 70 (48,3%) y 49 (33,8%) cuando se aplicó el ensayo para ORF1. Por su parte, el ensayo ORF3 detectó ARN viral en 32 pacientes no detectados por el ensayo ORF1 y por contra, el ensayo ORF1

pudo amplificar ARN viral en 11 pacientes que no fueron detectados por el ensayo ORF3.

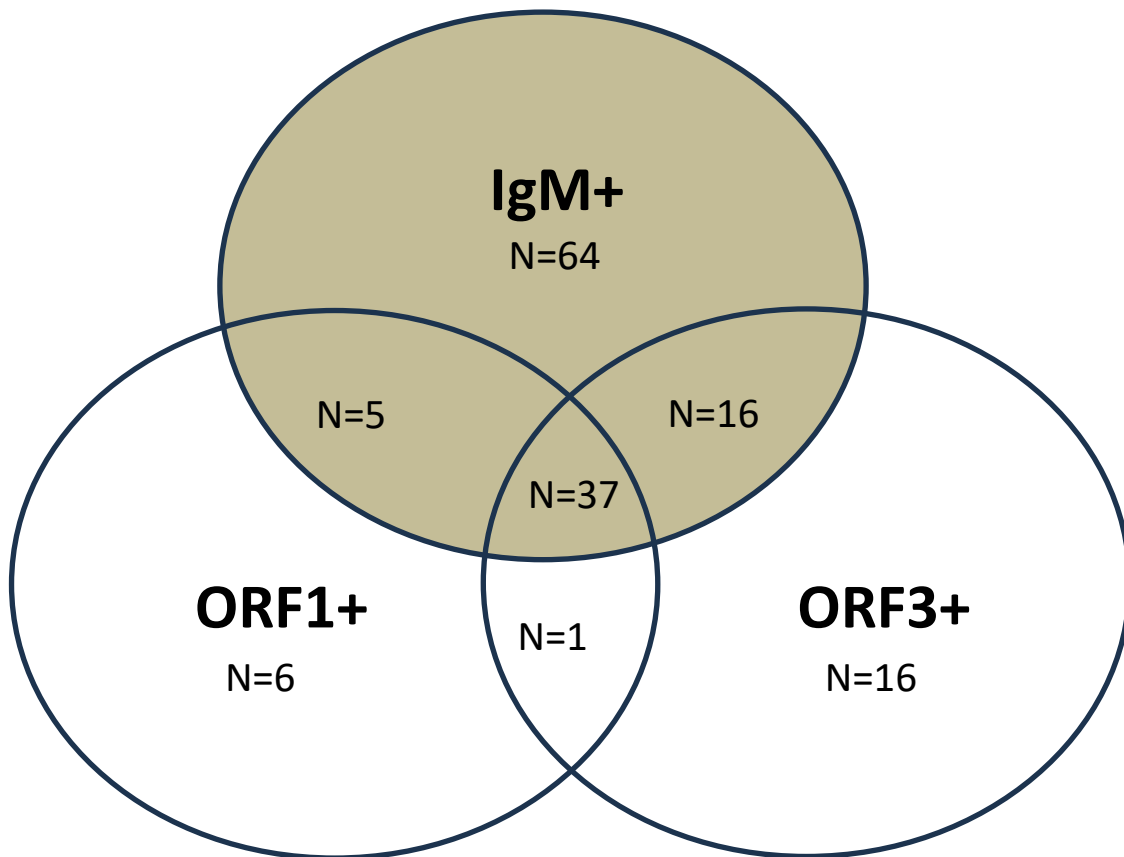


Figura 1. Diagrama de Venn para los 145 pacientes con Hepatitis E aguda basada en anticuerpos IgM y dos ensayos de PCR

En conclusión, el uso en paralelo de dos ensayos de PCR de amplio rango dirigidos a las regiones ORF1 y ORF3 del genoma viral del VHE aumenta significativamente el rendimiento del diagnóstico molecular de la infección por VHE.

**Comentario:** Es bien sabido, que entre las causas del déficit diagnóstico que afecta a la hepatitis E se encuentran la presentación asintomática de la enfermedad, un diagnóstico diferencial erróneo y también dificultades inherentes al propio diagnóstico microbiológico, como pueden ser la corta duración de la viremia, el algoritmo utilizado y el uso en el cribado de ensayos serológicos y

moleculares que pueden presentar una deficiente sensibilidad y especificidad. En este sentido, las diferentes guías de práctica clínica existentes incorporan recomendaciones para minimizar estas causas con indicaciones de cribado y algoritmos que combinan obligatoriamente el uso de métodos indirectos (Anti-VHE-IgM) y directos (ARN-VHE) con el fin de aumentar la eficiencia diagnóstica. Aun así, esto puede no ser suficiente y deberán contemplarse estrategias diferentes basadas principalmente en la detección molecular, auténtico “gold estándar” en el diagnóstico virológico de la infección activa, sea esta crónica o no.

Sin embargo, esta tarea no es fácil por las limitaciones de los actuales ensayos moleculares, que como señalan los autores incluyen su baja sensibilidad para la detección de algunos genotipos endémicos de Europa (3f), su no evaluación para genotipos nuevos y emergentes y finalmente su incapacidad para detectar algunos géneros de la familia Hepeviridae, que como Rocahepevirus han demostrado tener potencial zoonótico de especial gravedad.

Por estas razones y por la no disponibilidad por el momento de ensayos moleculares para el VHE de tipo PCR multiplex o alelo-específica, se propone en el artículo un enfoque alternativo para aumentar el rendimiento del diagnóstico molecular e incrementar su valor clínico. Con este fin, los autores combinan por primera vez dos ensayos de PCR de amplio rango, previamente descritos y validados, que permiten respectivamente la detección pangnotípica del género Paslahepevirus y también la de especies del género Rocahepevirus (*R. rattii*).

Procedimentalmente, el ensayo pangnotípico de PCR cuantitativa en tiempo real está dirigido a la región ORF3, mientras que el dirigido a una zona

conservada de ORF1 abarca la detección de Rocahepevirus y consiste en una RT-PCR anidada.

Como era de esperar, la combinación de estos dos ensayos moleculares incrementa un 15,8% la tasa de diagnóstico obtenida solo con el test de anticuerpos. Sin embargo, llama la atención que individualmente estos dos ensayos adolecen de la sensibilidad necesaria para la detección del genotipo 3f (ambos ensayos) y/o el género Rocahepevirus (ensayo ORF3), hechos también observados de manera más acusada en kits comerciales, lo que ocasiona discrepancias en sus resultados. Estas, son especialmente significativas (30%) y relevantes con el genotipo 3f por haberse asociado este con una presentación más grave de la enfermedad.

No obstante, aun así parece aconsejable recomendar esta estrategia en entornos de alta prevalencia mientras no se optimice en una qPCR multiplex que combine ambos métodos, si bien considerando las reticencias procedimentales que el empleo de una RT-PCR anidada ocasiona actualmente en los laboratorios de microbiología clínica.

Finalmente, mientras al diagnóstico molecular de la infección por VHE no llegan ensayos multiplex o paneles sindrómicos, el diseño de nuevas estrategias que como esta aumentan el rendimiento y permiten la detección de genotipos emergentes, constituye un paso más en esta difícil, apasionante e inacabada tarea de su mejora.

Antonio Aguilera

Servizo de Microbioloxía.

Complexo Hospitalario Universitario de Santiago

Santiago de Compostela (A Coruña)