

Artículo original

Coinfección de hepatitis B y/o hepatitis C en pacientes infectados por virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

Cristina Gutiérrez*, Pierina D'Angelo, Doneyla Sánchez, Gladys Ameli, Elsa Patricia Chacón

Laboratorio de Programas Especiales Hepatitis y Sida. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela.

Recibido 13 de octubre de 2011; aceptado 26 de abril de 2012

Resumen: La coinfección con los virus de hepatitis B (VHB) y/o hepatitis C (VHC) puede provocar complicaciones en el paciente VIH+. El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de marcadores serológicos en la coinfección del VHB y/o VHC en plasmas de pacientes infectados por VIH y su correlación con el estatus virológico del VIH e inmunológico del paciente. Se evaluaron 1.846 plasmas positivos para VIH, referidos al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" para la determinación de marcadores serológicos del VHB y VHC. Se realizaron análisis de carga viral del VIH-1 y recuento de linfocitos T CD4+/CD8+ para evaluar el estatus virológico e inmunológico, respectivamente de la población estudiada. La frecuencia de coinfección por VHB ó VHC fue de 15% y 5%, respectivamente mientras que la coinfección VHB/VHC fue de 0,16% (3/1.846) en pacientes infectados por VIH. No se observó asociación entre presencia de marcadores serológicos del VHB ó el VHC y bajos ó elevados niveles de ARN genómico del VIH ($p=0,81$ y $p=0,31$, respectivamente) ni valores bajos ó normales del índice CD4/CD8 ($p=0,75$ y $p=0,06$, respectivamente). Estos resultados sugieren que la coinfección con VHB o VHC no parece influir en los estatus virológico e inmunológico de la población evaluada.

Palabras clave: coinfección, VHC, VHB, carga viral, paciente VIH+, recuento linfocitario CD4+/CD8+.

Hepatitis B and/or hepatitis C co-infection in patients infected by the human immunodeficiency virus (HIV)

Abstract: Co-infection with hepatitis B (HBV) virus and/or hepatitis C (HCV) virus can induce complications in HIV+ patients. The purpose of this study was to evaluate the frequency of serologic markers in HBV and/ or HCV in plasma of HIV infected patients, and its correlation with the HIV viral status and the immunological status of the patient. The study included the evaluation of 1,846 HIV positive plasmas referred to the Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" for the determination of HBV and HCV serologic markers. The evaluation of the viral and immunological status was done by the analysis of the HIV-1 viral load and CD4+/CD8+ T lymphocyte counts, respectively, in the population studied. The frequency of HBV or HCV co-infection was 15% and 5%, respectively, while HBV/HCV co-infection was 0.16% (3/1,846) in HIV infected patients. There was no association between the presence of HBV or HCV serologic markers and low or normal values of the HIV genomic RNA ($p=0.81$ and $p=0.31$, respectively) nor low or normal values of the CD4/CD8 index ($p=0.75$ and $p=0.06$, respectively). These results suggest that HBV or HCV co-infection does not seem to influence the viral and immunological status of the evaluated population.

Keywords: co-infection, HBV, HCV, viral load, HIV+ patients, CD4+/CD8+ T lymphocyte counts.

* Correspondencia:
E-mail: cristicharo@gmail.com

Introducción

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y los virus de hepatitis B y C (VHB y VHC, respectivamente) representan las tres infecciones crónicas virales más documentadas a nivel mundial [1]. Estos virus comparten vías de transmisión muy similares, especialmente a través del contacto con sangre y sus derivados, en usuarios de drogas intravenosas

y en personas con actividad sexual sin la debida protección, lo cual conlleva a un riesgo de transmisión más elevado de todos los virus implicados en casos de coinfección del VIH con el VHB y/o VHC, constituyendo un problema de interés en materia de salud pública [2-3].

Numerosos estudios han evidenciado que la coinfección del VHB es más común que la producida por el VHC en pacientes infectados por el VIH [1]. No obstante, se le ha

dado mayor atención a la coinfección VIH-VHC debido a la alta frecuencia de hepatitis C crónica, acelerada progresión de enfermedad hepática y elevada mortalidad en pacientes con VIH. En Estados Unidos se ha estimado que el 30% de individuos con VIH se encuentran igualmente infectados por el VHC. Por otra parte, en diversas partes del mundo, se ha reportado un 90% a 95% de individuos VIH+ con evidencia serológica de infección pasada o presente por VHB [4].

Más de 500 millones de personas a nivel mundial están infectadas o con VHB y/o VHC persistente y en riesgo de desarrollar una infección hepática crónica o cirrosis carcinoma hepatocelular [5]. En personas infectadas por VIH, de 2-4 millones están coinfectados crónicamente con el VHB y 4-5 millones están coinfectados con el VHC [6].

Aunque diversas investigaciones han demostrado que la infección por VIH propicia una hepatitis C o una hepatitis B más agresiva, con riesgo elevado de daño hepático, estudios sobre cómo el VHB y/o el VHC inciden en la severidad de la infección por VIH son escasos y discrepantes en los resultados obtenidos.

Las hepatopatías virales crónicas representan actualmente una de las causas más frecuentes de hospitalización y mortalidad en los pacientes VIH+ [7]. Así mismo, la coinfección VHB con VHC también puede exhibir alta tasa de progresión a cirrosis [8].

Por todo lo anteriormente expuesto, en el presente estudio nos propusimos evaluar la frecuencia de marcadores serológicos virales específicos en la coinfección del VHB y/o VHC en plasma de pacientes con diagnóstico confirmado para la presencia del VIH, correlacionando luego la presencia de coinfección de VHB y/o VHC con el estatus virológico a través de la determinación de la carga viral del VIH y su relación con el estatus inmunológico del paciente a través del recuento de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+.

Materiales y métodos

Población estudiada: Se analizaron un total de 1.846 plasmas sanguíneos provenientes de pacientes infectados por VIH, de ambos géneros y rango de edades comprendidos entre 1 y 52 años, referidos al Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR) durante el período: septiembre 2002 - mayo 2007. Los pacientes evaluados presentaban diagnóstico confirmado de VIH por pruebas de ELISA y análisis de Western blot. Las muestras se recolectaron y analizaron en el Laboratorio de Programas Especiales del INHRR.

Debido a que la información sobre la historia clínica de los pacientes infectados por VIH pertenecientes a la población evaluada fueron obtenidos mediante entrevista al momento de la toma de la muestra, no fue posible dilucidar si se trataba de una hepatitis B aguda ó crónica en aquellos casos de coinfección VHB/VIH.

La correlación entre la presencia de marcadores serológicos del VHB y VHC con la carga viral del VIH fue evaluada en 1045 plasmas referidos al INHRR para la determinación de carga viral del VIH pertenecientes a la población estudiada,

de los cuales 404 habían sido referidos igualmente para el análisis serológico de VHB y 641 fueron referidos para el despistaje de hepatitis C.

La correlación entre la presencia de marcadores serológicos del VHB y VHC con la relación entre las subpoblaciones linfocitarias CD4/CD8 de la prueba de inmunofenotipaje fue analizada en 870 plasmas referidos al INHRR para el análisis de inmunofenotipaje (recuento de linfocitos T CD4/CD8), de los cuales 330 plasmas habían sido referidos igualmente para la determinación serológica del VHB y 540 plasmas fueron referidos para el despistaje serológico de hepatitis C.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del INHRR en el marco del Proyecto, titulado: "Caracterización molecular del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y su relación con otros virus de hepatitis" financiado por el INHRR, no existiendo conflicto de intereses.

Evaluación serológica: En las muestras de plasma de la población evaluada se realizaron determinaciones de antígeno de superficie del VHB (Ag_sHB), anticuerpos contra el antígeno de superficie (anti-HBs), anticuerpos contra la cápside viral (anti-HBc) y anticuerpos anti-VHC por inmunoensayos tipo ELISA de tercera generación para cada marcador serológico (HBsAg Uni-Form II Hepanostika-Biomerieux, anti-HBc Uni-Form Hepanostika-Biomerieux, Bioelisa anti-HBs Biokit, respectivamente), según especificaciones del producto.

Recolección y procesamiento de las muestras para determinación de la carga viral del VIH-1 e inmunofenotipaje: Se obtuvieron dos muestras de sangre completa preservadas con EDTA al 10% por cada paciente: una para análisis de carga viral y la otra para recuento linfocitario. Se obtuvo plasma a partir de una de las muestras de sangre completa mediante centrifugación a 14.000 rpm por 10 minutos dentro de las 2 horas de recolección. Los plasmas sanguíneos obtenidos fueron inmediatamente almacenados a -70 °C hasta la realización del análisis de carga viral.

Carga viral del VIH: La muestra de plasma obtenida por paciente fue evaluada para la determinación de carga viral por el ensayo VERSANT HIV-1 branched DNA version 3.0 (Bayer, Alemania), de acuerdo a las especificaciones de la técnica. El rango de cuantificación para el ensayo bDNA versión 3.0 es de 50 a 500.000 copias de ARN/ml y emplea 1 ml de plasma. Brevemente, se basa en la amplificación de una señal en vez de una secuencia específica [3]. El virus es lisado, liberándose su ARN, donde oligonucleótidos sintéticos o sondas (blanco) median la captura del ARN viral a la superficie de un micropozo en una placa de poliestireno. Otras sondas específicas (pre-amplificadora y amplificadora) a su vez permiten la unión del ARN viral a moléculas de ADN ramificadas con múltiples copias de fosfatasa alcalina. Posteriormente, se incuba el complejo con un sustrato quimioluminiscente (dioxetano) y se mide la emisión de luz con un luminómetro. La señal de

quimioluminiscencia obtenida es directamente proporcional a la concentración de ácido nucleico presente en la muestra. El ensayo fue realizado, usando el sistema 340 bDNA Quantiplex automatizado.

Inmunofenotipaje (recuento de linfocitos T CD4+/CD8+): Se analizaron muestras de sangre total recolectadas con EDTA al 10% para determinación del índice CD4/CD8 mediante citometría de flujo (Facs Count, Becton Dickinson).

Análisis estadístico: Se correlacionaron los resultados obtenidos de marcadores serológicos del VHC y VHB con la carga viral del VIH y el índice CD4/CD8 (relación entre el recuento de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+) mediante la prueba de *ji* cuadrado (χ^2), según el programa computarizado SIMCALC para Windows versión beta 1.0. Los valores normales del índice CD4+/CD8+ oscilan entre 1 y 4 [9].

Resultados

La presencia de infección activa por VHB se observó en un 15% (280/1.846 muestras) de los pacientes infectados por VIH estudiados, lo cual se evidenció por la detección de AgsHB y anticuerpos antiHBc en los plasmas pertenecientes a la población evaluada. Se obtuvo evidencia de infección pasada por el VHB mediante la detección simultánea de anticuerpos anti-HBc y anti-HBs en ausencia del AgsHB en 27% (498/1.846 plasmas) de las muestras analizadas.

La coinfección con el VHC se encontró en 5% (98/1.846 pacientes) de los plasmas evaluados. La coinfección VHB (infección activa) y VHC se encontró en 3 de 1.846 pacientes VIH+ (0,16%).

Se evaluó la posible correlación entre la presencia de marcadores serológicos del VHB y VHC con la carga viral del VIH en 1045 plasmas pertenecientes a la población estudiada. No se observó asociación entre presencia de marcadores serológicos específicos para el VHB: AgsHB y anticuerpos anti-HBc (Tabla 1) ó el VHC: anticuerpos anti-VHC (Tabla 2) y bajos ($\leq 3,65$ log) ó elevados ($> 3,65$ log) niveles de ARN genómico del VIH ($p=0,81$ y $p=0,31$, respectivamente). La carga viral del VIH fue baja ($< 3,65$ log) en 3 de los pacientes positivos para la presencia del VHC, quienes resultaron negativos para hepatitis B y elevada ($> 4,56$ log) en 2 de los pacientes infectados por VHC de los cuales en uno se evidenció infección activa al determinar la presencia de AgsHB y anticuerpos anti-HBc y en el otro infección pasada por el VHB, determinado por la

Tabla 1. Carga viral del VIH según presencia o no de VHB en la población estudiada. INHRR. Septiembre 2002- mayo 2007.

Carga Viral (log)	$\leq 3,65$	$> 3,65$	Total
Pacientes VHB+	34	23	57 (14%)
Pacientes VHB-	201	146	347
Total	235	169	404

Tabla 2. Evaluación de la carga viral del VIH (\log_{10}) vs. presencia (VHC+) o ausencia (VHC-) de anticuerpos anti-VHC en la población estudiada.

Carga Viral (log)	$\leq 3,65$	$> 3,65$	Total
Pacientes VHC+	20	7	27 (4%)
Pacientes VHC-	370	244	614
Total	387	251	641

presencia de anticuerpos anti-HBc y anti-HBs en ausencia del AgsHB. Ninguno de los 2 pacientes positivos para VHC con infección activa o pasada por VHB se encontraban bajo tratamiento anti-retroviral ni presentaban sintomatología de hepatitis virales.

Se evaluó la correlación entre la presencia de marcadores serológicos del VHB y VHC y el índice CD4/CD8 de la prueba de inmunofenotipaje en 870 plasmas pertenecientes a la población evaluada. No se encontró asociación entre marcadores serológicos específicos del VHB o del VHC (Tabla 3) y valores bajos ($< 0,7$) o normales ($\geq 0,7$) del índice CD4/CD8 ($p=0,75$ y $p=0,06$, respectivamente).

Tabla 3. Relación entre las subpoblaciones de linfocitos T (r CD4+/CD8+) y presencia o no de los marcadores serológicos específicos de hepatitis B y hepatitis C en la población estudiada. INHRR. Septiembre 2002- mayo 2007.

r CD4+/CD8+	$< 0,7$	$\geq 0,7$	Total
Pacientes VHB+	35	7	42
Pacientes VHB-	240	48	288
Total	275	55	330
Pacientes VHC+	40	2	42
Pacientes VHC-	416	82	498
Total	456	84	540

Discusión

Estudios previos han demostrado una elevada prevalencia de infección por VHB en pacientes infectados por VIH [10]. Los resultados obtenidos indicaron que los casos de infección pasada por VHB fueron más comunes en comparación con aquellos que cursan infección activa por este agente viral, mientras que la coinfección por el VHC parece ser poco frecuente en los pacientes infectados por VIH referidos al INHRR, lo cual coincide con hallazgos reportados por otros autores [11-13]. Por otra parte, se encontró una baja endemicidad (0,3%) de pacientes seropositivos para VIH, coinfectados con VHB y VHC, coincidiendo con estudios realizados anteriormente [11].

Se ha reportado que el índice de riesgo hacia el establecimiento del SIDA resulta significativamente superior en aquellos pacientes coinfectados con VHC en comparación con pacientes infectados únicamente por el VIH [14], sugiriéndose además que el VHC podría causar una interferencia momentánea en la replicación del VIH

[15]. En contraste, otros estudios han sugerido que la coinfección por VHB y/o VHC no afecta la progresión de los pacientes VIH+ hacia SIDA [16-17]. En el presente estudio no se observó asociación entre la presencia de marcadores serológicos específicos de hepatitis B ó C y bajos ó elevados valores de carga viral del VIH-1 y de la relación entre linfocitos T CD4+/CD8+, sugiriendo que la coinfección por VHB ó VHC no se asocia a los estatus virológico e inmunológico de pacientes infectados por VIH en comparación con aquellos individuos seropositivos de la población evaluada que presentaron serología negativa para estas hepatitis virales.

En conclusión, se encontró que la coinfección con VHB es relativamente común en pacientes infectados por VIH, observándose además evidencia serológica frecuente de infección pasada por VHB (27%) y baja endemicidad de coinfección VHC/VIH (5%) en la población evaluada. Se sugiere que la coinfección VHB ó VHC no esta asociada al estatus virológico e inmunológico del paciente infectado por VIH.

Agradecimientos

Al Dr. Héctor Rangel y a la Dra. Flor H Pujol por su valiosa colaboración.

Referencias

1. Saravanan S, Velu V, Kumarasamy N, Nandakumar S, Murugavel KG, Balakrishnan P *et al.* Coinfection of hepatitis B and hepatitis C virus in HIV-infected patients in south India. *World J Gastroenterol.* 2007; 13:5015-20.
2. Treitinger A, Spada C, Ferreira LA, Neto MS, Reis M, Verdi JC *et al.* Hepatitis B and C prevalence among blood donors and HIV-1 infected patients in Florianopolis-Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2000; 4:192-6.
3. Highleyman L. HIV and hepatitis C coinfection. *BETA.* 2003; 15(4):32-44.
4. Eskil A, Magnus P, Petersen G, Sohlberg C, Jensen F, Kittelsen P *et al.* Hepatitis B antibodies in HIV-infected homosexual men are associated with more rapid progression to AIDS. *AIDS.* 1992; 6:571-4.
5. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5:215-29.
6. Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV coinfection. *J Hepatol.* 2006; 44 (Suppl 1):S6-9.
7. Soriano V, García Samaniego J, Rodríguez-Rosado R, González J, Pedreira J. Hepatitis C and HIV infection: biological, clinical and therapeutic implications. *J Hepatol.* 1999; 31 (Suppl 1):S119-23.
8. Liu Z, Hou J. Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) dual infection. *Int J Med Sci.* 2006; 3:57-62.
9. Begtrup K, Melbye M, Biggar RJ, Goedert JJ, Knudsen K, Andersen PK. Progression to acquired immunodeficiency syndrome is influenced by CD4 T-lymphocyte count and time since seroconversion. *Am J Epidemiol.* 1997; 145:629-35.
10. Kellerman SE, Hanson DL, McNaghten AD, Fleming PL. Prevalence of chronic hepatitis B and incidence of acute hepatitis B infection in human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Infect Dis.* 2003; 188:571-7.
11. Manegold C, Apedjinou A. High incidence of fluctuations of hepatitis B serum markers in HIV-infected patients. Program and Abstracts of the 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (11th CROI). San Francisco, California. February 8-11, 2004; 11: abstract n° 831.
12. Toro Rueda C, Ramos Blázquez B, Soriano Vázquez V. Diagnostic, clinical and therapeutic implications of viral hepatitis in HIV-infected patients. *Enf Inf Microbiol Clin.* 2006; 24:30-5.
13. Brook MG, Gilson R, Wilkins EL. BHIVA Guidelines: coinfection with HIV and chronic hepatitis B virus. *HIV Med.* 2003; 4:42-51.
14. Daar ES, Lynn H, Donfield S, Gomperts E, O'Brien SJ, Hilgartner MW *et al.* Hepatitis C virus load is associated with human immunodeficiency virus type 1 disease progression in hemophiliacs. *J Infect Dis.* 2001; 183:589-95.
15. Flichman D, Cello J, Castaño G, Campos R, Sookoian S. In vivo down regulation of HIV replication after hepatitis C superinfection. *Medicina (Buenos Aires).* 1999; 59:364-6.
16. Wright TL, Hollander H, Held MJ, Lipson P, Quan S, Polito A. Hepatitis C in HIV-infected patients with AIDS: prevalence and relationship to patient survival. *Hepatology.* 1994; 20: 1152-5.
17. Thio CL. Management of chronic hepatitis B in the HIV-infected patient. *AIDS Read.* 2004; 14(3): 134-5.