

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION No. 2 DEL DISTRITO FEDERAL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA CMN "LA RAZA"

**IMPORTANCIA DE LOS VIRUS OCULTOS DE HEPATITIS B
Y HEPATITIS C EN PACIENTES SOMETIDOS A
HEMODIÁLISIS**

TESIS QUE PRESENTA
DRA. BERTHA INES SALDIVAR CORNEJO
PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD EN
INFECTOLOGIA

ASESOR DE TESIS
Dra. Gloria Ma. Calderón Rodríguez



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DOCTORA
VERONICA A. GAONA FLORES
JEFE DE LA COORDINACION DE
EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA CMN “LA RAZA”**

**DOCTORA
ELENA URDEZ HERNANDEZ
TITULAR DEL CURSO EN INFECTOLOGIA ADULTOS
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA CMN “LA RAZA”**

**DOCTORA
DRA. GLORIA MA. CALDERÓN RODRÍGUEZ
ASESOR DISCIPLINAR
INVESTIGADOR ASOCIADO.
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN INFECTOLOGÍA E INMUNOLOGÍA.
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA. CMN “LA RAZA”**

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN.....	3
JUSTIFICACIÓN	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECIFICOS	9
MATERIAL Y METODOS	9
RESULTADOS	12
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	25

RESUMEN

Importancia de los virus ocultos de hepatitis B y hepatitis C en pacientes sometidos a hemodiálisis.

Antecedentes: La transmisión de los virus de hepatitis se ha convertido en un problema de salud pública en los centros de hemodiálisis a nivel mundial, describiéndose brotes epidémicos desde 1960 y como principal vía de transmisión la parenteral mediante transfusiones de hemoderivados o por procesos poco regulados de hemodiálisis. El incremento en las prevalencias de infecciones por virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC) ha sido consistentemente más elevada a nivel mundial en poblaciones de riesgo como pacientes en hemodiálisis, politransfundidos, hemofílicos y drogadictos. En México, se estima una seroprevalencia del 6.7% en pacientes hemodializados siendo por lo tanto de 2 a 10 veces mayor que en la población general.

Recientemente se ha establecido la existencia del término hepatitis oculta. En el caso de la hepatitis oculta por VHC solo se presentar en dos situaciones clínicas diferentes: en pacientes con serología y PCR sérico para VHC negativa con pruebas de función hepática alterada y en sujetos con serología para VHC positiva y valores normales de la función hepática con o sin RNA-VHC detectado en plasma, virus ocultos que solo se han logrado detectar por identificación de RNA-VHC en tejido hepático o bien células mononucleares provenientes de sangre periférica (PBMC). La presencia de DNA del VHB en los casos de AgVHBs negativo en suero se conoce como “hepatitis B oculta”. En México se desconoce la presencia e importancia de los VHB y VHC ocultos en poblaciones de alto riesgo, siendo de relevancia su identificación ya que ocasionan a un plazo aún no establecido actividad hepática necroinflamatoria y fibrosis hepática significativa, reportada en una alta proporción de pacientes, por lo que deben contar con un seguimiento estrecho de la función hepática.

Objetivo general. Identificar mediante pruebas moleculares los virus ocultos de hepatitis B y C en pacientes en hemodiálisis del Hospital de Especialidades del CMN “La Raza”.

Material y Métodos: Se realizó un estudio transversal de diciembre de 2007 a marzo del 2008, mediante la revisión de expedientes clínicos y llenado de la hoja de captación de datos, para la conformación de la base de datos a un total de 132 pacientes de la unidad de hemodiálisis del Hospital de Especialidades del CMN “La Raza” con más de tres meses en hemodiálisis. A todos se les realizó un cuestionario para evaluar sus características demográficas y una serología viral para el VHC y el VHB, además de una toma de muestra sanguínea para la obtención de pruebas moleculares del VHC y VHB, así mismo se evaluaron los posibles factores asociados a detección de viremia por VHC y VHB en este tipo de población. Análisis estadístico. Se calculó estadística descriptiva para variables demográficas, se calculó coeficiente de correlación Phi y se consideró bueno si es mayor de 0.25, con un valor de $p < o$ igual 0.05, así mismo se conformaron tablas de 2x2 para determinar Chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher, mediante el programa estadístico SPSS ver 11.5.

Resultados: De un total de 132 pacientes que acudieron a Hemodiálisis, 109 pacientes cumplieron los criterios de inclusión de los cuales 5 pacientes fueron eliminados por pérdida de información. Se estudió una población total de 104 pacientes, 56 hombres y 48 mujeres con una media de 35 años (16-81 años), con insuficiencia renal y en hemodiálisis un mínimo de 3 meses. Se identificó serología positiva para el VHC en el 6.7 % y serología positiva para VHB en el 5%, sin embargo el PCR cualitativo para VHC fue positivo en el 8% y en el 1% para VHB, con una relación con respecto a la seroconversión del 50% para ambos. El análisis univariado no demostró asociación con el número de transfusiones recibidas, encontrándose sin embargo, una fuerte asociación entre la positividad para el VHC y el antecedente de haber recibido una transfusión antes de 1993, así como un tiempo en hemodiálisis $>$ a 3 años. El genotipo para VHC encontrado en todos los pacientes con viremia detectada fue el 1a.

Marco Teórico.

Las hepatitis virales son un problema trascendental en la salud pública mundial, ya que se presentan tanto en la población normal como en grupos de alto riesgo. Dentro de los grupos de alto riesgo que se ven mayormente afectados están pacientes politransfundidos principalmente pacientes hemofílicos y en hemodiálisis así como sujetos usuarios de drogas principalmente por vía parenteral y/o con alto grado de promiscuidad. A nivel nosocomial la transmisión de los virus de hepatitis se ha convertido en un problema importante en los centros de hemodiálisis de todo el mundo. La asociación entre hepatitis viral e insuficiencia renal es frecuente por el uso de productos sanguíneos, procedimientos médicos invasivos múltiples en los cuales existe exposición del paciente y otros. Por lo que las hepatitis virales producen un efecto deletéreo sobre la salud general del paciente sobre todo en aquellos con insuficiencia renal observándose así que la hepatitis viral se convierte en una entidad difícil de diagnosticar y tratar.

El virus de la hepatitis B (VHB) fue el primer virus hepatotrofo de importancia clínica identificado en centros de hemodiálisis ya que se han descrito brotes epidémicos de hepatitis en pacientes sujetos a hemodiálisis desde 1960¹. Con el desarrollo de pruebas serológicas para el VHB desde 1970 los centros para el control y prevención de las enfermedades de Estados Unidos (CDC) han realizados estudios de vigilancia a nivel nacional en todas las unidades de hemodiálisis para estudiar las patologías infecciosas asociadas a los pacientes renales. De acuerdo a estos estudios, en 1974 la incidencia en Estados Unidos (E.U) de infección aguda por VHB entre pacientes en hemodiálisis fue de 6.2% y en el personal de salud de 5.2%, con índices del 30% en centros seleccionados, en 1980, la incidencia disminuye al 1% y para 1997 es del 0.05%². La prevalencia del antígeno de superficie para VHB (AgVHBs) entre pacientes de hemodiálisis en E.U descendió del 7.8% en 1976 a 3.8% en 1980, y al 0.9% en 1997, datos provenientes desde 1970 a 1980 en pacientes de hemodiálisis en Europa occidental se encontró que la presencia del AgVHBs fue del 10.4% con

notificaciones previas del 34%, cifras que al igual que en E.U. muestran menor prevalencia³. En el 2002, el CDC reportó a nivel nacional que la prevalencia del AgVHBs entre los pacientes fue del 1% y la incidencia para la infección del VHB fue del 0.12%. Es importante resaltar que en este estudio se prioriza el uso de la vacunación contra el VHB que ha sido determinante para este decremento, reportándose que durante el período de 1997-2002 el número de pacientes vacunados contra el VHB se incrementó de un 47% a un 56% y el porcentaje de personal trabajador de estas unidades inmunizados fue del 87% al 90%⁴. No obstante en otras partes del mundo, como Brasil, se estima una prevalencia del 7.5% al 28%⁵. Algunos de los factores asociados a la propagación del VHB incluyen la transfusión de hemoderivados, duración y frecuencia de hemodiálisis, contaminación del equipo de hemodiálisis y/o contacto entre pacientes o trabajadores de la salud infectados por el VHB⁶. En la actualidad, la infección por el VHB ha sido efectivamente controlada en la mayoría de los centros de hemodiálisis del primer mundo, por vacunación activa, adecuadas pruebas serológicas a los donadores de sangre, el uso de eritropoyetina y una serie de medidas preventivas como la separación de pacientes por habitaciones, personal y equipos de hemodiálisis en función de su estado de positividad a la prueba del antígeno de superficie del VHB. Sin embargo a pesar de la supervisión del paciente y sus contactos, la descontaminación de los equipos de hemodiálisis y la optimización de procedimientos de asepsia en los centros, aún existe un alto riesgo de transmisión nosocomial del VHB, por la deficiente identificación de los enfermos infectados por éste virus que comparten equipos y personal o a la falta de vacunación de personas susceptibles^{7,8}. Existe además un escrutinio incorrecto en los pacientes que ingresan a los centros de hemodiálisis, ya que datos recientes evidencian falsos negativos en técnicas serológicas de segunda y tercera generación, que no presentan una buena sensibilidad en pacientes inmuno-comprometidos o con recambios plasmáticos constantes como los pacientes en hemodiálisis, en donde solo se pueden aplicar pruebas moleculares para la detección de los ácidos nucleicos del virus.

La presencia de DNA del VHB en los casos de AgVHBs negativo en suero se conoce como “hepatitis B oculta”⁹, existen reportes que indican que las infecciones ocultas por VHB son frecuentemente encontradas en los casos de carcinoma hepatocelular, pacientes en hemodiálisis y coinfecciones con hepatitis C, en un estudio realizado en una unidad de hemodiálisis en Turquía¹⁰ se demostró que el 12.4% de los pacientes en hemodiálisis con antígeno de superficie para VHB negativo tenían DNA de VHB por PCR sérico, con cargas virales en promedio mayores a 10000 copias/mL, además de una prevalencia mayor de hemodiálisis coinfectada por VHC detectándose en un 27.5%, así mismo reportaron la presencia en un 9.1% de DNA del VHB en pacientes con positividad serológica solamente del anticuerpo core total para VHB, es decir, presencia de virus de hepatitis B en pacientes en los que solo se les considera la previa exposición al virus, por lo que debe considerarse la alta prevalencia de hepatitis B oculta en este tipo de pacientes y realizarse detecciones de VHB mediante pruebas mas sensibles a las serológicas como es el caso del PCR¹¹.

Actualmente el virus de la hepatitis C (VHC) es la causa más común de enfermedad hepática crónica en pacientes con enfermedad renal terminal. Se estima que su prevalencia varía entre el 3 al 71%^{12,13}. En México, Uribe y cols.¹⁴ estimaron una seroprevalencia del 6.7% en hemodializados siendo por lo tanto de 2 a 10 veces mayor que en la población general. Sin embargo en un estudio realizado en la unidad de hemodiálisis del hospital de especialidades del CMN La Raza¹⁵, se encontró una prevalencia del 13.2% para la infección por el VHB y del 15.4% para la infección del VHC. Es muy importante el poder realizar un escrutinio adecuado de los pacientes en hemodiálisis. En México de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana-171 de la Secretaria de Salud se recomienda una prueba de escrutinio mensual para la detección de hepatitis viral en pacientes en hemodiálisis. Existen otros estudios que nos revelan la importancia de pruebas moleculares en estos pacientes, Jadul¹⁶ en los años 90 observó en la unión Europea una prevalencia del 17% del VHC en pacientes en hemodiálisis con una incidencia anual del 1.7% que disminuyó al 7% a finales de los años 1998-99, así mismo en otro estudio¹⁷ que contó con 1,323 pacientes en diálisis se encontró el 18.3% de

anticuerpos anti-VHC de los cuales el 70% fueron RNA VHC positivos. Estudios realizados en otros países como Irán¹⁸ en un trabajo realizado en 548 pacientes dializados se mostró una seropositividad anti-VHC en el 19.6% de su población, obteniéndose en el 48.6% RNA del VHC positivo, por otro lado Al Jiffri y col.¹⁹ notificaron prevalencias hasta del 72,6% en pacientes en hemodiálisis, confirmándose la presencia sérica de VHC por PCR en el 64.6% de los seropositivos, resultados que indican que no necesariamente la seropositividad anti-VHC es indicativa de persistencia de viremia en esta población de riesgo, resultados que muestran la necesidad nuevamente de pruebas más sensibles como es el caso del diagnóstico molecular en este tipo de poblaciones.

El riesgo de transmisión del VHC en pacientes que reciben hemodiálisis por transfusión sanguínea ha sido considerablemente reducida desde el escrutinio en la sangre de donadores a partir de 1992 y el uso de eritropoyetina ha disminuido la necesidad de transfusiones en los casos de anemia, sin embargo la transmisión del VHC en unidades de hemodiálisis no ha sido disminuido, reportándose brotes epidémicos por análisis filogenéticos, que sugieren otras vías de transmisión además del parenteral como en el caso de punciones cutáneas con material punzocortante contaminado de paciente a paciente, de proveedor de la salud a paciente o contaminación de líneas de hemodiálisis de paciente a paciente vía manos del proveedor de salud, y las relacionadas a la re-utilización de dializadores o equipos de diálisis o bien a la contaminación interna de máquinas de hemodiálisis²⁰.

De la misma forma en que se han estudiado casos de Hepatitis B ocultas se ha descrito casos de Hepatitis C ocultas²¹. La etiología de estas enfermedades hepáticas es desconocida en aproximadamente 10% de los pacientes con resultados anormales. Algunos autores han reportado que la hepatitis B oculta podría ser la causa de hepatitis crónicas criptogénicas aunque no se ha establecido totalmente esta asociación²². En el 2004 Castillo y col²³, describieron por vez primera el rol del VHC oculto en la enfermedad hepática crónica de etiología desconocida. Actualmente se

considera al VHC oculto como una entidad recientemente caracterizada. Las infecciones ocultas por el virus de la hepatitis C se puede presentar en dos diferentes situaciones clínicas: pacientes con serología negativa anti-VHC y RNA-VHC sérico negativo y pruebas de función hepática alteradas o en sujetos con serología anti-VHC positiva y con valores normales en las enzimas hepáticas sin ningún indicio de RNA-VHC; con un diagnóstico mediante identificación del RNA-VHC en tejido hepático o en células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Aproximadamente el 70% de los pacientes con VHC-RNA intrahepático también tienen RNA viral en células mononucleares de sangre periférica, a este respecto se ha cuestionado la replicación viral dentro de PBMC, encontrando Castillo y cols por PCR en tiempo real que el 61% de los pacientes con RNA-VHC en PBMC presentan RNA-VHC antigenómico indicativo de la replicación en estas células, y aunque hasta el momento actual no se han detectado viriones circulando, éstas células podrían ser potencialmente infecciosas.

Se ha reportado que existe una alta prevalencia de infección por el VHB oculta en pacientes con hepatitis C crónica (HCC), con HCC y hemodiálisis, enfermedad criptogénica de hígado, usuarios de drogas y pacientes con VIH, en pacientes transfundidos repetidamente como los hemofílicos y en donadores de sangre. Sugiriéndose que la infección por VHB oculta se pudiera asociar, por una mala respuesta del VHC a la terapia con interferón en pacientes con función renal normal^{24, 25}.

Justificación.

En la actualidad se sabe que la prevalencia de las hepatitis viral B y hepatitis viral C entre los pacientes en hemodiálisis es muy alta sobre todo en países en desarrollo. En México contamos con poca información que nos permita determinar la magnitud del problema y no se ha establecido ningún estudio para conocer la existencia de los virus de hepatitis C y B ocultos. Sobre todo, en poblaciones de riesgo como los pacientes en hemodiálisis que pueden estar presentes sin tener ninguna manifestación clínica, con resultados de serología negativa e inclusive PCR séricos negativos. Por lo que consideramos importante detectar adecuadamente estos virus en los pacientes con mayor riesgo, como los pacientes en hemodiálisis para proveer tempranamente de cuidados que disminuyan el daño hepático que pudieran ocasionar. Hasta el momento no existe una información real y actualizada acerca de la prevalencia del VHC y VHB ocultos de acuerdo a las nuevas metodologías. Por lo que, estos conocimientos nos permitirían realizar proyectos futuros para implementar medidas de prevención en este tipo de pacientes, sobre todo en las unidades de hemodiálisis.

Planteamiento del problema.

¿Cuál es la prevalencia de la infección oculta por virus de la hepatitis C y virus de hepatitis B en pacientes de la unidad de hemodiálisis del Hospital de Especialidades del CMN “La Raza”?

Objetivo General

Identificar mediante pruebas moleculares los Virus de hepatitis B y C ocultos en pacientes en hemodiálisis del Hospital de Especialidades del CMN “La Raza”.

Objetivos Específicos

1. Conocer mediante pruebas serológicas la prevalencia de los Virus de hepatitis B y C en pacientes en hemodiálisis.
2. Analizar mediante pruebas moleculares la prevalencia de los Virus de hepatitis B y C entre pacientes en hemodiálisis.
3. Identificar posibles factores asociados a la mayor prevalencia de Virus de hepatitis B y C entre pacientes en hemodiálisis.
4. Determinar las características virológicas y genotipo del Virus de hepatitis C entre los pacientes en hemodiálisis.

Material y Métodos.

Se realizó un estudio transversal de diciembre de 2007 a marzo del 2008, mediante la revisión de expedientes clínicos y llenado de la hoja de captación de datos (anexo 1) para la conformación de la base de datos a un total de 132 pacientes de la unidad de hemodiálisis del Hospital de Especialidades del Centro Medico Nacional “La Raza” con más de tres meses en hemodiálisis. A todos se les realizó un cuestionario para evaluar sus características demográficas y una serología viral para el VHC y el VHB, una toma de muestra sanguínea para la obtención de pruebas moleculares del VHC y VHB, y se evaluaron los posibles factores asociados reportados con mayor frecuencia. Se evaluó el número de centros de hemodiálisis visitados, la politransfusión, el tiempo en hemodiálisis y de la primera hemotransfusión para la mayor prevalencia de hepatitis viral en este tipo de población, determinándose las características virológicas y de genotipo del virus de hepatitis C.

Procesamiento de las muestras.

La recolección, transporte y procesamiento de las muestras, se realizó de acuerdo a los lineamientos establecidos para el manejo de muestras sanguíneas y productos biológicos. Las técnicas moleculares para la detección de ácidos nucleicos del VHC se realizó mediante el ensayo de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR cualitativo) y del VHB (PCR cualitativa), en la Unidad de Investigación perteneciente al Hospital de Infectología Centro Médico “La Raza”. Se obtuvo una muestra de sangre periférica utilizando tubos libres de DNAsas y RNAsas con EDTA, colocándose inmediatamente a 4°C. Se centrifugaron a 1500 rpm por 15 minutos a 4 ° C, recolectándose el plasma en crió tubos y se almacenaron a – 70 ° C hasta su uso posterior.

a. Para la prueba molecular de detección del VHB se obtuvo a partir del plasma el DNA (Ampli-DNA, QIAGEN USA) y se almacenó a –70°C. Posteriormente para la detección del virus de la hepatitis B se procedió a realizar una prueba de PCR como se ha mencionado anteriormente y se utilizaron los iniciadores M3 y C3. Una vez obtenida la muestra se realizó un corrimiento electroforético en geles de agarosa al 2%.

b. Para la obtención del VHC se hizo el aislamiento del RNA viral a partir de plasma utilizando el sistema de purificación por columnas, (QIAamp viral RNA, QIAGEN USA) y finalmente la muestra obtenida se almacenó a -70°C . Se realizó primero la síntesis de cDNA a partir de RNA viral. Para la realización del PCR cualitativo se procedió a la amplificación de la región 5'UTR no codificable del HCV la cual se realiza montando una primera vuelta y posteriormente una prueba anidada. Se utilizó para la primera PCR los iniciadores KY78 y KY80 y para el PCR anidado los iniciadores RIP y FIP. Una vez obtenida la muestra se realizó un corrimiento electroforético en geles de agarosa al 2%. En un paciente positivo se espera una banda de 200pb.

c. Para la obtención de los virus ocultos de hepatitis C se procedió a la obtención del paquete leucocitario a partir de las muestras sanguíneas obtenidas. Inicialmente se realizaron a los botones celulares 3 lavados con MgCl_2 al 5mM en un volumen de 50 ml en tubos Falcon. El primer lavado se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos a 4°C , y se descartó el sobrenadante, los dos siguientes lavados se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos cada uno y también se descartó el sobrenadante. El botón celular se resuspendió con 1 ml de PBS (solución buffer NaCl- KCl, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4) en tubos eppendorf de 1.5 ml y se centrifugó 3 minutos descartando el sobrenadante. Este último paso se repitió 3 veces. Por ultimo el botón se resuspende en 500 μl de Trizol y se almacena a -80°C hasta su uso posterior. A partir de estos botones se procedió a la obtención del cDNA para obtener el RNA del VHC, de acuerdo a las técnicas moleculares descritas y así se detecto la existencia de virus ocultos.

Análisis estadístico. Se calculó estadística descriptiva para variables demográficas, incluyendo media y desviación estándar para variables cuantitativas, así como porcentajes para variables nominales, se calculo coeficiente de correlación Phi y se considero bueno si es mayor de 0.25, con un valor de $p < \text{o igual } 0.05$, así mismo se conformaron tablas de 2x2 para determinar Chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher, mediante el programa estadístico SPSS ver 11.5.

Resultados.

De un total de 132 pacientes que acudieron a Hemodiálisis del Hospital de Especialidades Centro Medico Nacional “La Raza” durante el periodo de diciembre de 2007 a marzo de 2008, 109 pacientes cumplieron los criterios de inclusión de los cuales 5 pacientes fueron eliminados por pérdida de información. Se estudió una población total de 104 pacientes, 56 hombres y 48 mujeres con una media de 35 años (16-81 años), con insuficiencia renal y en hemodiálisis un mínimo de 3 meses, aunque de éstos el 28% había estado durante más de 3 años, tabla 1.

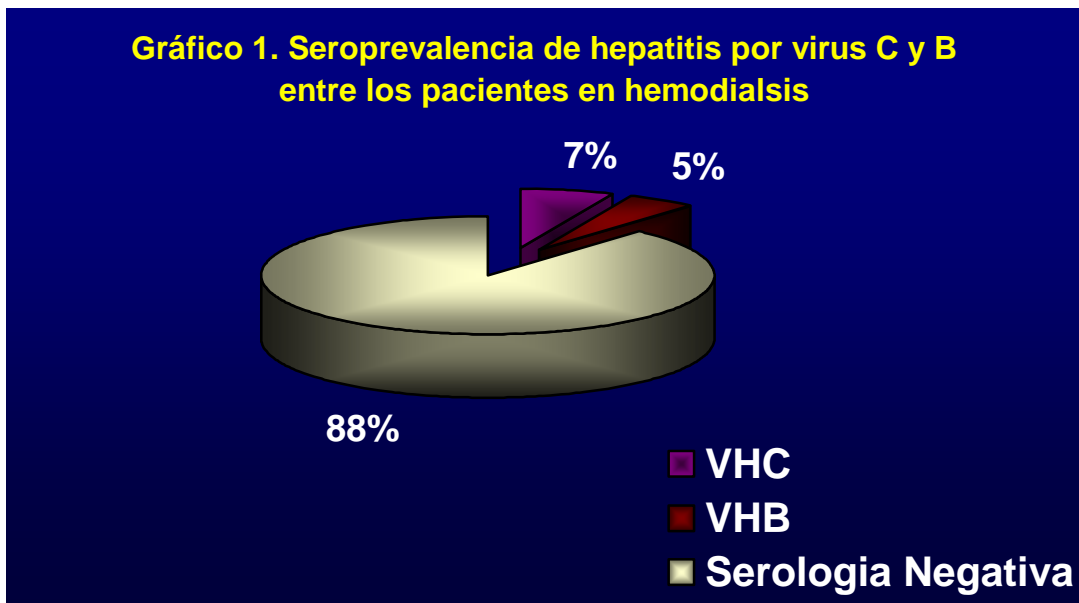
Tabla 1. Características demográficas.

Variable Demográfica	Valor
Edad	35 (16- 81) años
Género	H56:M48
Tiempo en HD	< 3 años 72% > 3 años 28%
Unidades de HD visitadas	HECMR 85 % (88) >1 Unidad de HD 15% (16)
Hemotransfundidos	Nunca 9 % (10) <10 PG 64 % (66) 10-50 PG 24 % (24) >50 PG 3 % (3)
Año de primera hemotransfusión	< 1992 8 % (8) > 1992 92 % (96)
Tipo de acceso vascular	Cateter Mahurkar 64% (67) Fistula A-V 36 % (37)

HD: Hemodiálisis, H: Hombres, M: Mujeres, HECMR: Hospital de Especialidades CMN “La Raza”

1. Prevalencia serológica de los Virus de hepatitis B y C en pacientes en hemodiálisis.

Se identificó la serología positiva para el VHC en el 7% y la serología positiva para el VHB en el 5% correspondiendo el 3% a hepatitis B activa entre la población en hemodiálisis. (Gráfico 1)



2. Prevalencia de los Virus de hepatitis B y C mediante pruebas moleculares en pacientes con hemodiálisis.

- La prevalencia de hepatitis viral C mediante RT-PCR cualitativo en la población en hemodiálisis fue del 8% (n = 8) (Gráfico 2), pudiendo destacar que solo el 50% de los pacientes con el virus de hepatitis C detectable por RT-PCR cualitativo tienen serología positiva (Ab-antiVHC +) que corresponde al 60% de la población con serología positiva una vez que se confirman mediante RT-PCR para VHC (Figura 1), el resto manteniendo únicamente la memoria inmunológica de la presencia previa de la infección (Gráfico 3), encontrándose como hallazgo que solo el 3% de la población con virus de hepatitis viral C mediante RT-PCR mostró leve alteración en transaminasas, es decir sin un aumento no más allá de dos veces lo normal.

Grafico 2. RT-PCR para hepatitis viral C en pacientes en Hemodialisis

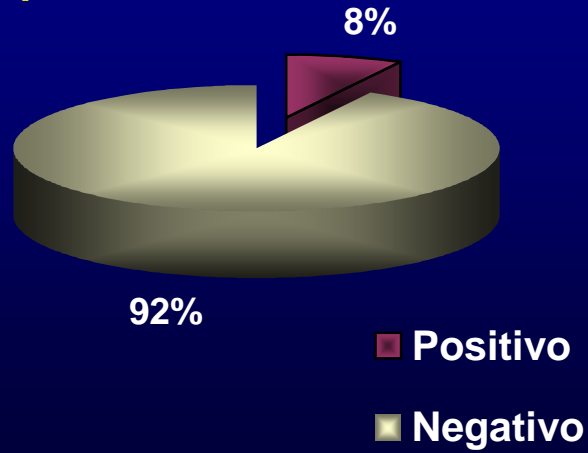


Grafico 3. Seroprevalencia para VHC con RT-PCR positivo

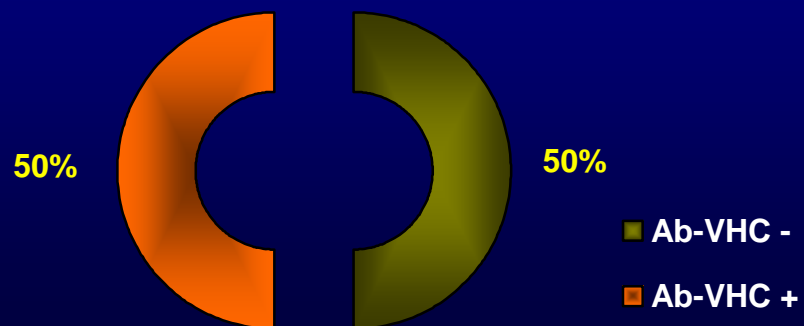
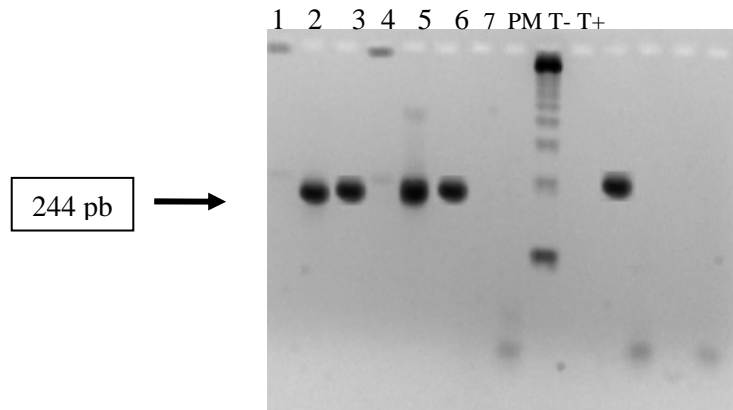


Figura 1. RT-PCR cualitativo para VHC en pacientes en hemodiálisis con serología positiva.



T-PCR cualitativa (I.M.S.S.) P.M. marcador de 100pb, 1, 2, 4 y 5 muestras con serología positiva y RT-PCR VHC positivo, muestras de pacientes 3, 6 y 7 serología positiva con RT-PCR VHC negativo, T- testigo negativo, T+ testigo positivo.

- La prevalencia de hepatitis viral B mediante PCR cualitativo en la totalidad de la población en hemodiálisis fue del 1 % (Figura 2 y 3), siendo del 20% entre pacientes con serología positiva (Grafico 4).

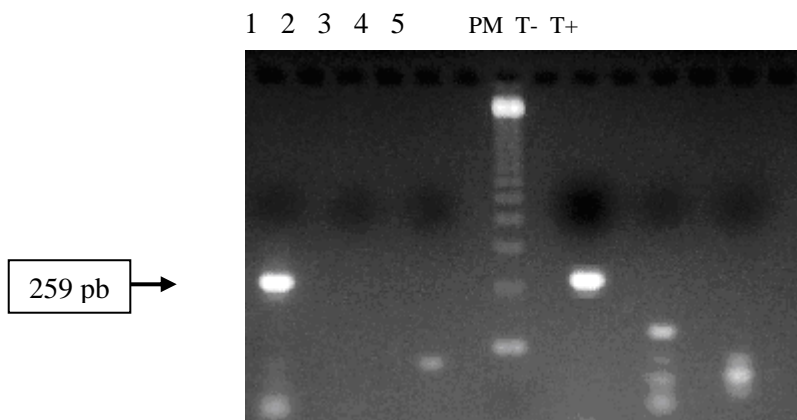


Figura 2. PCR cualitativa para VHB, muestra 1 positiva para VHB, muestras 2,3,4,y 5 negativas todas con serología positiva para VHB.

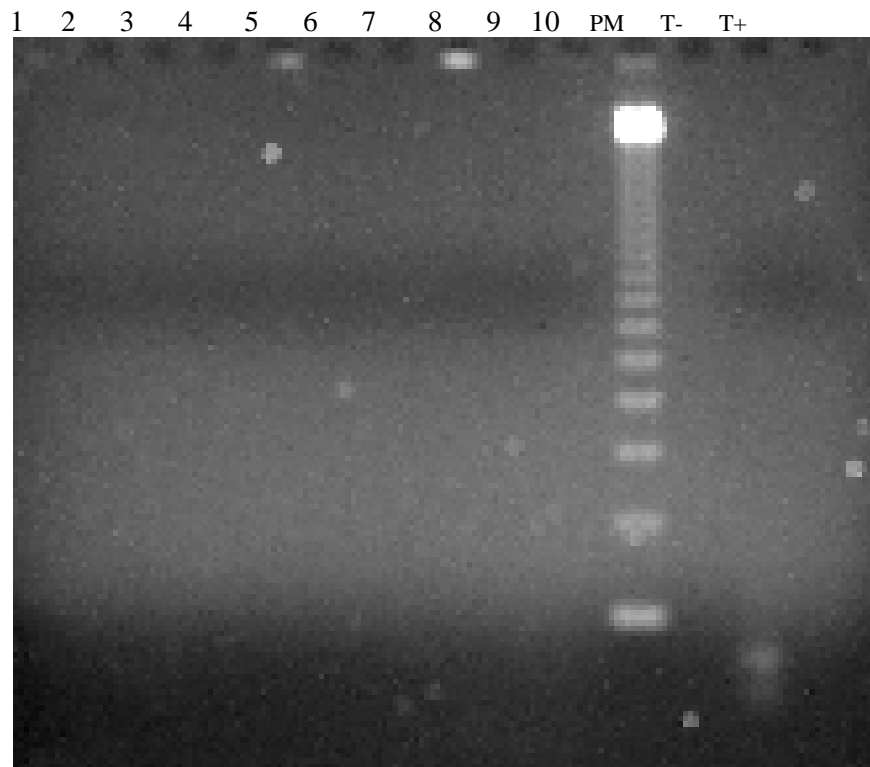


Figura 3. Se formaron 10 pool de los 99 pacientes en hemodiálisis restantes, con serología negativa para VHB, resultando todos los PCR cualitativos, negativos para VHB.



3. Identificar posibles factores asociados a la mayor prevalencia de Virus de hepatitis B y C entre pacientes en hemodiálisis.

No se identificó ninguna correlación entre la mayor detección del virus de hepatitis C por RT-PCR y el número de hemotransfusiones recibidas, así mismo, la fecha de diagnóstico de IRC, sin embargo si se encontró una fuerte asociación entre la detección del virus C por RT-PCR y la fecha de la primera hemotransfusión con una $p < 0.01$ por coeficiente Phi en hemotransfundidos antes de 1990 y por pruebas de Chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher cuando se clasificaron hemotransfusiones antes del año 2000 y después de 2000, así mismo se identificó una correlación elevada en el tiempo > 3 años de hemodiálisis y la detección de RNA-VHC con una $p < 0.01$ por coeficiente Phi. En la tabla 2, se desglosa el resto de posibles factores asociados a mayor prevalencia de VHC, de acuerdo a coeficiente Phi, Chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher, .

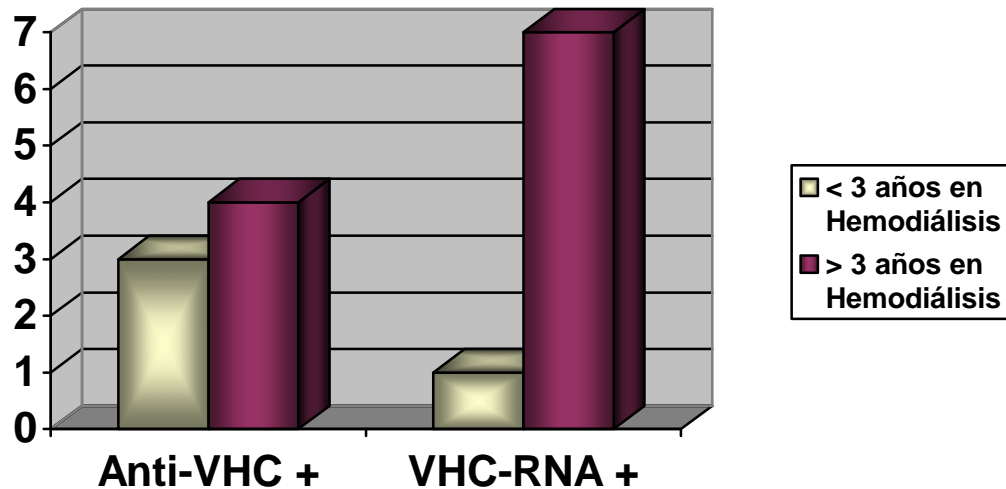
Es de notable importancia encontrar que no existe correlación entre el mayor tiempo en hemodiálisis (>3 años) y la prevalencia de serología positiva para el VHC con un coeficiente Phi de 0.090 ($p = 0.36$) sin embargo al identificar la asociación con la presencia del RNA plasmático del VHC se encuentra un coeficiente Phi de 0.38 ($p < 0.01$) (Grafica 5).

Tabla 2. Análisis univariable de pacientes con factores asociados a la detección de RNA-VHC en pacientes con hemodiálisis

Factor asociado para VHC	RT-PCR VHC +	RT-PCR VHC-	Coefficiente Phi (Valor P)	Chi-cuadrada	Prueba exacta de Fisher
Tiempo en Hemodiálisis					
< 3 años	1	74	.43		
> 3 años	7	22	(p < 0.0001)		
Fecha de primera Hemotransfusión					
< 1992	4	3	.55	27.68*	
1992-2000	3	12	(p < 0.0001)	(p < 0.01)	p < 0.01*
> 2000	1	70			
No transfusión	0	10			
Única unidad de Hemodiálisis visitadas					
Si	4	84	.27	16.91	
No	4	12	(p = 0.005)	(p < 0.01)	p < 0.01
Vía de hemodiálisis					
Fístula A-V	8	29	.38	14.29	
Catéter Mahurkar	0	67	(p < 0.0001)	(p < 0.01)	p < 0.01

* Hemotransfusiones antes del año 2000 y hemotransfusiones después del año 2000.

Grafica 5. Influencia de la duración de hemodiálisis sobre la prevalencia de anticuerpos-VHC y VHC-RNA en pacientes en hemodiálisis



La prevalencia en la detección del DNA-VHBc solo se confirmó en un paciente de dos, con AgsVHB positivo, 3 pacientes más solo mostraron Anti-VHB core positivo, por memoria inmunológica, por lo que no se realizaron análisis univariados por la baja prevalencia.

4. Determinar las características virológicas y genotipo del Virus de hepatitis C entre los pacientes en hemodiálisis.

Se realizó la cuantificación de carga viral en todos los pacientes con detección de RNA-VHC oscilando con una mediana de 2, 530, 000 (2230-5,340,000 copias), todos con genotipo 1a.

En cuanto al único paciente con detección DNA-VHB se realizó la cuantificación de la carga viral mediante PCR VHB S determinándose en aproximadamente 8, 350 000 copias.

Prevalencia de Hepatitis oculta por VHC

Respecto a la identificación de RNA-VHC proveniente del botón leucocitario se encontró en todos los pacientes con RNA-VHC positivo en plasma, sin lograr su hallazgo en ningún paciente con serología negativa o RNA-VHC negativo.

Prevalencia de Hepatitis oculta por VHB

La identificación de DNA-VHB en pacientes con serología negativa para VHB no se obtuvo, solo identificándose DNA-VHB en un paciente el cual contaba con AgsVHB positivo, por lo que no existieron casos de hepatitis oculta por VHB.

Discusión.

Actualmente, los pacientes en hemodiálisis crónica constituyen uno de los grupos de alto riesgo para la infección por VHC y VHB, la prevalencia de estos virus en centros de hemodiálisis varía entre un 8 - 53%^{26,27} y 7.5-28%⁵ respectivamente, en el presente estudio se identificó una prevalencia por métodos moleculares del 8% y 1%, para ambos virus en esta unidad de hemodiálisis en México. Por otra parte, la seroprevalencia del VHC reportada por Uribe y cols.¹⁴ de 6.7% realizada en unidades de hemodiálisis en México es similar a la seroprevalencia encontrada en nuestra unidad, sin embargo es variable con los diferentes países a nivel mundial desde un 8 a un 53%²⁸, con un promedio del 19% por lo que podemos considerar que la seroprevalencia para VHC en nuestro medio es de las más bajas a nivel mundial. En México son pocos los reportes de prevalencias para virus de hepatitis B y C por métodos moleculares, a este respecto Hinrichsen y cols.²⁹, en Alemania reportan una viremia detectada para el VHC del 4% con una seroprevalencia del 6.7%, determinando también que el 21.6% de la población con viremia RNA-VHC detectada, cuentan con serología negativa para el VHC en unidades de hemodiálisis de Alemania. A diferencia de este informe en nuestro medio encontramos que si bien no existen grandes diferencias entre las prevalencias encontradas, una viremia detectada para VHC del 8% mayor que la seroprevalencia del 6.7% pero con el hallazgo de que el 50% de la población con viremia RNA-VHC detectada cuentan con serología negativa, es una evidencia consistente para concluir el lugar preponderante y la importancia en el escrutinio y la detección de la viremia, principalmente para el VHC en poblaciones de alto riesgo como son los pacientes en hemodiálisis. De igual forma encontramos que la detección de viremia para RNA-VHC solo se obtuvo en el 60% de los pacientes con serología positiva para VHC, identificándose que el 40% de los pacientes con anticuerpos anti-VHC no cuentan con infección actual por VHC y deben recibir hemodiálisis en sitios y aparatos diferentes al resto de la población con viremia RNA-VHC detectable.

Los factores asociados a mayor prevalencia de viremia RNA-VHC en nuestro análisis son los mencionados habitualmente en trabajos publicados al respecto como son el tiempo en hemodiálisis, en otros reportes se ha encontrado asociación con el número de transfusiones de hemoderivados y características del centro de hemodiálisis, en el presente informe no se identificó el número de transfusiones de hemoderivados asociadas a mayor prevalencia de VHC, sin embargo, el número de transfusiones recibidas ha sido señalado³⁰ que se comporta como una relación dosis-respuesta entre el número de transfusiones en relación al riesgo de seroconversión. Al evaluarse en el presente estudio no se encontró asociación entre la detección de RNA-VHC y el número de transfusiones, destacando que existe una fuerte correlación entre la detección de viremia RNA-VHC y el antecedente de la fecha de la primera hemotransfusión previa al año de 1993 con una $p < 0.0001$, lo que también ha sido señalado por otros autores, este hecho unido a las pruebas de escrutinio en donadores de sangre de forma obligada a partir de ese año en los bancos de sangre.

El tiempo en hemodiálisis prolongado >3 y > 10 años ha sido señalado reiteradamente como riesgo para adquirir hepatitis C, Niu y cols²⁷ consideran que este factor puede reflejar el riesgo acumulado de exposición a sangre infectante en el lugar de diálisis (transmisión nosocomial), por otro lado a este respecto se identificó que no existe correlación con la duración en hemodiálisis y la serología positiva para VHC, demostrándose con suficiente claridad la asociación con la detección de la viremia RNA-VHC y el tiempo de hemodiálisis con $p < 0.01$, infiriéndose una posible asociación que a mayor tiempo en hemodiálisis mayor riesgo de haber sido transfundido antes de 1993.

Todos los autores coinciden en destacar la importancia de implementar el estricto cumplimiento de las medidas universales de barrera como una forma eficaz de disminuir el riesgo de seroconversión en los centros de hemodiálisis. Dado que la detección de anticuerpos anti-VHC positivos no implica la existencia de viremia (lo que varía según diferentes comunicaciones entre 51 y 93%)³¹, consideramos que las conclusiones epidemiológicas deben ser cuidadosas y que para instrumentar separación de pacientes por aparatos o ambiente de hemodiálisis o ambas formas, el criterio a

emplearse debería ser la determinación seriada de viremia RNA-VHC mediante RT-PCR y así detectar pacientes con viremia fluctuante, candidatos a tratamiento o pacientes sin infección actual por VHC.

En el presente estudio se confirmó que la seroconversión a anticuerpos anti-VHC no ocurre en todos los pacientes en hemodiálisis, Hirschsen y cols²⁹ reportan que el 0.8% de una cohorte de 2796 pacientes en hemodiálisis no desarrolló anticuerpos anti-VHC, es destacable que en nuestro medio el 3.8% de 104 pacientes en hemodiálisis no desarrollaron anticuerpos anti VHC, ninguno coinfectado por Virus de inmunodeficiencia humana y el 1% coinfectado con VHB, aunque sin viremia DNA-VHBc detectable con AgsVHB positivo.

Otro aspecto no menos importante, es el que se refiere a muchos estudios donde se observa una gran implicación de la infección por VHB en unidades de hemodiálisis, en la presente investigación de 104 pacientes, 2,8% mostraron infección antigua por VHB basada en la reactividad de los anticuerpos anti-VHBc totales, 2% con AgsVHB, esto nos muestra prevalencias bajas cuando a este respecto se han reportado en diferentes casuísticas prevalencias del 32.2% y 10% respectivamente⁵, en Arabia Saudita³² existen informes con serología positiva a VHB hasta en el 72.7% en pacientes en hemodiálisis, en áreas hiperendémicas a hepatitis viral B, por ejemplo Carrillo y cols reportan que el DNA-VHB fue detectado por PCR en el 7.6% de 813 pacientes y en el 76.% de 81 pacientes con AgsVHB presentes, confirmándose la alta replicación viral frecuente en estos pacientes. En nuestro estudio se identifican prevalencias menores a las reportadas a nivel mundial siendo detectable la viremia a DNA-VHB solo en el 1% de la población en hemodiálisis y en el 50% de los pacientes con AgsVHB positivo, por lo que, por las bajas prevalencias no se logró obtener un análisis univariado para evaluar los posibles factores asociados a infecciones por el VHB en pacientes en hemodiálisis, coincidiendo con otros autores en destacar la importancia de implementar profilaxis adecuadas para el VHB en estas poblaciones de alto riesgo.

Conclusiones.

1. Al término de este estudio no fue posible identificar las hepatitis ocultas por VHC y VHB recientemente definidas por Carreño y cols²¹ en esta población de alto riesgo como son los pacientes en hemodiálisis. Se apreció la detección de viremia RNA-VHC en botón leucocitario de todos los pacientes con viremia RNA-VHC detectable en plasma, cuestión que excluye la definición de hepatitis oculta por VHC, de igual forma no se detectó viremia DNA-VHB en pacientes sin serología positiva a VHB lo que también excluye su definición.
2. La seroprevalencia para VHC y VHB en la población en hemodiálisis de la Unidad de Hemodiálisis del Hospital de Especialidades CMN “La Raza” es del 6.7% y 4.8% respectivamente.
3. La prevalencia para VHC y VHB por detección de viremia mediante pruebas moleculares cualitativas en la población en hemodiálisis de la Unidad de Hemodiálisis del Hospital de Especialidades CMN “La Raza” es del 8% y 1% respectivamente, con una relación con respecto a la seroconversión del 50% para ambos.
4. Los factores asociados a mayor prevalencia de viremia RNA-VHC en nuestro análisis son los mencionados habitualmente por otros autores como: el tiempo > a 3 años en hemodiálisis, el antecedente de haber sido transfundido antes de 1993, el hemodializarse en más de una unidad de hemodiálisis, etcétera.
5. El genotipo de VHC prevalente en su totalidad es el 1a.

Finalmente, al término de este estudio es posible concluir que el criterio definitorio de hepatitis viral por VHC o VHB en poblaciones de alto riesgo como son los pacientes en hemodiálisis debería ser la determinación de viremia RNA-VHC mediante RT-PCR o DNA-VHB por PCR, con la finalidad de proveer tempranamente cuidados que disminuyan el daño hepático que pudieran ocasionar. Por lo que, estos conocimientos nos permitirán realizar proyectos futuros para implementar medidas de prevención en este tipo de pacientes, sobre todo en las unidades de hemodiálisis.

Bibliografia.

1. Sydney Tang, Kar Neng Lai. Chronic viral hepatitis in hemodialysis patients, *Hemodial Int*, 2005; 9(2): 169-79.
2. Zacks Steven, Fried Michael. Hepatitis B and C and renal Failure. *Infectious disease clinics of North America*, 2001; 3: 877-899.
3. Josselson J, Kyser BA, Weir MR, et al. Hepatitis B surface antigenemia in a chronic hemodialysis program: lack of influence on morbidity and mortality. *Am J Kidney Dis* 9: 456, 1987,
4. Finelli L, Miller JT, Tokars JI, Alter MJ, Arduino MJ. National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 2002. *Semin Dial*. 2005 Jan-Feb;18(1):52-61
5. Carrilho FJ, Moraes C, Pinho J, et al, Hepatitis B virus infection in Hemodialysis Centers from Santa Catarina State, Southern Brazil. Predictive risk factors for infection and molecular epidemiology. *BMC Public Health* 2004; 4:13.
6. Goffing E, Pirson Y, Scritchou CV: Implications of chronic hepatitis B or hepatitis C infection for renal transplant candidates. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (suppl 61):88-92.
7. Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. *J Clin Virol*. 2005 Dec;34 Suppl 1:S1-3. Review.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of hepatitis B virus infection among hemodialysis patients- California, Nebraska, and Texas, 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1996; 45: 285-289.
9. Mulrooney-Cousins PM, Michalak Tomasz I. Persistent occult hepatitis B virus infection: Experimental findings and clinical implications. *World J Gastroenterol* 2007 November 21; 13(43): 5682-5686
10. Yakaryilmaz F, Gurbuz OA, Guliter S, Mert A, Songur Y, Karakan T, Keles H. Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infections in Turkish hemodialysis patients *Ren Fail*. 2006;28(8):729-35Uslan I, Cetinkaya Z.

11. Altindiay M, et al. Investigation of hemodialysis patients in terms of the presence of occult hepatitis B. *Mikrobiyol Bul.* 2007 Apr;41(2):227-33
12. Tokars JJ, Frank M, et al, National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 2000, *Semin Dial.* 2002; 15:162-171.
13. Wreghitt TG. Blood-borne virus infections in dialysis units: a review. *Rev Med Virol* 1999; 9:101-109.
14. Méndez-Sánchez N, Uribe M, Motola-Kuba D. Prevalence of Hepatitis C virus Infection among Hemodialysis Patients at a Tertiary-Care Hospital in México City, México. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004; 2(9): 4321-4322.
15. Calderón GM, González-Velázquez F, González-Bonilla CR, Novelo-Garza B, Terrazas JJ, Martínez-Rodríguez ML, Cortés-Márquez SR, Blanco-Flores JP, Rodríguez-Rodríguez A, Del Campo MA, Cortés-Gómez R and Mejía-Bocanegra MG. Overview of prevalence and risk factors of HCV, HBV and HIV in polytransfused recipients. *Sometido a Transfusion* 2008.
16. Jadoul M. Epidemiology and mechanisms of transmission of the hepatitis C virus in Hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(suppl 8):39-41.
17. Salama G, Rostaing L, Sandres K, et al. Hepatitis C virus infection in French hemodialysis units: a multicenter study. *J Med Virol* 2000; 61:44-51.
18. Broman B, Shamshirsaz AA, Kamgar M, et al., Prevalence of hepatitis C infection and its risk factors in hemodialysis patients in Tehran: preliminary report from "the effect of dialysis unit isolation on the incidence of hepatitis C in dialysis patients" project. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2002; 13(4):467-72.
19. Al-Jiffri AM, Fadag RB, Ghabrah TM, et. al., Hepatitis C virus infection among patients on hemodialysis in jeddah: a single center experience. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2006; 14(1):84-9.
20. Savey A, Simon F, Izopet J. A large nosocomial outbreak of Hepatitis C virus infections at a hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:752-760

21. Carreño V. Occult hepatitis C virus infection: A new form of hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006 November 21; 12(43): 6922-6925
22. Chemin I, Zoulim F, Merle P, Arkhis A, Chevallier M, Kay A, Cova L, Chevallier P, Mandrand B, Trepo C. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34 447-454.
23. Castillo I, Pardo M, Bartolome J, Ortiz-Movilla N, Rodriguez-Inigo E, de Lucas S, Salas C, Jimenez-Heffernan JA, Perez-Mota A, Graus J, Lopez-Alcorocho JM, Carreño V. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis* 2004; 189: 7-14.
24. Siagris D, Christofidou M, Triga K, Pagoni N, Theocharis GJ, Goumenos D, Lekkou A, Thomopoulos K, Tsamandas AC, Vlachojannis J, Labropoulou-Karatza C. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Nephrol*. 2006 May-Jun;19(3):327-33
25. Goral V, Ozkul H, Tekes S, Sit D, Kadiroglu AK. Prevalence of occult HBV infection in haemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol*. 2006 Jun 7;12(21):3420-4.
26. Picciotto A, Varagona G, et al. Anti-hepatitis C virus antibodies and hepatitis C virus viraemia in haemodialysis patients. *Nephrol Dial. Transplan* 1993; 8: 1115-7.
27. Niu MT, Coleman PJ, et al. Multicenter study of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients and hemodialysis center staff member. *Am J Kidney Dis* 1993; 22 (4): 568-73.
28. Choo KI, Kuo G, et al. Isolation of cDNA clone derived from blood-borne nonA nonB viral hepatitis genom. *Science* 1989; 244: 359-62.
29. Hinrichsen H, Leimenstoll G, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. *Gut* 2002;51: 429-433.
30. Donahue JG. Declining risk of posttransfusion hepatitis C virus infection. *N Engl med* 1992; 327 (6):369-73.

31. McIntyre PG, McCrudden EAB, Dow BC. Hepatitis C virus hepatitis C infection by polymerase chain reaction among hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1993; 22 (4): 574-80.
32. Ashraf SJ, Arya SC, Viral hepatitis markers in patients on hemodialysis in a hyperendemic area. *J Med Virol*, 1986, 19: 41-46