

# Marcadores serológicos y moleculares de infección por el virus de la hepatitis B en estudiantes universitarios colombianos

## Serological and molecular markers for Hepatitis B virus in university students

Henry Bautista Amorocho,<sup>1</sup> Yeny Zulay Castellanos Domínguez,<sup>2</sup> Ana Elvira Farfán García.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas. Investigador Grupo de Investigaciones en Manejo Clínico - CliniUDES. Profesor del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Santander (UDES), Bucaramanga, Colombia.  
e-mail: henbat22@yahoo.com

<sup>2</sup> Bacterióloga y Laboratorista Clínico, Magíster en Epidemiología (c). Investigadora Grupo de Investigaciones en Manejo Clínico - CliniUDES. Profesora del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Santander (UDES). Campus Universitario Lagos del Cacique. Bucaramanga, Colombia.

<sup>3</sup> Bacterióloga y Laboratorista Clínico, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas. Especialista en Docencia Universitaria. Investigadora y líder Grupo de Investigaciones en Manejo Clínico - CliniUDES. Profesora del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad de Santander (UDES), Campus Universitario Lagos del Cacique. Bucaramanga, Colombia.

Este trabajo fue presentado en el XX Congreso Latinoamericano de Parasitología y en el XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical en Bogotá, Colombia, bajo la modalidad de póster. Septiembre 27 a octubre 1 de 2011.

Fecha recibido: 21-06-12  
Fecha aceptado: 23-10-12

### Resumen

**Introducción:** Reportes de la OMS demuestran que la carga de infección por el virus de la hepatitis B (VHB) varía de acuerdo con la región geográfica y el grupo de riesgo.

**Propósito:** Determinar la prevalencia de infección por el VHB y el estatus de vacunación en estudiantes universitarios de Bucaramanga.

**Metodología:** Estudio descriptivo de corte transversal realizado en el 2010. Se incluyeron 1.298 estudiantes de cinco universidades. Se identificaron marcadores serológicos de infección para el VHB por ELISA y el genoma viral se detectó mediante PCR anidado.

**Resultados:** Se estableció infección activa en 0,15%, confirmada por PCR; infección resuelta a 0,60%; 1,1% anti-HBc aislado, 30,2% vacunados y 67,9% susceptibles. No se evidenció hepatitis B oculta.

**Conclusiones:** La baja prevalencia de infección por el virus de la hepatitis B reportada en el presente estudio contrasta con el patrón epidemiológico intermedio descrito en la región. Se encontró una baja cobertura de vacunación y ausencia de hepatitis B oculta en los estudiantes universitarios.

### Palabras clave

Virus de la hepatitis B, prevalencia, serología, PCR anidado, Colombia; estudiantes.

### Abstract

**Introduction:** Reports from the World Health Organization (WHO) show that the prevalence of hepatitis B virus (HBV) infections varies by geographical region and risk group.

**Purpose:** The purpose of this study was to determine the prevalence of HBV infections, as well as the vaccination status, among university students from Bucaramanga.

**Methodology:** This was a cross sectional study conducted in 2010 which included 1298 students from five universities. Serological markers for HBV infection were detected using ELISA. Viral genomes were detected with nested polymerase chain reaction (PCR).

**Results:** Active infections were established in 0.15% of the study population, and this finding was confirmed by PCR. Resolved infections were identified in 0.60% of the population. Isolated anti-HBc antibodies were found, 30.2% of vaccinated individuals. 67.9% of the study population was susceptible. No occult HBV was detected.

**Conclusions:** The low prevalence of HBV infections reported in this study contrasts with the intermediate epidemiological pattern described in the region. We found poor vaccination coverage and absence of occult hepatitis B among these university students.

### Key words

Hepatitis B virus, prevalence, serology, nested PCR, Colombia, students.

## INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) representa un problema de salud pública mundial. Actualmente se estima que dos mil millones de individuos han estado en contacto previo con el virus y de estos cerca de 350 millones presentan infección crónica. Cada año ocurren entre 600.000 y 1,2 millones de muertes como consecuencia de las complicaciones de la hepatitis aguda o crónica. Alrededor del 25% de los casos crónicos desarrolla cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) (1) y se considera que el VHB es su principal agente (2, 3). Esta fase crónica se caracteriza por la persistencia de marcadores serológicos, antígenos de la envoltura (HBsAg) y anticuerpos de la clase IgG contra el core o la proteína central del VHB (anti-HBc) (4).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció tres categorías para definir el patrón epidemiológico de endemidad para el VHB en el mundo, con base en la prevalencia del marcador HBsAg en la población general. De esta forma, se han caracterizado regiones de alta (HBsAg mayor del 8%), intermedia (2 al 7%) y baja (inferior al 2%) prevalencia (5-7).

El conocimiento del patrón epidemiológico del VHB en cada país es de vital importancia para establecer el riesgo poblacional de adquirir la infección por el virus y definir la ruta más frecuente de transmisión (8, 9). Por ejemplo, en zonas de alta prevalencia, el riesgo es mayor al 60% y la mayoría ocurre de forma vertical durante el embarazo o en la temprana infancia. Contrario a lo anterior, en territorios con patrón de endemidad bajo, el riesgo de adquirir el virus es inferior al 20% y, en la edad adulta, se contrae principalmente por vía sexual (8, 10).

En algunos países de Latinoamérica existe una amplia variación en la distribución del VHB (9, 11). Este comportamiento complejo ha sido descrito particularmente en Colombia. En el 2008, los departamentos con prevalencia alta incluyeron a Amazonas, Guainía, Guaviare y Tolima; prevalencia intermedia a Huila, Arauca, Norte de Santander, Casanare, Santander, Caldas, Guajira, Vichada Cesar, Boyacá, Magdalena, Cundinamarca, Antioquia, Meta Risaralda, Bolívar y Bogotá D.C., el resto de territorio corresponde a departamentos con prevalencia baja (12).

Adicionalmente, en Colombia la prevalencia de infección determinada por la positividad al HBsAg difiere según el grupo de riesgo. Por ejemplo, en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en dos estudios, uno en Medellín y otro en Barranquilla fue 2,1 y 2,9% (13, 14), en multitransfundidos de Bogotá y Medellín correspondió a 2,6% (15), mientras que en un estudio multicéntrico realizado entre 1992 y 1994 en donantes de sangre de 10 ciudades colombianas, el porcentaje varió entre 0,04 y 4,05%. En este estudio, Bucaramanga y Valledupar presenta-

ron los valores más altos de prevalencia (1,12% y 4,05% respectivamente) (16). En un trabajo realizado en la población general de cuatro departamentos colombianos se identificó entre 1,97 y 8,39% casos positivos de hepatitis B (17).

En el 2002, el departamento de Santander presentó una tasa de incidencia de hepatitis B entre 2,16 y 3,9 por 100.000 habitantes con un riesgo alto para adquirir la infección en ese periodo (18). Posteriormente, en el año 2009, la incidencia de hepatitis B aumentó a 4,6 por 100.000 habitantes (19).

Por otra parte, los estudios de tamizaje para los marcadores serológicos del VHB en diferentes poblaciones demuestran que la prevalencia de anti-HBc es mayor que el HBsAg (20-22). Igualmente, cada vez se hacen más frecuentes los hallazgos del estado de "anti-HBc aislado" en ausencia del HBsAg (22-26). En los casos de "anti-HBc aislado" se ha identificado la presencia de genoma viral por pruebas moleculares en sangre o tejido hepático con una frecuencia variable según el grupo de riesgo, la sensibilidad de las pruebas moleculares, el patrón epidemiológico local y la prevalencia de los diferentes genotipos en la población (22, 24, 27-36). La detección del ADN viral en el hígado, en presencia o ausencia del virus en sangre periférica de los individuos negativos para el HBsAg, se denomina infección oculta por el virus de la hepatitis B o hepatitis B oculta (HBo) y puede presentarse incluso en ausencia de todos los marcadores serológicos (25, 31, 32).

Conocer el comportamiento epidemiológico del VHB en los diferentes grupos de riesgo permite diseñar programas específicos, como campañas de vacunación y prevención en la población susceptible, o de intervención clínica en pacientes portadores crónicos con riesgo de desarrollar cirrosis o CHC, con el propósito de optimizar los recursos y esfuerzos de las instituciones de vigilancia en salud pública. Por lo anterior, se planteó el presente estudio con el fin de determinar la prevalencia de infección por el VHB, HBo y el estatus de vacunación contra el virus en estudiantes universitarios de la ciudad de Bucaramanga.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal entre julio y noviembre de 2010 en cinco universidades de la ciudad de Bucaramanga y área metropolitana del departamento de Santander, Colombia. Se incluyeron instituciones de educación superior de carácter estatal y privado.

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. El cálculo del tamaño de muestra se realizó con base en una prevalencia esperada del 2% teniendo en cuenta el patrón epidemiológico intermedio definido por la OMS para

Colombia (5), error  $\alpha$  del 5% e intervalo de confianza del 95%. De acuerdo con esta información se estimó la inclusión de 1.250 participantes, equivalente a 250 estudiantes por cada institución.

### Reclutamiento de participantes

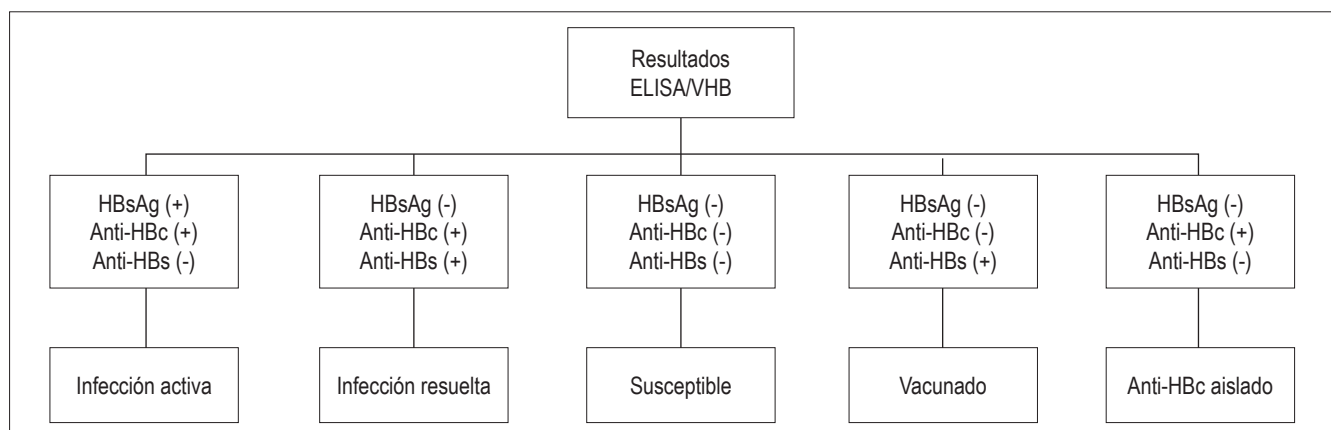
Para el ingreso de los investigadores se solicitó autorización en la rectoría de cada universidad participante. Una vez obtenido el permiso, se sensibilizó a la población estudiantil mediante folletos y afiches con información básica del VHB, enfermedades hepáticas asociadas a la infección, mecanismos de transmisión y estrategias de prevención. Los estudiantes interesados se acercaron de forma voluntaria, se les explicó personalmente los objetivos del estudio y los que decidieron participar firmaron el consentimiento informado. Como criterio de inclusión se tuvieron en cuenta edades entre los 18 y 40 años debido a que en este rango se presentan comportamientos de riesgo previamente descritos y que facilitan la transmisión del virus como el alcoholismo, drogadicción y promiscuidad sexual (37, 38). Adicionalmente, se exigió la presentación del carné que lo acreditaba como estudiante activo y el documento de afiliación a una Entidad Promotora de Salud (EPS). No se solicitó el carné de vacunación contra la hepatitis B como requisito de inclusión. De cada participante se colectó información sociodemográfica que incluyó nombres completos, documento de identificación, edad en años, sexo y el nombre de la EPS. Esta información se usó exclusivamente con el fin de elaborar el reporte con los resultados de las pruebas de laboratorio, los cuales fueron entregados de forma confidencial en cada oficina de Bienestar Universitario.

### Recolección de las muestras

Posterior a la entrevista, se extrajo 5 ml de sangre venosa del antebrazo en tubos estériles al vacío sin anticoagulante utilizando el sistema BD Vacutainer®. Las muestras previamente identificadas con un código consecutivo fueron transportadas al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas (LIBB) del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la UDES, en donde fue separado el suero mediante centrifugación a 3.500 r.p.m por 10 minutos. Se realizaron alícuotas en viales de 1,5 ml y se almacenaron a -80 °C hasta su procesamiento.

### Detección de marcadores serológicos del VHB mediante inmuno ensayo enzimático

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado mediante Enzyme-Linked Immuno-Absorbent Assay (ELISA) para la detección de los siguientes marcadores de infección por el VHB: HBsAg, anti-HBs y anticuerpos totales contra la proteína core del VHB (anti-HBc total). Se utilizaron kits de la marca Bioelisa® (Biokit, S.A. 08186 Lliçà d'Amunt - Barcelona, España) con equipos semiautomatizados. El control de calidad interno fue realizado con sueros control negativo y positivo para cada marcador, donados por el Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander. Adicionalmente, se realizó control externo de los ensayos mediante el envío del 10% de los sueros positivos y negativos a un laboratorio de referencia en la ciudad de Bogotá, Colombia. En la figura 1 se muestra la forma como se interpretaron los resultados de los marcadores serológicos de infección por el VHB como infección activa, infección resuelta, estadio susceptible, vacunado o anti-HBc aislado.



**Figura 1.** Algoritmo de estadios de infección por el VHB según los marcadores serológicos. ELISA: Enzyme-Linked Immuno-Absorbent Assay. VHB: Virus de la hepatitis B. HBsAg: Antígeno de superficie del VHB. Anti-HBc: Anticuerpos totales contra la proteína core del VHB. Anti-HBs: Anticuerpos contra el antígeno de superficie del VHB.

## Pruebas moleculares para la detección del genoma del VHB

La detección del genoma del VHB se llevó a cabo mediante dos protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) anidado los cuales amplifican dos regiones diferentes del genoma viral. El primero correspondió al protocolo previamente descrito por Zeng, et al. (39); el segundo, un ensayo casero estandarizado en el LIBB. A 200 µl de suero de las muestras que fueron HBsAg(+)/anti-HBc(+) (infección activa) o HBsAg(-)/anti-HBc(+)/anti-HBs(-) (anti-HBc aislado) y al 10% de las negativas para los tres marcadores serológicos evaluados, se les extrajo el ácido desoxirribonucleico (ADN) con el método de columnas de sílica gel (Mini Blood, QIAgen®) según el protocolo descrito por el fabricante.

El diseño de los primers para la PCR del ensayo casero se realizó con las secuencias prototipo de los 8 genotipos del VHB obtenidas del GenBank, que fueron alineadas con el programa Clustal Wallis. Las regiones conservadas del virus fueron editadas con EditSeq y usadas para elaborar los dos sets de primers con el programa PrimerSelect, los cuales amplifican un fragmento de la región de la polimerasa viral y precore-core. Todos los análisis bioinformáticos se hicieron con el software Lasergene 8,1 (DNASTAR Inc, Madison, WI, USA).

La mezcla de PCR se preparó en un volumen final de 50 µl con la adición de los primers en una concentración de 200 nM, 5 U de Taq polimerasa Platinum High Fidelity (Invitrogen®), 200 µM de cada dNTP (Invitrogen®), 1X de buffer de PCR de alta fidelidad (Invitrogen®) y 8 µl de ADN. En la primera ronda se utilizaron los primers forward HB-F1 (1100-1126 5'- TTC GCCAACTTACAAGGCCCTTTCTCT-3') y reverse HB-R1 (2326-2304 5'- GAGTGCGAATCCCACTCCAAA-3') para un producto esperado de 1226 pares de bases. El programa de amplificado consistió en un ciclo inicial de denaturación a 94 °C por 2 minutos, seguido de 40 ciclos a 94 °C por un minuto, alineamiento a 57 °C por 30 segundos y extensión de 68 °C por 2 minutos con un ciclo final a 68 °C por 5 minutos. Durante la segunda ronda de PCR se usaron los primers internos forward HB-Inner F2 (1228-1247 5'- ATCAGCGCATGCGTGGAACC-3') y reverse HB-Inner R2 (1854-1877 5'- TTGGAGGCTTGA ACAGTGGGACAT-3') y se siguieron las mismas condiciones de ciclado de la primera ronda, a excepción del alineamiento a 61 °C, cuyo amplificado fue de 649 pares de bases.

El producto de la PCR se resolvió en gel de agarosa al 1,3% y se visualizaron en luz ultravioleta previa tinción con bromuro de etidio. Como control para todas las etapas de la PCR se emplearon los mismos sueros control positivo

y negativo de las pruebas serológicas mencionadas anteriormente. El límite de detección del ADN viral mediante la PCR anidado casero correspondió a 120 copias/ml de suero, establecido con el kit COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, v2.0.

## Aspectos éticos

Los estudiantes fueron invitados a participar voluntariamente en el estudio, informándoles claramente los objetivos del mismo, riesgos, beneficios y confidencialidad de los resultados. Cada uno se registró con un código en donde se omitió el nombre. La autorización para usar la información con propósitos investigativos en este y en estudios posteriores relacionados con el tema quedó registrada mediante la firma del consentimiento informado. El protocolo de investigación y consentimiento informando fueron revisados y aprobados por el comité de Ética de la Universidad de Santander en conformidad con lo dispuesto en la resolución No. 008430 del 4 de octubre de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

## Entrada y análisis de los datos

Los datos obtenidos se registraron en una base de datos de Excel (Microsoft Office, 2007) y los análisis se realizaron con el software Stata 10,0 (Stata Corp. 2007. Stata Statistical Software: Release 10. College Station, TX: StataCorp LP). Se calcularon las proporciones de las frecuencias obtenidas para los datos demográficos y de laboratorio. Las frecuencias para cada estadio de infección fueron establecidas de acuerdo a la interpretación serológica previamente descrita. Para cada frecuencia observada se establecieron los intervalos de confianza del 95%.

## RESULTADOS

La muestra final estuvo conformada por 1.298 estudiantes, proporcional a cada una de las universidades. La razón según el sexo mujer: hombre por institución fue: USTA, 1,57; UIS 0,47; UNAB, 1,07; UDES 1,58; Y UTS, 0,41. En total, 47,3% fueron mujeres y 52,7% fueron hombres con edades entre los 18 a 39 años (promedio 21 años DS 3,01) (tabla 1).

De acuerdo con los resultados del ELISA, se encontró prevalencia de infección activa por VHB en 0,15% de la población, infección resuelta en 0,61% y anti-HBc aislado en 1,1%, lo cual equivale a 1,85% (n= 24) de estudiantes universitarios que han tenido contacto previo con el VHB. Por otra parte, en 30,2% (n= 392) se detectaron títulos de anticuerpos anti-HBs por vacunación igual o mayor a 10 UI/L y en 67,9% (n= 882) no se identificaron marcadores

**Tabla 1.** Distribución de los estudiantes participantes en el estudio según la Institución Universitaria en la ciudad de Bucaramanga y área metropolitana.

Institución	Participantes n(%)	Edad promedio (rango)	Femenino n(%)	Masculino n(%)
Universidad Santo Tomás de Aquino –USTA–	268 (20,7)	21 (18-38)	164 (61,2)	104 (38,8)
Universidad Industrial de Santander –UIS–	263 (20,3)	22 (18-36)	84 (31,9)	179 (68,1)
Universidad Autónoma de Bucaramanga –UNAB–	259 (19,9)	21 (18-33)	134 (51,7)	125 (48,3)
Universidad de Santander –UDES–	256 (19,7)	22 (18-34)	157 (61,3)	99 (38,7)
Unidades Tecnológicas de Santander –UTS–	252 (19,4)	22 (18-39)	74 (29,4)	178 (70,6)
Total	1298 (100)		613 (47,3)	685 (52,7)

serológicos con las pruebas serológicas empleadas, definidos como susceptibles (tabla 2). En conclusión, se observó baja prevalencia de infección por el VHB y anticuerpos por vacunación, con una alta proporción de estudiantes susceptibles de adquirir el virus.

Las pruebas moleculares por PCR anidado permitieron confirmar los resultados de infección activa en los 2 sueros HBsAg(+)/anti-HBc(+) determinados por ELISA. Sin embargo, no se detectó la presencia de genoma del VHB en las 14 muestras que fueron positivas para el anti-HBc aislado, en las 8 de infección resuelta ni en el 10% (n= 88) de los negativos para los tres marcadores serológicos (tabla 2). En conclusión, se encontró 0% de prevalencia de HBo en las muestras analizadas.

**Tabla 2.** Frecuencia de estadios de infección por el VHB en la muestra analizada.

Estadio	Frecuencia	
	n (%)	IC95 <sup>a</sup>
Infección activa	2 (0,15)	0,019-0,55
Infección resuelta	8 (0,61)	0,26-1,20
Anti-HBc aislado	14 (1,1)	0,59-1,80
Vacunado	392 (30,2)	27,71-32,78
Susceptible	882 (67,9)	65,33-70,48
HBo	0 (0%)	
Total	1298 (100)	

<sup>a</sup>IC 95: intervalo de confianza de 95%.

La positividad para los estadios de infección activa y anti-HBc aislado fue similar tanto para hombres como para mujeres, excepto en la infección resuelta (37,5 y 62,5% respectivamente). En general, la edad promedio para hombres osciló entre 21 y 26 años, mientras que para las mujeres fue de 19 a 25 (tabla 3).

Del total de la población estudiada, 882 (67,9%) no presentaron positividad para los marcadores serológicos evaluados (estadio susceptible), a diferencia de 392 (30,2%), en quienes se confirmó el estado vacunados contra el VHB

mediante ELISA; la edad promedio y el sexo fueron similares para los dos grupos (tabla 4).

**Tabla 3.** Características demográficas de los estudiantes con marcadores de infección por el VHB.

Tipo de infección	Masculino		Femenino		n total
	n (%)	Edad promedio en años	n (%)	Edad promedio en años	
Activa	1 (50)	26	1 (50)	19	2
Resuelta	3 (37,5)	21	5 (62,5)	25	8
Anti-core aislado	7 (50)	21	7 (50)	23	14
Total	11 (45,8)		13 (54,2)		24

## DISCUSIÓN

En este estudio se investigó la prevalencia de marcadores serológicos de infección en 1.298 estudiantes procedentes de cinco universidades de la ciudad de Bucaramanga y su área metropolitana durante el periodo comprendido entre julio y noviembre del año 2010. Se analizaron variables demográficas como sexo y edad, así como la positividad a tres marcadores serológicos del VHB anti-HBc, anti-HBs y HBsAg determinados por ELISA. Adicionalmente, se implementaron dos protocolos de PCR anidados para investigar la frecuencia de HBo en los casos positivos para anti-HBc aislado y en el 10% de los negativos para los tres marcadores.

Para nuestro conocimiento, este es el primer estudio epidemiológico que determinó la prevalencia de la hepatitis B en estudiantes universitarios en nuestra región. En términos globales, las prevalencias de anti-HBc de 1,1% y HBsAg de 0,15% fueron inferiores a las descritas previamente en el departamento de Santander por otros autores (12, 16, 33). Sin embargo, los datos colectados en estos estudios corresponden en su mayoría a población de donantes de sangre, casos sintomáticos reportados al sistema de vigilancia en salud Pública (SIVIGILA) y población general.

**Tabla 4.** Características demográficas de estudiantes vacunados y susceptibles.

Sexo	Susceptibles			Vacunados		
	n (%)	IC95 <sup>a</sup>	Edad promedio (DE) <sup>b</sup>	n (%)	IC95 <sup>a</sup>	Edad promedio (DE) <sup>b</sup>
Masculino	487 (55,2)	51,86- 58,53	22 (3,0)	187 (47,7)	42,66-52,77	20,9 (2,49)
Femenino	395 (44,8)	41,47- 48,14	21 (3,0)	205 (52,3)	47,22-57,33	20 (2,0)
Total	882 (100)			392 (100)		

<sup>a</sup> IC95: Intervalo de confianza del 95%.

<sup>b</sup> DE: Desviación estándar.

Es probable que el nivel educativo y socioeconómico tenga un papel preponderante en la protección contra la infección por el VHB, lo cual ha generado conciencia para las prácticas sexuales seguras. En una cohorte de estudiantes adolescentes de la República Central de África, se encontró prevalencia de infección por el VHB de 15,5%, asociada con la no utilización del condón, pobreza y bajo nivel de educación (40). La edad y el sexo no mostraron asociación con la infección o inmunidad frente al virus por vacunación, tal como se observó en el presente estudio.

Nuestros resultados contrastan con los hallazgos de un estudio epidemiológico reciente en cuatro regiones colombianas, en donde se evaluaron los marcadores serológicos de anti-HBc y HBsAg para determinar la prevalencia de hepatitis B en una población general. Los hallazgos mostraron prevalencias de anti-HBc de 54,55, 18,38, 3,95 y 31,69% en los departamentos del Amazonas, Chocó, San Andrés y Magdalena respectivamente, mientras que HBsAg fue de 7,95, 3,70, 1,97 y 8,39% en el mismo orden. Las frecuencias promedio de anti-HBc y HBsAg para estos cuatro departamentos fueron de 28,43% y 5,66%, lo que ratifica a nuestro país como zona de prevalencia intermedia para el VHB, como ha sido definido por la OMS y otros (5-7).

La baja prevalencia de infección por el VHB en la población universitaria es un dato interesante, que demuestra la importancia del tamizaje para el VHB en distintos grupos de riesgo para definir políticas de salud pública locales. Esta estrategia de tamizaje por grupos de riesgo ha sido implementada en Australia con el fin de canalizar los recursos hacia poblaciones con mayor prevalencia de infección por el VHB y disminuir la carga por CHC en el país (41).

Respecto a otros trabajos sobre la prevalencia de la hepatitis B en estudiantes universitarios, el HBsAg es quizá el marcador serológico más evaluado y para el que se han reportado datos en el rango del 2,5% al 25% en estudiantes del Perú, Japón, Albania, China, Korea y Taiwán (42-45). Nakamura en Japón y Ramírez, et al en Perú encontraron la misma prevalencia de HBsAg (2,5%); el primero con una muestra de 162 estudiantes de Tohoku University College y el segundo con 240 estudiantes de 3 universidades peruanas (42, 44). Los datos obtenidos en dos épocas y países

distintos son superiores a la determinada en este estudio, donde solo 0,15% de los estudiantes presentó infección activa.

Carvalho y colaboradores reportaron recientemente en una muestra de 652 estudiantes entre 17 a 48 años del área de la salud de la Universidad Federal de Bahía, Brasil, una prevalencia de 0,5% de hepatitis B determinada por la reactividad a anti-HBs y anti-HBc (46); estos resultados no difieren en gran manera de los encontrados en este estudio donde la prevalencia de anti-HBc fue de 1,1% y la muestra incluía participantes de todas las carreras profesionales ofrecidas por las instituciones de la ciudad de Bucaramanga.

Una encuesta realizada a 198 estudiantes de medicina (edad 18 a 30 años) de Perú permitió establecer que 35,4% presentaba un esquema de vacunación completo (47). Este porcentaje fue similar al reportado en este trabajo (30,2%). Sin embargo, en nuestro caso el hallazgo es respaldado por la presencia de anticuerpos protectores anti-HBs por ELISA en ausencia del carné de vacunación de los participantes, el cual no se exigió como requisito para participar en nuestro estudio.

En el año 2008, de la Hoz y colaboradores publicaron un trabajo acerca del impacto de la vacuna recombinante contra el VHB en niños colombianos durante los últimos 8 años, luego de su inclusión en el Plan Ampliado de Inmunización (PAI) (48). De forma anticipada, el estudio demostró reducción global del 60-75% en la prevalencia de infección por el VHB y cobertura por vacunación del 91% en una muestra representativa de 2.145 niños entre los 1 y 12 años de edad obtenida a partir de 4 regiones de la cuenca amazónica, considerada zona de prevalencia alta. Contrario a lo anterior, en adultos colombianos se ha demostrado una menor cobertura de la vacuna contra el VHB. Recientemente, el trabajo de Alvarado-Mora, et al (2011) mostró una frecuencia de anticuerpos anti-HBs por vacunación entre 15,3 y 32,88% en adultos, cifras similares a las observadas en el presente estudio, en donde 30,2% de los estudiantes universitarios presentó anticuerpos protectores contra VHB por vacunación  $\geq 10$  UI/L.

Actualmente existe el consenso sobre la protección contra la infección conferida de por vida por la vacuna recom-

binante del VHB, aun en ausencia de anticuerpos protectores anti-HBs (49). De igual forma, se sabe que la vacuna protege de la enfermedad hepática aguda y crónica, incluso a individuos con títulos de anti-HBs menores de 10 UI/L. Los resultados contrastantes de baja prevalencia de infección por el VHB en nuestro trabajo, comparado con la prevalencia intermedia reportada previamente por Alvarado-Mora, et al (2011) y la cobertura de vacunación similar en los dos estudios confirman que otros factores además de la vacuna pueden tener un papel importante en la protección contra la infección por el VHB (17). En el caso de los estudiantes universitarios del área de la salud, el esquema de vacunación contra la hepatitis B es requisito indispensable para adelantar su práctica dado el riesgo que existe con el contacto con fluidos corporales de los pacientes, por consiguiente es frecuente encontrar que estas personas presenten inmunidad frente al virus (50, 51).

La HBO es una forma inusual de la infección por el VHB que cursa con un patrón de marcadores serológicos disímil. Los expertos la definen como la presencia de ADN del VHB en el tejido hepático, en ausencia del HBsAg en sangre periférica, independiente de la presencia o ausencia de genoma viral en suero (30). En individuos sanos, la HBO representa un riesgo elevado de enfermedad crónica y además de transmisión del virus principalmente durante la donación de sangre voluntaria (52, 53).

Un estudio en donantes de sangre demostró que 22 individuos de un total de 55 que recibieron productos sanguíneos provenientes de 5 casos de HBO, adquirieron la infección. De estos, 3 receptores en estado de inmunosupresión desarrollaron falla hepática fulminante (54). Recientemente se demostró en un estudio longitudinal con pacientes cirróticos japoneses que la HBO incrementa 8,25 veces el riesgo de desarrollar CHC (29).

Teniendo en cuenta que en Colombia un número importante de unidades de sangre provienen de las campañas de donación que se realizan en instituciones universitarias, nos propusimos investigar la HBO en esta población. Nuestros resultados de prevalencia del 0% corresponde a lo esperado considerando la baja frecuencia de casos positivos de infección activa por el VHB en estudiantes. En Venezuela, un estudio en 2.075 donantes de sangre con anti-HBc aislado mostró el mismo resultado (34). Adicionalmente en Colombia, Beltrán y colaboradores no detectaron el genoma del VHB en 129 sueros de bancos de sangre con el mismo perfil serológico (55). No obstante, en ambos casos se usó pool de sueros para detectar el genoma viral, lo cual eventualmente podría disminuir la sensibilidad de las pruebas de biología molecular, considerando que la HBO cursa con viremias muy bajas (56).

En esta investigación se usó un kit de extracción y dos ensayos anidados de PCR de alta sensibilidad; sin embargo,

una de las limitantes en la identificación de la HBO fue el bajo número de individuos que presentaron anti-HBc aislado y que fueron analizados con estos ensayos.

## Agradecimientos

A los estudiantes de las universidades que voluntariamente accedieron a participar en este estudio, a las estudiantes del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico María Andrea Quijano Orejarena, Katherine Duarte Mejía, Kelly Yorley Pico Veslin y Yuly Tatiana Martínez Rueda por el apoyo logístico en el estudio serológico, a la doctora Vianney Portilla del Laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander (LDSP) por la donación de sueros controles, a las directivas de las universidades incluidas y a las entidades financiadoras.

## Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran no tener de manera directa o indirecta conflicto de interés de tipo académico, científico, financiero o personal para la publicación de este manuscrito.

## Financiación

Este proyecto fue financiado por COLCIENCIAS, Departamento de Santander, Laboratorio Clínico del Centro de Rehabilitación Integral y la Universidad de Santander UDES en el marco del convenio de cooperación técnica No. 047 de 2006.

## REFERENCIAS

1. World Health Organization [homepage on the Internet]. Hepatitis B. World Health Organization Fact Sheet N° 204 (Revised August 2008) WHO website; 2000. (Consultado el 13 de junio de 2012). Disponible en: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html>
2. Lau WY. Future perspectives for hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)* 2003; 5(4): 206-13.
3. Liao SF, Yang HI, Lee MH, Chen CJ, Lee WC. Fifteen-year population attributable fractions and causal pies of risk factors for newly developed hepatocellular carcinomas in 11,801 men in Taiwan. *PLoS One* 2012; 7(4): e34779.
4. Elgouhari HM, Abu-Rajab Tamimi TI, Carey WD. Hepatitis B virus infection: understanding its epidemiology, course, and diagnosis. *Cleve Clin J Med* 2008; 75(12): 881-9.
5. World Health Organization [homepage on the Internet]. Hepatitis B Vaccines. WHO Web site. 2003. Weekly epidemiological record 2009; 84: 405-420 (Consultado el 13 de junio de 2012). disponible en: <http://www.who.int/wer/2009/wer8440.pdf>

6. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 2006; 28: 112-25.
7. Department of Health and Human Services, CDC; 2008. (Consultado el 1 de Junio de 2012). Disponible en: <http://www.cdc.gov/travel/yellowBookCh4-HepB.aspx#363>.
8. Te HS, Jensen DM. Epidemiology of hepatitis B and C viruses: a global overview. *Clin Liver Dis* 2010; 14(1): 1-21.
9. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012; 30(12): 2212-9.
10. Hwang EW, Cheung R. Global Epidemiology of hepatitis b virus (HBV) infection. *North American J of Medicine and Science* 2011; 4(1): 7-13.
11. Paraná R, Almeida D. HBV epidemiology in Latin America. *J Clin Virol* 2005; 34(suppl. 1): S130-3.
12. Idrovo V, Suarez C, Alvarez P. Epidemiologia e historia natural del Virus de la Hepatitis B. *Rev Col Gastroenterol* 2009; 24(supl1): 4-12.
13. Hoyos-Orrego A, Massaro-Ceballos M, Ospina-Ospina M, Gómez-Builes C, Vanegas-Arroyave N, Tobón-Pereira J, *et al*. Serological markers and risk factors for hepatitis B and C viruses in patients infected with human immunodeficiency virus. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2006; 48(6): 321-6.
14. Polo P, Castañeda C, Sierra M, Alvis N. Hepatitis B oculta en pacientes VIH positivos de una institución de salud en Barranquilla Colombia *Infectio* 2010; 14(1): 39-46.
15. Beltrán M, Navas MC, Arbeláez MP, Donado J, Jaramillo S, De la Hoz F, *et al*. Seroprevalencia de infección por virus de la hepatitis B y por virus de la inmunodeficiencia humana en una población de pacientes con múltiples transfusiones en cuatro hospitales, Colombia, Sur América. *Biomédica* 2009; 29(2): 232-43.
16. Cortés A, García M. Prevalencia de marcadores para infecciones transmisibles por transfusión en donantes voluntarios. *Colombia Médica* 1996; 27: 3-10.
17. Alvarado-Mora MV, Fernandez MF, Gomes-Gouvêa MS, de Azevedo Neto RS, Carrilho FJ, Pinho JR. Hepatitis B (HBV), hepatitis C (HCV) and hepatitis delta (HDV) viruses in the Colombian population--how is the epidemiological situation? *PLoS One*. 2011; 6(4): e18888.
18. Boletín Epidemiológico Semanal. Organización Panamericana de la Salud. Disponible en: [www.col.opsoms.org/sivigila/2002/BOLE49\\_02.pdf](http://www.col.opsoms.org/sivigila/2002/BOLE49_02.pdf). Consultado el 13 de junio de 2012.
19. Ochoa ME, Otero JA, Hormiga CM, López L. Perfil de morbilidad y mortalidad de Santander. *Revista del Observatorio de Salud Pública de Santander* 2010; 5 (2): 3-30. Disponible en: [saludsantander.gov.co/web/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=19&Itemid=3](http://saludsantander.gov.co/web/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=19&Itemid=3). Consultado el 13 de Junio de 2012.
20. Silveira TR, da Fonseca JC, Rivera L, Fay OH, Tapia R, Santos JL, *et al*. Hepatitis B seroprevalence in Latin America. *Rev Panam Salud Pública* 1999; 6(6): 378-83.
21. Elghannam DM, Aly RM, Goda EF, Eltoraby EE, Farag RE. Clinical significance of antibody to hepatitis B core antigen in multitransfused hemodialysis patients. *Asian J Transfus Sci* 2009; 3(1): 14-7.
22. Asim M, Ali R, Khan LA, Husain SA, Singla R, Kar P. Significance of anti-HBc screening of blood donors & its association with occult hepatitis B virus infection: Implications for blood transfusion. *Indian J Med Res* 2010; 132: 312-7.
23. Gutiérrez C, León G, Liprandi F, Pujol FH. Low impact of silent hepatitis B virus infection on the incidence of post-transfusion hepatitis in Venezuela. *Rev Panam Salud Pública* 2001; 10(6): 382-7.
24. Ramia S, Ramlawi F, Kanaan M, Klayme S, Naman R. Frequency and significance of antibodies against hepatitis B core (anti-HBc) antigen as the only serological marker for hepatitis B infection in Lebanese blood donors. *Epidemiol Infect* 2005; 133(4): 695-9.
25. Colomina-Rodríguez J, González-García D, Burgos-Teruel A, Fernández-Lorente N, Guerrero-Espejo A. Significance of hepatitis B core antibody as the only marker of hepatitis B infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23(2): 80-5.
26. Kang SY, Kim MH, Lee WI. The prevalence of "anti-HBc alone" and HBV DNA detection among anti-HBc alone in Korea. *J Med Virol* 2010; 82(9): 1508-14.
27. Gibney KB, Torresi J, Lemoh C, Biggs BA. Isolated core antibody hepatitis B in sub-Saharan African immigrants. *J Med Virol* 2008; 80(9): 1565-9.
28. Gutiérrez-García ML, Fernández-Rodríguez CM, Lledo-Navarro JL, Buhigas-García I. Prevalence of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17(12): 1538-42.
29. Ikeda K, Kobayashi M, Someya T, Saitoh S, Hosaka T, Akuta N, *et al*. Occult hepatitis B virus infection increases hepatocellular carcinogenesis by eight times in patients with non-B, non-C liver cirrhosis: a cohort study. *J Viral Hepat* 2009; 16(6): 437-43.
30. Raimondo G, Navarra G, Mondello S, Costantino L, Colloredo G, Cucinotta E, *et al*. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J Hepatol* 2008; 48(5): 743-6.
31. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendía MA, Chen DS, Colombo M, *et al*. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2008; 49(4): 652-7. Epub 2008 Jul 31.
32. Raimondo G, Pollicino T, Romanò L, Zanetti AR. A 2010 update on occult hepatitis B infection. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58(4): 254-7.
33. Yuen MF, Wong DK, Lee CK, Tanaka Y, Allain JP, Fung J, *et al*. Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52(5): 624-32.
34. Gutiérrez-García ML, Fernández-Rodríguez CM, Lledo-Navarro JL, Buhigas-García I. Prevalence of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 28; 17(12): 1538-42.



35. Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58(4): 273-7.
36. McGlynn KA, London WT. The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clin Liver Dis* 2011; 15(2): 223-43.
37. Bellis MA, Hughes K, Calafat A, Juan M, Ramon A, Rodriguez JA, et al. Sexual uses of alcohol and drugs and the associated health risks: a cross sectional study of young people in nine European cities. *BMC Public Health* 2008; 8: 155.
38. Heng BH, Goh KT, Chan R, Chew SK, Doraisingham S, Quek GH. Prevalence of hepatitis B virus (HBV) infection in Singapore men with sexually transmitted diseases and HIV infection: role of sexual transmission in a city state with intermediate HBV endemicity. *J Epidemiol Community Health* 1995; 49(3): 309-13.
39. Zeng GB, Wen SJ, Wang ZH, Yan L, Sun J, Hou JL. A novel hepatitis B virus genotyping system by using restriction fragment length polymorphism patterns of S gene amplicons. *World J Gastroenterol* 2004; 10(21): 3132-6.
40. Komaz NP, Bai-Sepou S, Manirakiza A, Léal J, Béré A, Le Faou A. The prevalence of hepatitis B virus markers in a cohort of students in Bangui, Central African Republic. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 226.
41. Robotin MC, George J, Supramaniam R, Sitas F, Penman AG. Preventing primary liver cancer: how well are we faring towards a national hepatitis B strategy? *Med J Aust* 2008; 188(6): 363-5.
42. Ramírez-Soto MC, Huichi-Atamari M, Aguilar-Ancori EG, Pezo-Ochoa JD. Seroprevalencia de hepatitis viral B en estudiantes universitarios en Abancay, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2011; 28(3): 513-7.
43. Resuli B, Prifti S, Kraja B, Nurka T, Basho M, Sadiku E. Epidemiology of hepatitis B virus infection in Albania. *World J Gastroenterol* 2009; 15(7): 849-52.
44. Nakamura S. Serological markers of hepatitis A and B virus infection in university students. *Tokohu J Exp Med* 1982; 138: 237-238.
45. Nakamura S. Serological markers of Hepatitis A and Hepatitis B virus infection in overseas students. *Tokohu J Exp Med* 1984; 142: 115-116.
46. Carvalho P, Schinoni MI, Andrade J, Vasconcelos Rêgo MA, Marques P, Meyer R, et al. Hepatitis B virus prevalence and vaccination response in health care workers and students at the Federal University of Bahia, Brazil. *Ann Hepatol* 2012; 11(3): 330-7.
47. Díaz Martínez LA, Cadena Afanador L del P. Risk of hepatitis B infection in Peruvian medical students following occupational exposure to blood and body fluids. *Rev Gastroenterol Perú* 2003; 23(2): 107-10.
48. de la Hoz F, Pérez L, de Neira M, Hall AJ. Eight years of hepatitis B vaccination in Colombia with a recombinant vaccine: factors influencing hepatitis B virus infection and effectiveness. *Int J Infect Dis* 2008; 12(2): 183-9.
49. Leuridan E, Van Damme P. Hepatitis B and the need for a booster dose. *Clin Infect Dis* 2011; 53(1): 68-75.
50. Oliveira LC, Pontes JP. Frequency of hepatitis B immunity and occupational exposures to body fluids among Brazilian medical students at a public university. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2010; 52(5): 247-52.
51. Gir E, Netto JC, Malaguti SE, Canini SR, Hayashida M, Machado AA. Accidents with biological material and immunization against hepatitis B among students from the health area. *Rev Lat Am Enfermagem* 2008; 16(3): 401-6.
52. Romero M, Madejón A, Fernández-Rodríguez C, García-Samaniego J. Clinical significance of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17(12): 1549-52.
53. Yuen MF, Wong DK, Lee CK, Tanaka Y, Allain JP, Fung J et al. Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52(5): 624-32.
54. Gerlich WH, Bremer C, Saniewski M, Schüttler CG, Wend UC, Willems WR, et al. Occult hepatitis B virus infection: detection and significance. *Dig Dis* 2010; 28(1): 116-25.
55. Beltrán M, Berrío-Pérez M, Bermúdez MI, Rey-Benito G, Camacho B, Forero P, et al. Detección de hepatitis B oculta en donantes de bancos sangre, Colombia 2008-2009. *Biomédica* 2011; 31: 580-9.
56. Ocana S, Casas ML, Buhigas I, Lledo JL. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17(12): 1553-7.