

33. Virología Molecular

Hepatitis crónica asociada al virus de Hepatitis E en un paciente con trasplante hepático y posterior desarrollo de malignidad hematológica

Ramírez, Gabriel (gabrielramirez@hotmai.com); Mirazo, Santiago (Orientador).

Sección Virología, Facultad de Ciencias. Universidad de la Republica (UdelaR)

Resumen

La infección por el virus de la Hepatitis E (HEV) es una enfermedad emergente de creciente preocupación en áreas no endémicas y países desarrollados. En los últimos años, se han descubierto aspectos desconocidos con respecto a la infección por HEV, como la posibilidad de que la enfermedad se convierta en crónica en personas inmunocomprometidas y en pacientes con trasplante de órgano sólido.

Aquí se presenta un caso autóctono de infección crónica por HEV, en un hombre trasplantado de hígado, con la posterior reactivación del virus de Epstein-Barr (EBV) y el desarrollo de malignidad hematológica, en forma de linfoma de Burkitt. Con un tratamiento de 9 semanas de tratamiento con ribavirina y posterior quimioterapia, el paciente tuvo una evolución favorable y se recuperó completamente sin secuelas.

Con el objetivo de estudiar la evolución clínica y paraclínica del paciente, se procedió a observar los cambios histológicos en las biopsias hepáticas y niveles de enzimas hepáticas a lo largo del seguimiento. Así mismo, se determinó la carga viral en el suero del paciente, observando su evolución mensual luego del comienzo del tratamiento con ribavirina. Por su parte, la cepa crónica de HEV fue sometida a un análisis filogenético para clasificarla genotípicamente.

El presente estudio demostró la presencia del primer caso de hepatitis E crónica en Uruguay. Tratándose de un HEV-3, que estaba relacionado filogenéticamente con aislados humanos y porcinos reportados en Uruguay. El presente trabajo pretende comprender la sintomatología de esta enfermedad en paciente inmunocomprometidos, como así mismo ser un aporte de conocimiento al desarrollo de cronicidad en hepatitis E.

Palabras clave: Virus de la Hepatitis E, Leucemia de Burkitt, Epstein-Barr, hepatitis E crónica.

Introducción

Descripción e importancia en salud pública

La hepatitis E es una enfermedad hepática, cuyo agente etiológico es el virus de la Hepatitis E (HEV). La Organización Mundial de la Salud, estima que por año existen 20 millones de casos, de las cuales solo 3 millones son sintomáticos y 56.600 culminan con la muerte (OMS, 2017). Si bien, en pacientes inmunocompetentes la infección es autolimitada y presenta una tasa de mortalidad relativamente baja (1-4%). En mujeres embarazadas la tasa de mortalidad asciende a un 20% y la infección puede presentar complicaciones en el desarrollo del embarazo (Pérez-García *et al.* 2017). Mientras que en pacientes inmuno comprometidos, la probabilidad de contraer una infección crónica, hepatitis fulminante y/o manifestaciones extra hepáticas, aumenta considerablemente (Kemar *et al.*, 2013; Bazerbachi *et al.*, 2016; Nan *et al.*, 2016).

Esta enfermedad tiene una distribución mundial y el número de casos aumenta cada día, a pesar de ello la misma es desconocida para el público en general de países desarrollados. Debido a que la mayoría de las infecciones son asintomáticas, la prevalencia de esta enfermedad sigue siendo aún sub-diagnosticada. Lo que presenta un riesgo para la salud pública, especialmente de aquella población de riesgo (embarazadas, inmunodeprimidos y pacientes con enfermedad hepática subyacente) donde la probabilidad de falla hepática fulminante aumenta (Capai *et al.* 2018).

Clasificación genética y epidemiología

HEV pertenece a la familia viral *Hepeviridae*, la cual se subdivide en los géneros *Orthohepevirus* y *Piscihepevirus* (Smith *et al.*, 2014). Los miembros de esta familia han sido identificados en un amplio rango de hospederos animales (primates, cerdos, jabalíes, ciervos, conejos, mangostas, hurones, ratas, gallinas y truchas). La mayor cantidad de cepas identificadas se encuentran en el género *Orthohepevirus*, que a su vez se divide en las especies A, B, C y D. Dentro de la especie *Orthohepevirus A*, se encuentran los cuatro genotipos de mayor relevancia en salud pública (HEV-1, HEV-2, HEV-3 y HEV-4), capaces de infectar humanos. Por otra parte, se encuentran los genotipos 5 y 6 (HEV-5, HEV-6), descritos únicamente en jabalíes salvajes (Doceul *et al.*, 2016). También, se encuentra el

genotipo 7 (HEV-7), descrito en camellos y recientemente en humanos (Lee *et al.*, 2015). Y, por último, el genotipo 8 (HEV-8) reportado únicamente en camellos (Sridhad *et al.*, 2017).

Los genotipos HEV-1 y HEV-2, infectan solo a los humanos y están asociados con grandes epidemias transmitidas por agua contaminada en áreas tropicales y subtropicales. Son los genotipos de mayor relevancia en países endémicos, en donde las condiciones sanitarias son precarias. En cambio, los genotipos HEV-3 y HEV-4 están presentes en humanos y otros animales, y son la principal causa de casos autóctonos de hepatitis E en los países industrializados. Siendo los de mayor preocupación en países no endémicos, debido a su potencial zoonótico y emergente, donde los casos suelen ser esporádicos (Doceul *et al.*, 2016; Khuroo *et al.*, 2016).

Características del virión y organización genómica

El virus de la Hepatitis E (HEV) es un virus no envuelto, de genoma ARN simple hebra y polaridad positiva, de 7.2 kb (Emerson *et al.* 2003; Cao *et al.*, 2012). El ARN genómico presenta un *cap* de 7'-metil-guanosina en su 5', luego del cual se encuentran tres marcos abiertos de lectura parcialmente solapados. El primero (ORF1), codifica para una poliproteína no estructural precursora de las enzimas virales. El segundo (ORF2), codifica la proteína estructural de la cápside, cuya glicosilación en el retículo endoplasmático es importante para forma partículas virales infectivas. Por último, el tercer marco abierto de lectura (ORF3), codifica para una pequeña fosfoproteína involucrada en la replicación del virus, y que se ha encontrado asociada al citoesqueleto de la célula hospedera. En su extremo 3', el genoma viral culmina con una corta región no codificante (3'NCR) y una larga cola poli-A, de una extensión aproximada de entre 150 y 200 nucleótidos (Panda *et al.*, 2013).

Vías de Transmisión

La principal vía de transmisión de HEV es la ruta fecal-oral, a través de la ingesta de comida y aguas residuales contaminadas. A su vez, la transmisión zoonótica contribuye considerablemente a la transmisión de HEV-3 y HEV-4. Tanto por el contacto directo con animales salvajes y domésticos infectados (jabalíes, ciervos, conejos y cerdos), como con sus heces. Asimismo, con el consumo de carne contaminada, proveniente de los mismos (Yugo *et al.* 2013). También se ha detectado la presencia de mariscos y vegetales contaminados por

HEV, por lo que su consumo puede ser una potencial vía de transmisión (Brassard *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2015).

La transmisión persona-persona es una vía poco frecuente, pero que contribuye a la propagación del virus en epidemias que ocurren en regiones donde las condiciones de higiene son insalubres (Khuroo *et al.*, 2016). Otra ruta de infección, no menos relevante es la transmisión vertical, entre una madre que cursa una infección por HEV y su bebe en periodo de gestación (Kumar *et al.*, 2004). Siendo esta una de las tantas problemáticas que puede surgir durante el embarazo si se contrae Hepatitis E. Ya que se tienen descrito varios casos de prematuridad, aborto y mortalidad perinatal durante el transcurso de la enfermedad (Prasad *et al.*, 2016).

Por último, existe la transmisión parenteral, a través de transfusiones y trasplantes con sangre u órganos contaminados, la cual constituye una gran preocupación ya que el donador no es consciente de que otorga una muestra contaminada. Esto sumado a que generalmente la infección transcurre de forma asintomática (Khuroo *et al.*, 2016; Izopet *et al.*, 2017).

Presentación clínica, manifestaciones extra-hepáticas e infección crónica

HEV en la mayoría de los casos causa una enfermedad autolimitada, que dura de unos días a semanas, con un promedio de 4 a 6 semanas. Sin embargo, en los países desarrollados puede causar enfermedades crónicas con progresión rápida a la cirrosis, especialmente en pacientes que son trasplantados, tienen tumores malignos hematológicos que requieren quimioterapia o tienen infección por VIH. La enfermedad presenta un período de incubación de 2 a 6 semanas, donde luego aparecen los síntomas comunes asociados a hepatitis aguda, como fiebre, náuseas, dolor abdominal, vómitos, anorexia, malestar general, hepatomegalia y en algunos casos ictericia. Si bien es poco común, algunos pacientes desarrollan una lesión hepática grave que se manifiesta como insuficiencia hepática subaguda o aguda (o fulminante). Aquellos pacientes que presenten previamente una enfermedad crónica hepática, tienen mayor riesgo de agravar su presentación clínica (Guerra *et al.* 2014).

Los casos de hepatitis E crónica involucran casi exclusivamente infecciones con el genotipo 3, aunque se ha reportado un caso de enfermedad crónica en un niño con leucemia linfoblástica aguda con el genotipo 4 de HEV (Geng *et al.* 2014). Las manifestaciones extra-hepáticas de la hepatitis E pueden ocurrir en las fases aguda y crónica. Entre ellos, las

complicaciones neurológicas son las más comunes, sin embargo, también pueden presentarse manifestaciones renales, pancreáticas, hematológicas y reumatológicas (Guerra *et al.* 2014).

Hepatitis E en Uruguay: Una virosis emergente

Desde hace unos 25 años el HEV ha venido siendo detectado y caracterizado en varios países de Latinoamérica (Fierro *et al.*, 2016). Sin embargo, los primeros casos clínicos en Uruguay fueron detectados en el año 2009. Desde entonces, a pesar de ser considerado un país no endémico, el número de casos ha ido en aumento (Mirazo *et al.*, 2011, 2013). El primer caso autóctono reportado, perteneció a una cepa de HEV-3, y al igual que el resto de la región, en nuestro país dicho genotipo es el más prevalente entre los humanos (Mirazo *et al.*, 2011, Fierro *et al.*, 2016, Mirazo *et al.* 2018). Posteriormente, se detectó en un paciente la presencia de HEV-1, siendo este el primer caso autóctono registrado en Uruguay para dicho genotipo (Mirazo *et al.*, 2014a).

Las cepas de HEV-3 autóctonas halladas en pacientes, están filogenéticamente relacionadas con cepas de cerdos europeos, precisamente de Alemania (Mirazo *et al.*, 2016). Por lo que el origen zoonótico de estos casos no resultaría sorprendente. Si bien la epidemiología molecular de este virus en sus reservorios naturales, sigue siendo un terreno desconocido para nuestro país. Recientemente, se han encontrado cerdos domésticos y jabalíes salvajes, positivos para HEV. Cuyas cepas, contienen una alta identidad nucleotídica con respecto a las cepas humanas reportadas para Uruguay (Mirazo *et al.*, 2018).

Los actuales estudios de Hepatitis E en Uruguay y la región, han demostrado que HEV es un problema de actualidad. El potencial zoonótico y el carácter emergente de este virus presentan un riesgo en salud pública. Por lo que estudios de epidemiología molecular, tanto en humanos, como en animales salvajes y de granja, pueden ayudar a prevenir el número de casos autóctonos en nuestro país. Evitando así, la dispersión de este virus y aportando conocimiento de la enfermedad a nuestra población.

Objetivos

1. Estudiar en detalle un caso único de hepatitis E crónica y posterior desarrollo de malignidad hematológica en un paciente con trasplante hepático.

2. Estudiar la evolución clínica y paraclínica del paciente, poniendo énfasis en sus niveles de enzimas hepáticas, carga viral pre y post-tratamiento.
3. Caracterizar molecularmente en forma preliminar la cepa de HEV responsable de la hepatitis crónica.

Materiales y Métodos

Caso: En enero de 2016 se identifica un paciente masculino de 62 años receptor de trasplante hepáticos en el año 2014 con enzimograma hepático alterado detectado en rutina de control post trasplante. Se estudió en una primera instancia la presencia de hepatitis viral A, B y C, Citomegalovirus (CMV), virus de Epstein Barr (EBV) y otras etiologías causantes de la alteración.

Paraclínica: Monitoreo paraclínico durante 21 meses de las enzimas hepáticas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT). Se le realizaron biopsias hepáticas al paciente, como también la observación de los cambios histológicos en las mismas, a lo largo del seguimiento clínico.

Detección de HEV y Real time PCR cuantitativa: La identificación de HEV se realizó mediante pruebas serológicas para evidenciar la presencia de IgG específica y anticuerpos IgM contra este virus (recomWell HEV IgG / IgM, Mikrogen, Alemania). Como también a través de ARN de HEV, mediante retrotranscripción seguida de una PCR anidada (RT-nPCR) de una región 287 pb dentro del genoma viral en el suero y muestras de heces del paciente. Se cuantificó mensualmente la carga viral del paciente luego de iniciado el tratamiento con ribavirina, mediante PCR cuantitativa en tiempo real y utilizando la tecnología SYBR Green. Para ello se amplificó un fragmento genómico de 137 pares de bases (pb), que solapa entre el ORF2 y ORF3 del genoma de HEV, tomando de referencia el protocolo descrito por Inoue *et al.* (2006) con modificaciones.

Tratamiento con ribavirina, Linfoma de Burkitt y activación de EBV: En 2017 de febrero se inició un tratamiento con ribavirina (1200 mg / día), durante 9 semanas. Una vez suspendido, mediante el análisis histológico de una nueva biopsia hepática se verificó el trastorno linfoproliferativo postrasplante en forma de linfoma de Burkitt. A lo que se procedió detectar la activación EBV mediante detección molecular por PCR en el suero del paciente.

Análisis filogenético DE HEV: Se amplificó por retrotranscripción seguida de PCR anidada (RT-nPCR) un fragmento de 287 pares de bases (pb) ubicado en el extremo 5' del genoma de HEV, correspondiente al gen de la metiltransferasa. El mismo fue secuenciado para su identificación y análisis filogenético. El árbol filogenético fue generado con el algoritmo de neighbor-joining y utilizando Tamura-Nei como modelo evolutivo. Se realizaron 1000 réplicas de bootstrap.

Resultados y Discusión

En enero de 2016 (1 año y 6 meses postrasplante) el paciente presentó elevación asintomática en los niveles de enzimas hepáticas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT)(Fig.1). Por su parte, la biopsia hepática evidenció un infiltrado inflamatorio lobular denso compuesto principalmente por neutrófilos, descartando el rechazo agudo o hepatotoxicidad (Fig. 2a). Mostrando elementos compatibles con una hepatitis aguda, aún sin etiología definida. Posteriormente, las enzimas hepáticas disminuyeron espontáneamente pero no lograron la normalidad. En marzo de 2016, se presentó elevación recurrente y se reinició el tratamiento con esteroides sin respuesta (Fig.1).

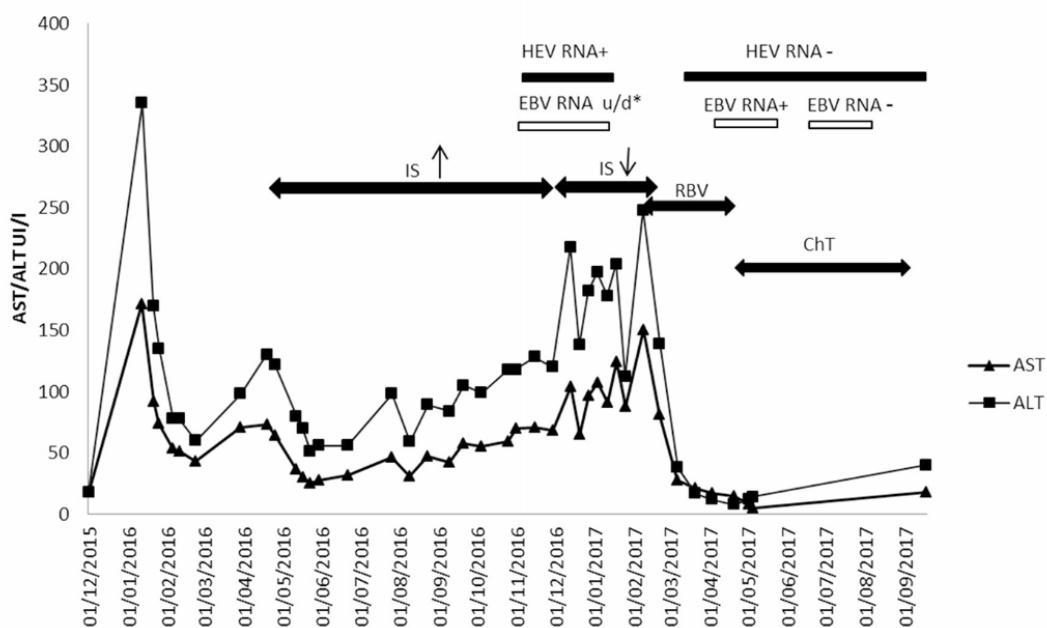


Figura 1. Niveles de las enzimas hepáticas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) a lo largo del tiempo (meses). Se muestran los resultados de la PCR del virus de la hepatitis E (HEV) y Epstein-Barr (EBV). Se indican los períodos de aumento y disminución de la inmunosupresión (IS), la terapia con ribavirina (RBV) y quimioterapia (ChT). (+), positivo; (-), negativo; u/d*, indetectable.

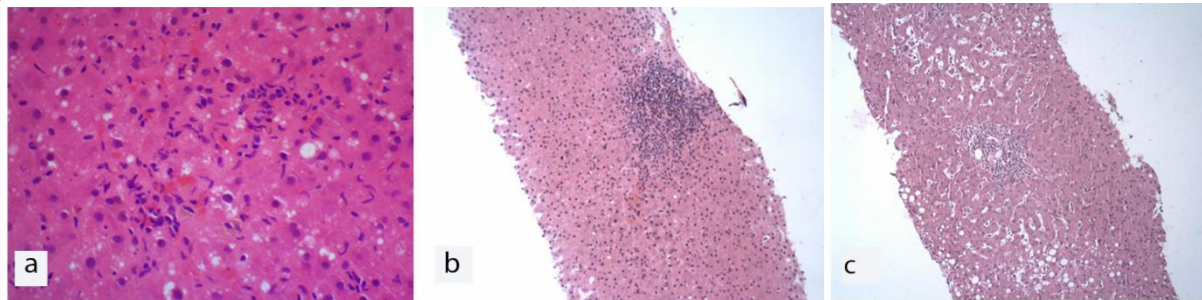


Figura 2. Desarrollo de cambios histológicos en las biopsias hepáticas del paciente. Se muestran los principales hallazgos histológicos observados a lo largo del estudio. Tinción de hematoxilina-eosina. a) Infiltrado inflamatorio lobular compuesto principalmente de neutrófilos, compatible con hepatitis aguda, observado a 1 año y 6 meses post trasplante (aumento original 40X). b) Infiltrado inflamatorio denso compuesto principalmente de linfocitos con necrosis fragmentaria, compatible con hepatitis crónica observada concomitantemente con la detección de ARN de HEV (10X). c) Dilatación sinusoidal con megacariocitos compatibles con hematopoyesis extramedular, condición usual en pacientes con enfermedades hematológicas como el linfoma de Burkitt (20X).

Los siguientes 3 meses el paciente presentó una oscilación en el nivel de enzimas hepáticas y una nueva biopsia hepática mostró un infiltrado compuesto principalmente de linfocitos con necrosis fragmentaria (Fig. 2b), compatible con una etiología viral. Las pruebas serológicas para HEV evidenciaron la presencia de IgG específica y anticuerpos IgM. Que en conjunto con la detección de ARN de HEV en muestras de heces y suero del paciente, confirmaron la infección por HEV en el paciente.

El ARN de HEV permaneció detectable de manera constante en el paciente durante al menos tres meses (noviembre a febrero de 2016). La secuenciación y el análisis filogenético agruparon al aislado dentro del HEV-3 (Fig. 3), muy relacionado con cepas de suinos y humanos aislados previamente en Uruguay (91-93% de identidad de nt y aa).

En febrero de 2017, considerando el nivel de enzimas hepáticas alterado (Fig. 1), la evidencia histológica de biopsia hepática y la detección molecular compatible con una infección por HEV. Se sospecha de una infección crónica por parte del virus en cuestión, por lo que se inicia el tratamiento con ribavirina (RBV). Luego de 9 semanas del mismo, se logra la eliminación de HEV (Fig. 4) acompañado con una reducción aguda y posterior normalización de los niveles de enzimas hepáticas (Fig. 1), lo que sugirió que el HEV desempeñaba un papel crucial en el desarrollo de la enfermedad hepática.

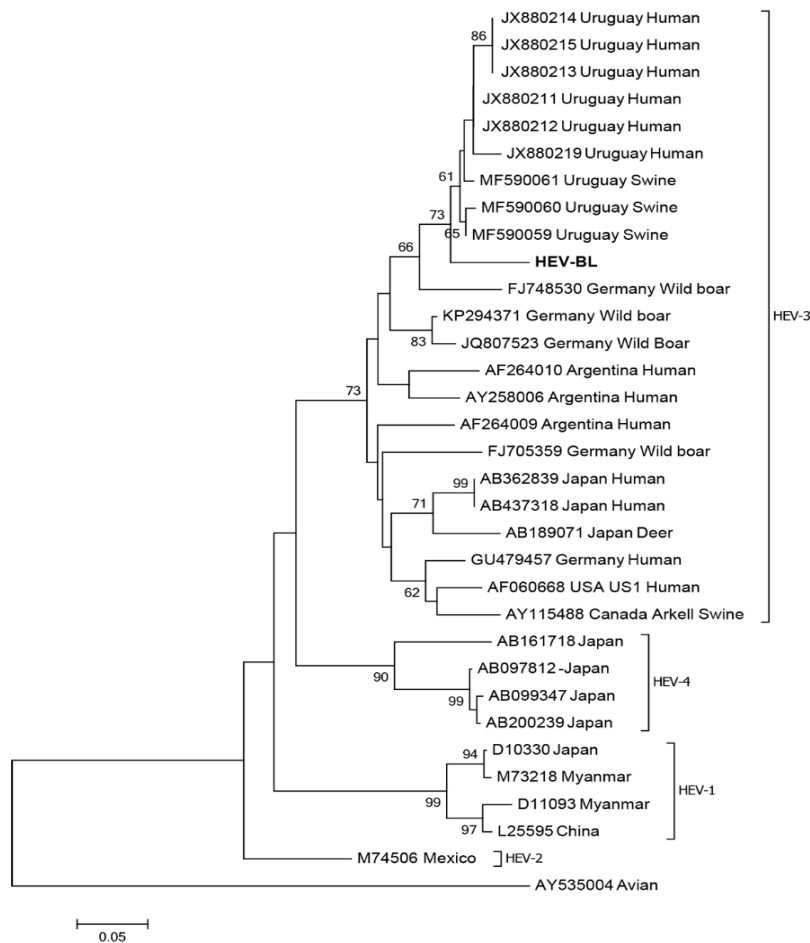


Figura 3. Árbol filogenético basado en la región genómica de 287 pb del ORF1. Generado con el algoritmo de neighbor-joining y utilizando Tamura-Nei como modelo evolutivo. Se realizaron 1000 réplicas de bootstrap para garantizar la robustez de los nodos. En **negrita** se muestra la cepa de HEV-3 aislada del paciente (HEV-BL).

El ARN viral permaneció indetectable en suero y heces durante el seguimiento hasta 24 semanas después de la terapia (Fig. 4), lo que denota una evolución positiva al tratamiento con ribavirina (RBV). Sin embargo, durante el mismo se detectó una reactivación de la infección por el Virus de Epstein-Barr (EBV) y, concomitantemente, una biopsia hepática proporcionó evidencias de un trastorno linfoproliferativo, correspondiente a una leucemia linfoblástica de Burkitt, que está relacionada etiológicamente con EBV. Sin embargo, no se puede establecer si tal observación responde a una relación causal o casual, a pesar de que la infección crónica por HEV se la ha asociado a diversas malignidades hematológicas. Después del tratamiento antiviral y la quimioterapia, nuestro paciente tuvo una recuperación completa sin secuelas.

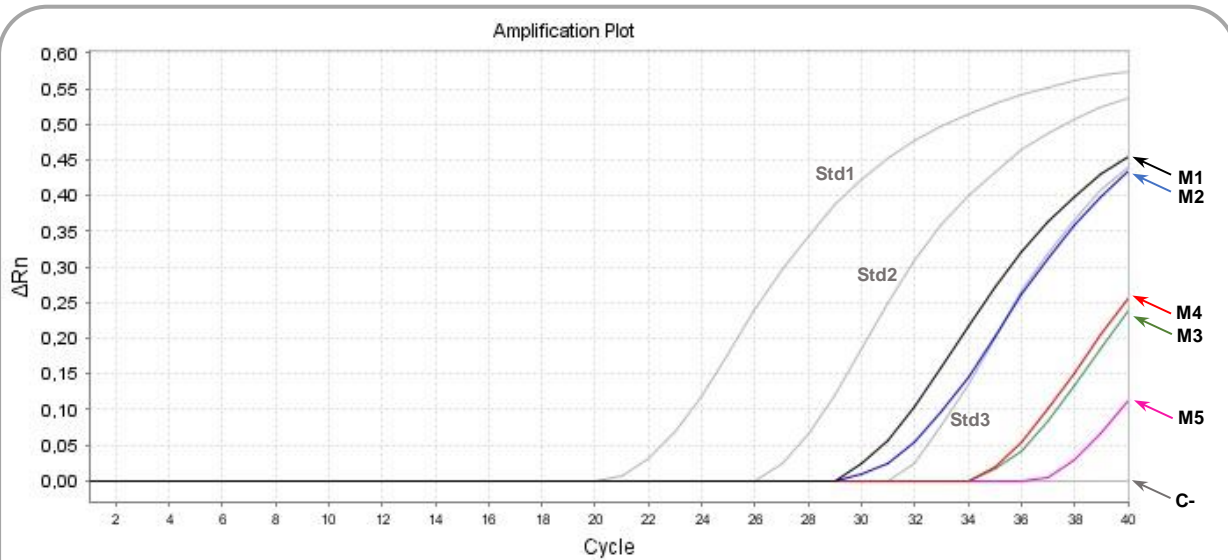


Figura 2. Cuantificación de carga viral de HEV mediante real time PCR, donde se amplifica un fragmento en la región de solapamiento entre ORF2 y 3 del genoma. Muestras de suero del paciente recolectadas mensualmente, conteniendo ARN detectable la primera muestra (M1: $1,0 \times 10^6$ N° de copias/ μ L) previo al tratamiento con ribavirina (RBV) y la segunda (M2: $1,0 \times 10^5$ N° de copias/ μ L), tomada una vez comenzada la terapia. Las siguientes muestras (M3, M4, M5) no presentan un número de copias detectables para HEV. En gris se observan las curvas de los Standards (std1: 4×10^7 , std2: 4×10^6 , std3: 4×10^5) y el control negativo (C-).

En el presente trabajo, se describe el primer caso autóctono de HEV crónica en el Uruguay, en un paciente trasplantado con posterior trastorno linfoproliferativo en la forma de linfoma de Burkitt. Si bien la infección por HEV fue detectada durante al menos tres meses, probablemente el virus fue la causa de la alteración hepática identificada en enero de 2016. La ausencia de muestras clínicas de ese período impide la confirmación de esta hipótesis.

El diagnóstico clínico de la infección crónica por hepatitis E es desafiante, ya que estas infecciones son en gran parte asintomáticas y pueden diagnosticarse erróneamente como daño o rechazo hepático inducido por fármacos, ya que la apariencia histológica en la biopsia hepática puede no distinguir claramente las lesiones asociadas a la replicación viral. El caso presentado aquí corroboró la dificultad de sospechar y diagnosticar la infección por HEV en pacientes trasplantados e inmunocomprometidos. Por ello es necesario incluir este agente viral en el diagnóstico diferencial en caso de elevación inexplicable de los niveles de enzimas hepáticas.

El paciente mostró una buena evolución luego de la terapia con ribavirina (RBV), logrando una respuesta virológica sostenida (SVR) durante 24 semanas luego del inicio de la terapia. Concomitantemente, se alcanzó una normalización en los niveles de las enzimas hepáticas, demostrando efectividad del tratamiento con ribavirina, cuando HEV es el agente etiológico de la hepatitis.

La abrupta activación del virus de Epstein Barr (indetectable al inicio del estudio), y posterior desarrollo de desorden linfoproliferativo se observó luego del *clearance* de HEV. Sin embargo, no se puede establecer si tal observación responde a una relación causal o casual, a pesar de que la infección crónica por HEV se la ha asociado a la reactivación de EBV y a diversas malignidades hematológicas.

Por otra parte, la cepa de HEV aislada del paciente correspondió a HEV-3, filogenéticamente relacionada con cepas humanas y suinas previamente identificadas en Uruguay. En regiones no endémicas la transmisión zoonótica parece ser la principal vía de contagio y los pacientes trasplantados constituyen una población de riesgo para el desarrollo de hepatitis E crónica. El estudio de la información epidemiológica del paciente no mostró otros factores de riesgo que puedan explicar el origen de la infección.

Conclusiones

HEV es un patógeno emergente de creciente incidencia y preocupación en la salud pública. A pesar de ello, esta enfermedad continúa siendo subdiagnosticada en la región, lo que presenta una dificultad para esclarecer tanto la epidemiología como la patogénesis de este virus. El enfoque paraclínico y diagnóstico diferencial en casos de alteración de enzimas hepáticas sin explicación en pacientes con trasplante o inmunodeprimidos debe incluir al HEV como potencial agente etiológico. Este trabajo no solo revela el primer caso autóctono de hepatitis crónica asociada a HEV con posterior desarrollo de trastorno linfoproliferativo postrasplante y resalta la importancia creciente de esta infección emergente, y la inminente problemática que la misma puede causar en salud pública.

Bibliografía

- Bazerbachi F, Haffar S, Garg SK, Lake JR.** Extra-hepatic manifestations associated with hepatitis E virus infection: a comprehensive review of the literature. *Gastroenterology Report.* **2016**; 4(1) :1-15.
- Brassard J, Gagné M-J, Génereux M, Côté C.** Detection of Human Food-Borne and Zoonotic Viruses on Irrigated, Field-Grown Strawberries. *Applied and Environmental Microbiology.* **2012**; 78(10):3763-3766.
- Cao D, Meng X-J.** Molecular biology and replication of hepatitis E virus. *Emerging Microbes & Infections.* **2012**; 1(8): e17-.
- Capai L, Charrel R, Falchi A.** Hepatitis E in High-Income Countries: What Do We Know? And What Are the Knowledge Gaps? *Viruses.* 2018; 10(6):285.
- Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N.** Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses.* **2016**; 8(10):270.
- Emerson SU, Purcell RH.** Hepatitis E Virus. *Reviews in Medical Virology.* **2003**; 13:145–154.
- Fierro NA, Realpe M, Meraz-Medina T, Roman S, Panduro A.** Hepatitis E virus: An ancient hidden enemy in Latin America. *World Journal of Gastroenterology.* **2016**; 22(7): 2271-2283.
- Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X.** Surveillance of Hepatitis E Virus Contamination in Shellfish in China. Dorevitch S, ed. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* **2015**; 12(2): 2026-2036.
- Geng Y, Zhang H, Huang W, J Harrison T, Geng K, Li Z, Wang Y.** Persistent Hepatitis E Virus Genotype 4 Infection in a Child With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hepatitis Monthly.* **2014**; 14(1): e15618.
- Guerra JA de AA, Kampa KC, Morsoletto DGB, Junior AP, Ivantes CAP.** Hepatitis E: una revisión de la literatura. *Revista de Hepatología Clínica y Traslacional.* **2017**; 5 (4): 376-383.

- Inoue J, Takahashi M, Yazaki Y, Tsuda F, Okamoto H.** Development and validation of an improved RT-PCR assay with nested universal primers for detection of hepatitis E virus strains with significant sequence divergence. *J Virol Methods*. **2006**; 137(2): 325–333.
- Izopet J, Lhomme S, Chapuy-Regaud S, Mansuy JM, Kamar N, Abravanel F.** HEV and transfusion-recipient risk. *Transfus Clin Biol*. **2017**; 24(3): 176-181.
- Kamar N, Izopet J, Dalton HR.** Chronic Hepatitis E Virus Infection and Treatment. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. **2013**; 3(2):134-140.
- Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS.** Transmission of Hepatitis E Virus in Developing Countries. Izopet J, ed. *Viruses*. **2016**; 8(9):253.
- Kumar A, Beniwal M, Kar, P, Sharma J, Murthy, N.** Hepatitis E in pregnancy. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, **2004**; 85: 240-244.
- Lee G-H, Tan B-H, Teo EC-Y, Lim S-G, Dan Y-Y, Wee A, Aw PPK, Zhu Y, Hibberd ML, Tan C-K, Purdy MA, Teo C-G.** Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Livertransplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk, *Gastroenterology*. **2015**; 150(2): 355-357e3.
- Mirazo S, Ramos N, Russi, JC, Gagliano G, Arbiza J.** Detection and molecular characterization of sporadic cases of acute human hepatitis E virus infection in Uruguay. *Arch. Virol*. **2011**; 156, 1451–1454.
- Mirazo S, Ramos N, Russi, JC, Arbiza J.** Genetic heterogeneity and subtyping of human hepatitis E virus isolates from Uruguay. *Virus Res*. **2013**; 173, 364–370.
- Mirazo S, Mainardi V, Ramos, N., Gerona, S., Rocca, A., Arbiza, J.** Indigenous hepatitis E virus genotype 1 infection, Uruguay. *Emerg. Infect Dis*. **2014a**; 20 (1), 171–173.
- Mirazo S, Ramos N, Mainardi V, Gerona S, Arbiza J.** Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update. *Hepatic Medicine: Evidence and Research*. **2014b**; 6:45-59.

Mirazo, S, Mir, D, Bello, G, Ramos, N, Musto, H, Arbiza, J. New insights into the hepatitis E virus genotype 3 phylodynamics and evolutionary history. *Infect. Genet. Evol.* **2016**; 43, 267–273.

Mirazo S, Gardinali NR, Cecilia D, Verger L, Ottonelli F, Ramos N, Castro G, Pinto MA, Ré V, Pisano B, Lozano A, de Oliveira JM, Arbiza J. Serological and virological survey of hepatitis E virus (HEV) in animal reservoirs from Uruguay reveals elevated prevalences and a very close phylogenetic relationship between swine and human strains. *Vet Microbiol.* **2018**; 213: 21-27.

Nan Y, Zhang Y-J. Molecular Biology and Infection of Hepatitis E Virus. *Frontiers in Microbiology.* **2016**; 7:1419.

OMS, 2017. Hepatitis E. Centro de prensa. Nota descriptiva, julio de 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/es/> Fecha de consulta: 28/3/2018.

Panda SK, Varma SPK. Hepatitis E: Molecular Virology and Pathogenesis. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology.* **2013**; 3(2):114-124.

Pérez-Gracia MT, Suay-García B, Mateos-Lindemann ML. Hepatitis E and pregnancy: Current state. *Rev Med Virol.* **2017**; e1929.

Prasad GS, Prasad S, Bhupali A, Patil AN, Parashar K. A Study of Hepatitis E in Pregnancy: Maternal and Fetal Outcome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of India.* **2016**; 66 (Suppl1): 18-23.

Smith DB, Simmonds P, Jameel S, Emerson SU, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WHM, Purdy MA. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J. Gen. Virol.* **2014**; 95, 2223–2232.

Sridhar S, Teng JLL, Chiu T-H, Lau SKP, Woo PCY. Hepatitis E Virus Genotypes and Evolution: Emergence of Camel Hepatitis E Variants. Haybaeck J, ed. *International Journal of Molecular Sciences.* **2017**; 18(4): 869.

Yugo DM, Meng X-J. Hepatitis E Virus: Foodborne, Waterborne and Zoonotic Transmission. International Journal of Environmental Research and Public Health. **2013**; 10(10): 4507-4533.

Agradecimientos

Agradezco a La Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM), Universidad de la Republica (UdelaR), la Universidad Nacional de Cuyo por la convocatoria a la presentación de trabajos de investigación en el marco de las XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores de la AUGM.

Me gustaría agradecer a los integrantes del Programa Nacional de Trasplante Hepático del Hospital Central de las Fuerzas Armadas, por los datos otorgados para la realización del presente trabajo.