



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO
“DR. EDUARDO LICEAGA”**

TITULO
**Estandarización de la Prueba de EDU Click (5-ethynyl-2'-
deoxyuridine), para evaluar linfoproliferación para
antígeno de superficie de virus de hepatitis B en pacientes
en hemodiálisis.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN NEFROLOGIA**

P R E S E N T A:

DR. FLAVIO FLORES CRUZ



**TUTOR: DR. RAFAEL VALDEZ ORTÍZ
COTUTORA: DRA. ROSA MARIA WONG CHEW**

MÉXICO, D.F.

JULIO DE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

HOJA DE FIRMAS

DR. CARDIEL M. LINO MARMOLEJO
DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO

DR. RAFAEL VALDEZ ORTÍZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL
GENERAL DE MÉXICO “DR. EDUARDO LICEAGA”

ABREVIATURAS

ALT

Alanino Aminotransferasa

AST

Aspartato aminotrasnferasa

Anti-HbsAg

Anticuerpos contra antígeno de superficie del Virus de Hepatitis B

**Anti-HBc
HbsAg**

Anticuerpos contra Virus de Hepatitis C
Antígeno de superficie del Virus de Hepatitis B

HVB

Virus de Hepatitis B

HBeAg

Anticuerpo contra Antígeno E del Virus de hepatitis B

EduClick

5-Etiniil-2'-deoxiruidina

ÍNDICE

	Página
I. Resumen	5
II. Marco Teórico	7
III. Justificación	16
IV. Planteamiento del Problema	17
V. Hipótesis	18
VI. Objetivos	19
VII. Material y métodos	20
VII.I. Tipo y diseño del estudio	
VII.II. Población	20
VIII. Resultados	23
VIII.I. Estandarizacion de EDU	23
VIII.II. EDU en pacientes en hemodialisis	27
IX. Discusión	30
X. Anexos	34
X.I. Consentimiento informado	35
X.II. Hola de recolección de datos	37

I. RESUMEN

Título: Estandarización de la Prueba de EDU Click (5-ethynyl-2'-deoxyuridine), para evaluar linfoproliferación para antígeno de superficie de virus de hepatitis B en pacientes en hemodiálisis.

Introducción: La enfermedad renal crónica es una enfermedad altamente prevalente en nuestro país. Los pacientes con insuficiencia renal crónica presentan un estado de inmunocompromiso que predispone en estos pacientes a una alta morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas. No existe actualmente un estándar de oro para medir la proliferación celular de mononucleares en estos pacientes.

Objetivos: Determinar la factibilidad de medir Proliferación celular linfocitaria por medio de citometria de flujo y EDU Click, además de estandarizar la dosis adecuada para estimulación linfocitaria de antígeno de superficie de virus de hepatitis B.

Metodología: Se realizó un estudio transversal, observacional y comparativo, en el que se evaluaron la respuesta de proliferación linfocitaria en pacientes previamente inmunizados sanos. Posteriormente se realizaría la misma prueba en pacientes con enfermedad renal crónica terminal en terapia sustitutiva de la función renal con hemodiálisis, y se comparo la respuesta inmune celular de los pacientes inmunizados contra aquellos que no se encontraron inmunizados.

Resultados: Se realizo aislamiento de linfocitos por técnica de FICOL y se cultivo 300 000 celulas por pozo y se dejo proliferar a las 72 hrs y 120 hrs. Posteriormente se realizo tinción con EDU click a dosis de antígeno de superficie 6.5, 12.5, 25 y 50 mcg. Se determino que la dosis adecuada que mostro mejor respuesta celular para proliferación celular fue de 12.5 mcg en 3 días con una respuesta en el 80% de pacientes con una media de linfoproliferacion de 10.34 ± 7.3 . La proliferación a las 120 hrs no mostro mejor proliferación. Posteriormente se realizo la misma prueba en pacientes en hemodiálisis se tomaron 6 pacientes previamente inmunizados y 11 pacientes sin inmunización. Los pacientes con inmunidad presentaban una media de anticuerpo de 1844 ± 3217.5 y 0 en pacientes no inmunizados. Al realizar la prueba se encuentonro que los pacientes que se encontraban inmunizados presentaron una mejor respuesta celular 1.4 ± 1.44 % de proliferación entre 1.2 ± 1.1 % contra los no inmunizados. Aunque la relación entre el nivel de anticuerpos y respuesta celular no mostro relación.

Conclusiones: EL método de EDU Click es un método adecuado para medir la proliferación celular linfocitaria para células estimuladas por antígeno de superficie B. Los pacientes en con insuficiencia renal crónica en hemodiálisis no presentaban un relación linean entre la cantidad de anticuerpos a nivel sanguíneo, en comparación con el nivel de proliferación celular linfocitaria, lo que hace suponer que los pacientes que presentan un nivel de anticuerpos optimo pueden presentar deficiencias celulares linfocitarias, que explicarían la alta morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes por infecciones.

Palabras clave: Virus de Hepatitis B. Hemodialisis. Linfoproliferación.

II.- MARCO TEORICO

De acuerdo con registros del Centro para el control de la Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés, Centers for Disease Control) de los Estados Unidos, la hepatitis B afecta a 350 millones de personas alrededor del mundo. En México se estima que en la población general existe una prevalencia de 3.3% de pacientes con hepatitis B con Anti-HBc y HBsAg. Padeciendo esta enfermedad alrededor de 1.7 millones de mexicanos, de los cuales 107,000 presentan hepatitis crónica (8). La hepatitis crónica progresa entre 15-25% a cirrosis o carcinoma hepatocelular.

El virus de hepatitis B (HBV) es un hepadnavirus de 42 nm con un genoma de DNA de doble cadena parcial, proteína de centro interna y cubierta de una proteína de superficie externa. Existen 8 genotipos diferentes (A-H) que pueden influir en la infección y la respuesta al tratamiento. El HBV se replica a través de ARN, integrando su material genético al del hospedero. Es un pequeño virus de DNA con características inusuales que lo hace similares a los retrovirus. El virus se compone en su parte exterior por tres partes, dos son partículas virales pequeñas esféricas con un diámetro de 20 nm y la tercera parte filamentos de tamaño variable con un largo de 22 nm. Las esferas y los filamentos componen la superficie viral, constituyendo el antígeno de superficie del virus (HbsAg), constituido en su totalidad por lípidos y carentes de genoma viral, por lo tanto no presentan infectividad alguna. La porción infecciosa del virus (partícula Dane), es una espiral con una bicapa de 42 nm de diámetro, constituido por una capa de lípidos de las mismas características de la superficie llamado nucleocapside, la cual contiene el antígeno de la nucleocapside o antígeno core de la hepatitis B, la cual protege el genoma que codifica la polimerasa y el DNA viral. El genoma del virus de la hepatitis B es una partícula de DNA de doble cadena, estrecha y circular de 3.2 Kilo pares de bases. El genoma del virus contiene 4 fragmentos de inicio de lectura (S,C,P y X), el fragmento S codifica las proteínas de superficie, el fragmento C contiene la secuencia de las regiones core y precore. La replicación del virus de hepatitis B inicia con la desvoltura y de la fusión del genoma dentro de la célula (5).

El virus de hepatitis B se puede transmitirse por inoculación en sangre o productos hemáticos infectados o por contacto sexual, se encuentra en la saliva, semen y secreciones vaginales. Las madres positivas para HBsAg pueden transmitir el virus a sus productos con un índice de cronicidad de hasta 90%. HBV es frecuente en homosexuales y en usuarios de drogas intravenosas (alrededor de 7% de pacientes infectados con VIH tienen enfermedad concurrente con hepatitis B) (5).

La infección intrahospitalaria de hepatitis B es reportada en diferentes circunstancias, debida a punciones accidentales con material contaminado y por contaminación en procedimientos de hemodiálisis, dentales o quirúrgicos. Las unidades de hemodiálisis se deben de considerar áreas de alto riesgo de contaminación (7). Aunque existen normas mexicanas (7) e internacionales para disminuir el riesgo de infección, las causas de infección son debidas principalmente a mala aplicación o malas prácticas de las normas de precaución. Los grupos de mayor riesgo son los pacientes sometidos a hemodiálisis, personal de salud como enfermeras, dentistas, médicos, laboratoristas, etc (5).

El periodo de incubación de HBV es de alrededor de 6 semanas a 6 meses (media de 12-14 semanas). El espectro clínico de la infección por virus de hepatitis B puede ser agudo o crónico, durante la fase aguda las manifestaciones varían desde subclínicas hasta la hepatitis icterica, y en algunos casos hepatitis fulminante. Durante la fase crónica las manifestaciones pueden ser asintomáticas o cursar con el estado de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular (5).

En la hepatitis aguda el 70% de los pacientes cursan con un cuadro subclínico o hepatitis anictérica y sólo el 30% desarrollan hepatitis icterica. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: la ictericia, coluria, acolia, anorexia, nausea, astenia, dolor en cuadrante superior del abdomen. Los exámenes de laboratorio muestran elevación de alanino y aspartato aminotransferasa (ALT, AST) con valores que pueden llegar incluso a 1000-2000 U/L, el patrón más común es que la ALT sea mayor que la AST. La protrombina es el mejor indicador pronóstico, mientras que las concentraciones de bilirrubinas pueden cambiar ampliamente, con predominio de la bilirrubina indirecta. Estas manifestaciones clínicas pueden persistir de 1 a 4 meses, la persistencia mayor a 6 meses indican cronicidad (9).

El riesgo de hepatitis fulminante es menor del 1%, con una mortalidad de hasta el 60 %. Después de una infección aguda por hepatitis B el riesgo de persistencia en el adulto es de 1-2%, con un porcentaje más alto en niños e inmunodeficientes. La infección por HBV en etapas tempranas de la vida e inmunocomprometidos se relacionan con un aumento de la cronicidad con un riesgo importante para el desarrollo de cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular (7). Los signos de recuperación de la enfermedad son la desaparición del HBsAg, el desarrollo de anti-HBsAg, además de la normalización de las enzimas hepáticas (5).

Existe otra presentación clínica de HBV, la infección por HBV oculta, la cual es una infección con marcadores serológicos negativos. Es un grupo heterogéneo de pacientes de los cuales se pueden distinguir dos grupos negativos para HBsAg o negativos para cualquier marcador de HBV o positivas para anti-HBc o anti-HBs. Estos pueden tener o no HVB DNA hepático o sérico, pero presentan marcadores séricos o histológicos de lesión hepática crónica, definiendo este estadio clínico, en el cual se considera portador al paciente (6).

Los marcadores para detectar presencia de HBV son HBsAg, anti-HBs, Anti-HBc, HBeAg y DNA de HVB. La HBsAg y HBeAg es la primera prueba de infección (5), persistiendo en toda la enfermedad clínica, su presencia indica infección e infectividad. El HBsAg puede ser detectado de 1-2 semanas y hasta 11 -12 semanas después de la exposición y pudiendo ser persistente cuando la enfermedad se torna en crónica. El HBeAg se correlaciona con altos niveles de replicación e infectividad (5), los niveles de estos marcadores tempranos de enfermedad se relacionan con la elevación de ALT y AST que se elevan al inicio de la ictericia, el HBeAg inicia su eliminación en el pico de la infección clínica, mientras que HbsAg y DNA HBV permanecen en títulos altos durante la enfermedad clínica, presentando eliminación durante la recuperación de la enfermedad. El Anti-HBs es el anticuerpo contra el antígeno de la superficie del virus, su presencia indica exposición e inmunidad. Anti-HBc es el anticuerpo IgM, persiste durante la infección y hasta 3 a 6 meses después de la infección. Todo paciente con HBsAg debe considerarse infectado y con alto riesgo de transmitir la enfermedad, se encuentra detectable 3 a 5 semanas después de la infección y su persistencia varía

ampliamente. El HBV DNA es otro marcador de alta sensibilidad para el HVB, el cual es detectable de 10 a 20 días antes de que se presenten positivos el HBsAg, se presenta en la infección aguda y permanece de por vida. El anticuerpo Anti-HBc se vuelve detectable en la infección aguda y persiste por 6 meses posteriores a la infección. El HBeAg puede detectarse en infecciones agudas y crónicas, sus niveles se relaciona con la replicación viral y altos niveles séricos en la sangre (9).

1. Hemodiálisis e infección por Virus de Hepatitis B.

Los pacientes en hemodiálisis son pacientes inmunocomprometidos, siendo las infecciones una importante causa de morbilidad y mortalidad, siendo la segunda causa de mortalidad en este tipo de pacientes después de las enfermedades cardiovasculares. Uno de los factores más importantes en los pacientes en hemodiálisis para la inmunosupresión es la inmunodeficiencia por uremia. La inmunodeficiencia por uremia afecta ambos ejes el humoral y el celular, incluso antes de iniciar el tratamiento con hemodiálisis. Es por ello que los pacientes urémicos son más susceptibles a infecciones virales y bacterianas, estas anomalías inmunes, también resultan en reacción de hipersensibilidad cutánea retardada y una subóptima respuesta a la vacunación (10).

La uremia también presenta disfunción de monocitos, siendo estos cruciales en la producción de interleucina-2 y la proliferación de células T, lo que explica la inmunodeficiencia en estos pacientes. Además de estos elementos esenciales existe en este contexto disfunción inmunocomplejos (10).

Los pacientes en hemodiálisis son pacientes inmunocomprometidos debido a una secreción alterada de IL-10, incremento de los niveles de IL-6 y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) que se encuentra en los pacientes urémicos (7). Estos pacientes son altamente susceptibles a la infección por HVB, debido a la exposición de alto riesgo que presentan. Los factores de riesgo para la infección en esta población de pacientes se debe al tiempo de terapia en hemodiálisis y las hemotransfusiones (12).

La prevalencia de hepatitis B en pacientes en hemodiálisis, se define como pacientes con antígeno de superficie positivo a nivel sérico, este varía con la localidad y endemicidad propia de la región. En EU la prevalencia es de 1.6%, en Japón 10% y en Arabia Saudita del 16.8%. Durante los últimos años estas cifras han ido disminuyendo debido a un mejor control de los hemocomponentes transfundidos, uso de eritropoyetina, vacunación y medidas preventivas para la transmisión en los centros de hemodiálisis (10). Por mucho la hepatitis B es el mayor riesgo a que se someten los pacientes en hemodiálisis, los factores que se relacionan con riesgo de infección son número de hemodiálisis, número de transfusiones, número de pacientes infectados en un centro de hemodiálisis y el incumplimiento en medidas de prevención. En estudios en donde se han secuenciado las cepas de HBV se ha comprobado la transmisión de paciente a paciente en los centros de hemodiálisis (13). La causa de alta infectividad del virus, el HVB que es estable y viable por hasta 7 días en temperatura ambiente, encontrándose en superficies de máquinas de hemodiálisis, pinzas, tijeras y otros materiales quirúrgicos. Durante el proceso de hemodiálisis el paciente se encuentra expuesto a material contaminado o fluidos permitiendo con ello la infección.

La vacuna contra la hepatitis B, está disponible desde 1982. En los pacientes con insuficiencia renal crónica las alteraciones inmunológicas dan como resultado una deficiencia en la respuesta a la vacunación. Se ha observado en estos pacientes mejor respuesta a la vacunación en cuanto mayor índice de filtrado glomerular. Existen otros factores que condicionan la respuesta a la vacunación como la edad, peso, nivel sérico de albumina, sexo, diabetes, etc. (10). La tasa de conversión de los pacientes con insuficiencia renal crónica en hemodiálisis es de menos del 50%, siendo lo más frecuentes los respondedores débiles que se definen como aquellos pacientes que presentan anticuerpo contra antígeno de la superficie menor de 10UI/ml, lo cual les confiere una protección sub óptima (14, 15).

Las enzimas hepáticas son un parámetro poco confiable en los pacientes con insuficiencia renal crónica que se encuentran en hemodiálisis, los niveles de ALT y AST no se correlacionan de manera adecuada con el daño hepático. La razón de estos niveles disminuidos en pacientes con insuficiencia renal es debido a que se encuentra una reducción de fosfato-5-piridoxal, además del aumento de la eliminación por

hemodiálisis o diálisis peritoneal. Es por eso que el límite normal propuesto para ALT y AST de 40 IU/L es un valor demasiado alto para estos pacientes, por lo que el valor que se determina como punto de corte es 24 UI/L para la ALT y 17 UI/L para la AST (10). En estos pacientes el índice de conversión para hepatitis crónica es mayor que en la población general, con el consecuente mayor índice de cirrosis y cáncer hepatocelular, en estos pacientes es útil determinar la alfa-fetoproteína, debido a que los pacientes con insuficiencia renal pueden cursar con hiperparatiroidismo secundario, el cual puede dar un resultado falso positivo por lo que este valor debe de tenerse con reserva, para ello es adecuado que al presentar alfa feto proteína elevada, se tome en cuenta el valor de gama glutamiltranspeptidasa GGT y el USG hepático. (10)

La inmunización es la medida preventiva más eficaz, la vacuna a doble dosis (40 µg por dosis a los 0, 1 y 6 meses) ha mostrado beneficios en los pacientes sin infección previa (9). En nuestro medio se reporta una prevalencia de HBV en centros de hemodiálisis del IMSS de hasta el 8.4%, en pacientes en donde rutinariamente se realiza inmunización previa (12). En nuestro hospital y población la incidencia es desconocida, y aunque existen normas nacionales e internacionales para la prevención de esta infección (8,9), la inmunización no se lleva a cabo de manera rutinaria, haciendo a nuestros pacientes altamente susceptibles a esta infección.

En los pacientes que se encuentran infectados el objetivo del tratamiento es suprimir la replicación viral utilizando terapia antiviral antes de que el daño hepático sea irreversible. En los pacientes que se encuentran con daño hepático irreversible, se encuentra indicado el trasplante hepático. Solo ciertos pacientes con determinadas características se benefician de la terapia antirretroviral. Los pacientes que presentan mayores beneficios son aquellos en los cuales presentan datos de actividad, la cual se define como positividad HBeAg y/o HBV-DNA sérico, el cual se acompaña de daño hepático (elevación de transaminasas por arriba de 1.5 veces el valor normal) y/o evidencia de hepatitis crónica moderada a severa en biopsias hepáticas. El medicamento de elección son los análogos nucleosidos como la lamivudina.

La lamivudina es un enantiómero negativo de 2'-3' dideoxy 3'-tiacitidina, el cual puede ser incorporado durante la replicación del DNA de HBV después de ser convertida a la forma trifosfatada activa, lo cual provoca una terminación prematura de la cadena dando por terminado la síntesis del DNA del HBV. Los ensayos clínicos

controlados han demostrado que la lamivudina inhibe la replicación de HBV, normaliza las transaminasas y suprime la inflamación y necrosis en pacientes no inmunocomprometidos. Aunque faltan estudios para probar la eficacia de este medicamento en pacientes con insuficiencia renal, la lamivudina parece ser efectiva y relativamente segura para el manejo de la infección por HBV, con pocos efectos colaterales. El interferón alfa y otros nucleósidos presentan poca respuesta al tratamiento, con demasiados y graves eventos adversos que proscriben su uso en estos pacientes (10).

2. Respuesta inmune en la Insuficiencia renal crónica

El sistema inmune comprende interacciones complejas entre factores solubles y células encargadas de responder en orden de proteger al organismo de diversas infecciones y enfermedades. Las funciones que suple el sistema inmune incluye : 1) Identificar agentes lesivos, 2) Remover el agente causal de daño y 3) ayudar a reparar órganos y tejidos dañados por la infección, isquemia, tóxicos, lesión autoinmunitaria y otros tipos de lesiones. La inflamación es un paso crítico en la respuesta inmune contra infecciones. La cual es mediada por el sistema inmune innato el cual es una respuesta inmune no específica que responde a la lesión . El sistema inmune innato el cual esta constituido por monocitos circulantes, macrófagos en tejidos , polimorfo nucleares, células dendríticas, células asesinas naturales, células mastoides, eosinófilos y basófilos. La inflamación sistémica es una causa de aterosclerosis, enfermedad cardiaca, desnutrición e inmunocompromiso. Lo que trae consigo que los pacientes con insuficiencia renal crónica presenten mala respuesta inmunitaria a la vacunación e infecciones microbianas severas.

El sistema inmune innato es incapaz de reconocer de manera específica o una infección para el mismo patógeno más intensa. Para lo cual la parte del sistema inmune que asume infección es el sistema inmune adaptativo incluye linfocitos T y Linfocitos B. Estos presentan receptores que reconocen antígenos. Las células B reconocen con su receptor específico de células B reconoce de manera selectiva, produciendo anticuerpos para este antígeno. Las células T reconocen fragmentos de antígeno de los agentes infecciosos, en forma de péptidos procesados en complejo mayor de histo

compatibilidad. La función de los linfocitos T posterior a la presentación de antígeno, promueven la secreción de citoquinas. Estas citoquinas promueven la proliferación de distintos linfocitos T. Los linfocitos B en sus formas nativas al ser estimuladas por células T (cooperadoras Th2) y sus citoquinas se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos y células B de memoria. Los linfocitos T que son las células más numerosas del sistema inmune innato presentando un papel central del sistema inmune.

La enfermedad renal crónica se asocia a activación inmune, inflamación sistémica y posteriormente con inmunodeficiencia. La inflamación contribuye con aterosclerosis, enfermedad cardiovascular, caquexia y anemia, la cual se manifiesta con un aumento en las infecciones y poca respuesta a la vacunación en los pacientes con enfermedad renal crónica y hemodiálisis. (16) La insuficiencia renal crónica se asocia a una elevación parcial de integrinas, de receptores tipo Toll 2 y 4, especies reactivas de oxígeno y citoquinas lo que contribuye con la inflamación sistémica.

Depleción y disfunción de células T reguladoras y además de disfunción fagocitaria y presentación de antígenos de células mononucleares y plomorfocitos nucleares.(16)

3. Respuesta a la vacunación en los pacientes con enfermedad renal crónica Terminal.

La respuesta inmune en los pacientes que se encuentran con enfermedad renal crónica terminal se encuentra disminuida presentando un mayor riesgo de infección. En cuanto a la hepatitis B se considera que un paciente se encuentra inmunizado cuando se tiene una concentración de anticuerpos contra virus de hepatitis B superior a 10 IU/L. Existen distintas cohortes en donde se encuentra una pobre respuesta a la vacunación: Seaworth y colaboradores (1988) con un porcentaje de seroconversión de 42-81%; Jungers y colaboradores (1994) de 76-94%; Zitt y colaboradores (2012) con un porcentaje de seroconversión de 57% (17). Por lo que la CDC publicó en 2012 la guía para la vacunación en los pacientes renales en donde se recomienda administrar 40 µg subcutáneos en 4 dosis de vacuna de hepatitis B recombinante.(18)

En nuestro pacientes se desconoce el impacto que la desnutrición y la inflamación, afectan la respuesta a la vacunación. Por lo que nuestros pacientes presentan una oportunidad única de poder estudiar estos fenómenos, determinando sus poblaciones celulares y proliferación de mononucleares, para poder conocer mejor la inmunodeficiencia y la respuesta inmune en el paciente con enfermedad renal crónica.

En nuestro hospital se desconoce la incidencia y la prevalencia de la infección en estos pacientes. Este estudio se pretende determinar la prevalencia de infección por virus de hepatitis B en los pacientes con insuficiencia renal crónica que acuden al programa de hemodiálisis al servicio de Nefrología del Hospital General de México, y determinar los factores de riesgo para adquirir esta infección.

III. JUSTIFICACION

Según fuentes de la ENSANUT en el año 2012 se registro la muerte de 12 000 pacientes relacionados con insuficiencia renal crónica en México (16). Su impacto social, económico e individual es inmenso. Los pacientes que se encuentran con insuficiencia renal crónica presentan un estado de inmunosupresión celular y humoral lo cual predispone a un alto índice de infecciones, por lo que las infecciones son una de la principal causas de morbi-mortalidad en esta población, después de las enfermedades cardiovasculares. La hepatitis B es una infección aguda y crónica frecuente en las unidades de hemodiálisis. Es una infección prevenible mediante de un esquema de vacunación, sin embargo la respuesta a la vacuna que pueden tener los pacientes con insuficiencia renal es limitada y hasta ahora poco estudiada. El estudiar la respuesta de linfoproliferación a la vacuna de hepatitis B mediante una prueba sencilla y práctica como es 5- Etinil-2'-deoxiuridina lo que permitiría conocer la respuesta de memoria celular que los pacientes con enfermedad renal tendrían a la vacuna de hepatitis B y con ello definir la dosis de vacunación optima en esta población.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconoce cual es el efecto que la vacuna de hepatitis B tiene en la linfoproliferación mediante la prueba 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) en pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis, permitirá definir la dosis de vacunación que un paciente con enfermedad renal crónica requiere en el contexto de un paciente con desnutrición e inmunosupresión asociado a la enfermedad de base.

V. PREGUNTA DE INVESTIGACION

1. ¿ La prueba de 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) medida por citometría de flujo es capaz de medir la proliferación linfocitaria en linfocitos de s pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México, estimulados con antígeno de superficie del virus de hepatitis B?

2. ¿Cuáles es la dosis requerida para encontrar mejor estimulación linfocitaria contra antígeno de superficie para virus de hepatitis B para la prueba La prueba de 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) medida por citometría de flujo proliferación linfocitaria en linfocitos de s pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México, estimulados con antígeno de superficie del virus de hepatitis B?

VI. HIPOTESIS

1. La prueba de 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) medida por citometría de flujo es adecuada para medir proliferación linfocitaria en linfocitos de pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México, estimulados con antígeno de superficie del virus de hepatitis B.

2.- La dosis de 50 mcg de con antígeno de superficie del virus de hepatitis B requerida para encontrar mejor estimulación linfocitaria contra antígeno de superficie para virus de hepatitis B presentaran mayor proliferación linfocitaria medida por 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) en los pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México.

3.- La estimulación con antígeno de con del virus de hepatitis B presentara una relación lineal con la proliferación linfocitaria medida por por 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) por medio de la citometria de Flujo.

VII. OBJETIVOS

1. Determinar si la prueba de 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) mediada por citometría de flujo es capaz de medir la proliferación linfocitaria en linfocitos de los pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México, estimulados con antígeno de superficie del virus de hepatitis B.

2. Determinar la dosis requerida para encontrar mejor estimulación linfocitaria contra antígeno de superficie para virus de hepatitis B para la prueba La prueba de 5- Etinil-2'-deoxiuridina (EduClick) medida por citometría de flujo proliferación linfocitaria en linfocitos de s pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México, estimulados con antígeno de superficie del virus de hepatitis B.

VII. METODOLOGIA

Diseño del Estudio.

Estudio transversal exploratorio, en el cual cuyo objetivo determinar la viabilidad de medir proliferación linfocitaria en pacientes en hemodiálisis con enfermedad renal crónica terminal del Hospital General de México.

Población de Estudio.

Pacientes sanos con inmunidad previa al antígeno de superficie.

Pacientes sanos sin inmunidad previa al antígeno de superficie.

Pacientes que se encuentre en el programa de hemodiálisis.

Criterios de inclusión.

Pacientes sanos con inmunidad previa al antígeno de superficie.

Pacientes sanos sin inmunidad previa al antígeno de superficie.

Pacientes que se encuentre en el programa de hemodiálisis.

Criterios de exclusión.

Pacientes los cuales no acepten participar en el estudio o firmar el consentimiento informado.

Criterios de eliminación.

Pacientes en los cuales no se pueda realizar el panel viral o el cultivo celular de linfocitos, con estimulación por medio de antígeno de superficie con medición de linfoproliferación medida por 5- Etinil-2'-deoxiuridina.

Variables.

Variables Independientes.

- 1.- Tiempo en el programa de hemodiálisis

Definición conceptual. Paciente con enfermedad Renal terminal, con requerimientos dialíticos que se encuentra en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México.

Definición operacional. Meses registrados de la primera hemodiálisis hasta el momento de inclusión del paciente en el estudio.

Escala de medición y categoría. Cuantitativa continua. Se medirá en meses en el programa de hemodiálisis.

2.- Inmunización contra HVB.

Definición conceptual. Inmunización contra Hepatitis B intravenosas en los pacientes que se encuentran en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México.

Definición operacional. Dosis y número de inmunización contra HVB que se encuentre registrado en el expediente o se recabe por interrogatorio directo

Escala de medición y categoría. Cuantitativa continua. Número de dosis.

3.- Niveles séricos de Anti-HVB.

Definición conceptual. Nivel sérico de anti-HVB tomado en una muestra inicial a la vacunación contra HVB y una determinación a los 6 meses para verificar la respuesta a la vacuna.

Definición operacional. Nivel de anti- HVB a nivel sérico medido por ELISA, tomándose como referencia un nivel mayor de 0-10 mUI/ml como no inmunizados, 10 – 100 mUI/ml como una inmunidad moderada y más de 100 mUI/ml una respuesta adecuada a la vacunación.

Escala de medición y categoría. Cuantitativa continúa.

Variable Dependiente.

1.- Proliferación linfocitaria.

Definición conceptual. Proliferación celular de linfocitos de pacientes en hemodiálisis con insuficiencia renal crónica en el Hospital General de México.

Definición operacional. Se realizara cultivo celular de linfocitos por 3 días de pacientes en hemodiálisis con tinción posterior con 5- Etinil-2'-deoxiuridina, posteriormente se leerá en el citometro de flujo.

Escala de medición y categoría. Se medirá por porcentaje de proliferación medida por un citometro de flujo FACS CANTO II.

X. ESTADISTICA

El análisis estadístico se realizara con estadística no paramétrica debido de la distribución de la variables. Se realizara una prueba de Kruskal Wallis para variables cuantitativas y Chi Cuadrada para proporciones entre los pacientes inmunizados y no inmunizados.

X. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio es observacional, transversal. En ninguno de los cuales se expone al paciente a riesgo alguno, toda la información obtenida será estrictamente confidencial. Se solicitará el consentimiento informado de cada paciente participante. El estudio será sometido a las comisiones de Investigación, Etica y Bioseguridad del Hospital General de México y de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

XI. RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS

El impacto de esta investigación para la prevención de la infección en la hepatitis B, además de la creación de lineamientos dentro del hospital para el manejo de los pacientes en hemodiálisis y con ello la titulación en el grado de especialista en nefrología. Posteriormente se espera la publicación en revistas de contexto internacional.

XII. RESULTADOS

Para este estudio se utilizaron pacientes inmunizados con la vacuna para hepatitis B sanos para graduar la cantidad de antígeno para hepatitis B que era más viable para presentar proliferación linfocitaria.

Se realizó aislamiento de linfocitos de sangre periférica de 10 ml de sangre los cuales se aislaron con FICOL, para posterior cultivo con medio celular, en cámara de CO₂ a una temperatura de 37 grados. Por cada paciente se realizaron 3 pozos los cuales contenían 300 000 células con 100 mcl de medio celular. En el primer pozo se administra 300 000 linfocitos y 100 mcl de medio celular, en el segundo pozo se administro 300 000 linfocitos, 88 mcl de medio celular y 12 mcl (6 mcg) de antígeno de superficie de virus de hepatitis B . El tercer pozo contenía 300 000 linfocitos, 75 mcl de medio celular y 25 mcl (12.5 mcg) de antígeno de superficie de virus de hepatitis B. El cuarto pozo contenía 300 000 linfocitos, 50 mcl de medio celular y 50 mcl (25 mcg) de antígeno de superficie de virus de hepatitis B. El quinto pozo contenía 300 000 linfocitos, 25 mcl de medio celular y 100 mcl (50 mcg) de antígeno de superficie de virus de hepatitis B. Estos cultivos celulares se realizaron por duplicado y se dejó proliferar 72 y 120 horas.

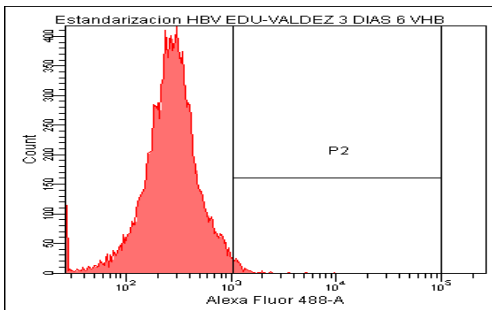
Posteriormente se le agrega a 34 mcg de E EDU Click (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) para evaluar proliferación linfocitaria.

Tabla 1

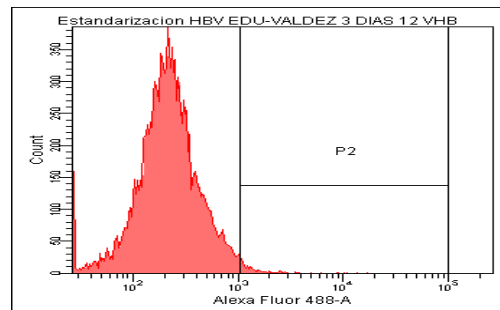
No	Control	3 días Edu	3 días 6.5μ	3 días 12.5μ	3 días 25μg	3 días 50μg
Paciente 1	0.0	0.05	1	1.2	4.3	1.9
Paciente 2	0.3	13.0	16.3	11.5	8.5	0.5
Paciente 3	0.5	17.4	15.3	19.5	11.9	10.7
Paciente 4	0.1	1.3	3.6	3.9	0.8	1.7
Paciente 5	0.3	13.9	13.5	15.6	8.3	7.6
Promedio	0.24	9.13	9.94	10.34	6.76	4.48

Tabla 2

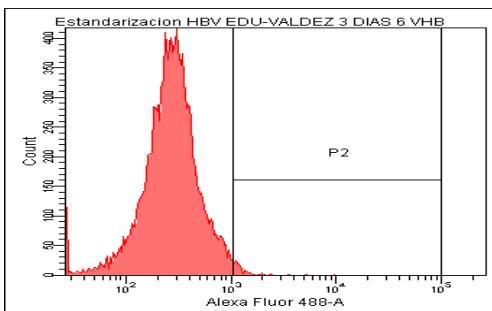
No	Control	5 días Edu	5 días 6.5μ	5 días 12.5μ	5 días 25μg	5 días 50μg
Paciente 1	0.05	0.05	1.3	1.8	1.7	0.7
Paciente 2	0.3	6.3	6.4	9.3	2.1	1.4
Paciente 3	0.5	10.8	9.6	9.8	3.2	3.0
Paciente 4	0.3	5.6	3.3	5.6	0.8	1.7
Promedio	0.28	5.68	5.15	6.63	1.95	1.7



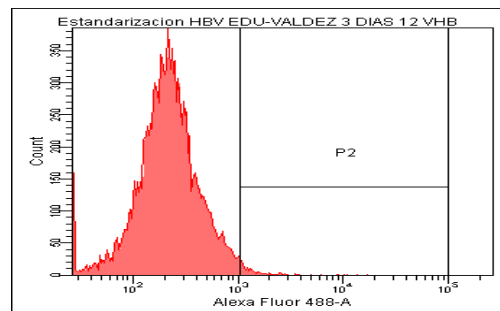
Paciente 1 control 3 dias



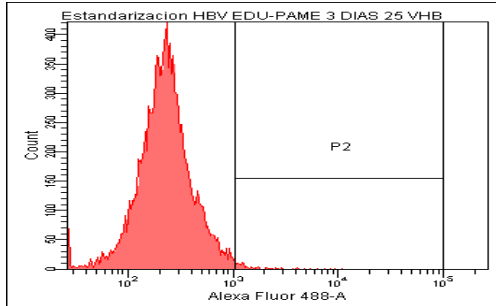
Paciente 1 EDU 3 dias



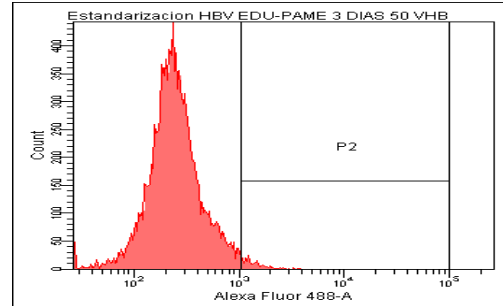
Paciente 1 6.5 μg Ag HVB dias



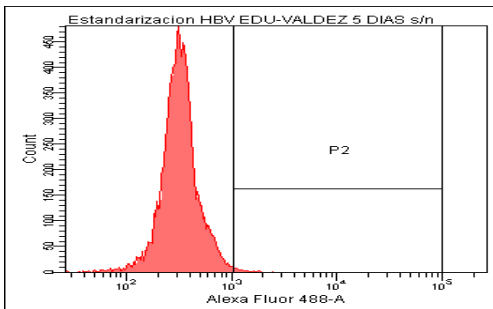
Paciente 1 12.5 μg Ag HVB dias



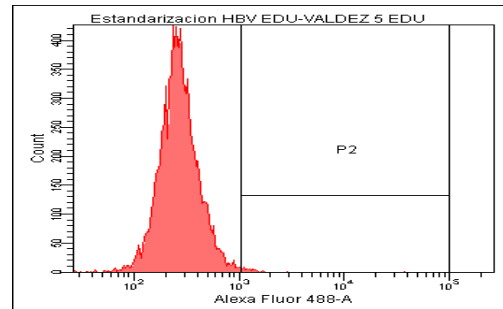
Paciente 1 25 µg Ag HVB dias



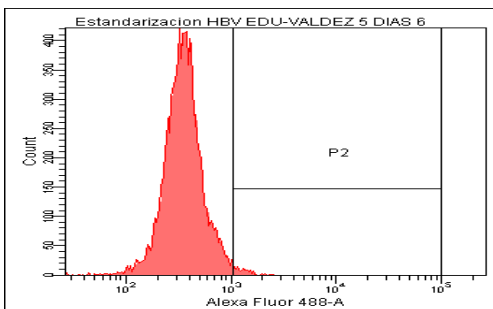
Paciente 1 50 µg Ag HVB dias



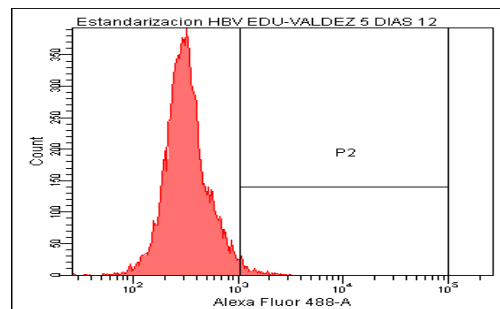
Paciente 1 control 5 dias



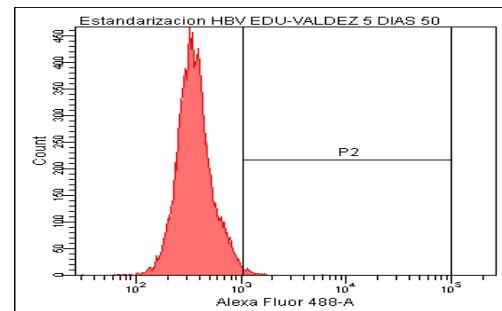
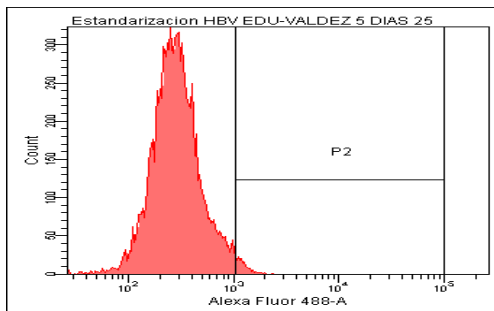
Paciente 1 EDU 5 dias



Paciente 1 6.5 µg Ag HVB 5 dias



Paciente 1 12.5 µg Ag HVB 5 dias



Paciente 1 25 μg Ag HVB 5 dias estos 5 paci Paciente 1 50 μg Ag HVB 5 dias se pudo obtener los siguientes resultados, que se pueden observar en la tabla 1 la proliferación linfocitaria en 72 horas y tabla 2 en 120 horas.

La concentración pico en la cual se observó que la concentración en la cual se encontró mejor proliferación linfocitaria fue a la concentración de 12.5 μg de antígeno de superficie de virus de hepatitis B, posterior a esta concentración se observa una disminución en la proliferación en concentraciones superiores después del cultivo celular en 72 horas.

La proliferación a las 120 horas no era superior que la encontrada a las 72 horas y la concentración de 12.5 μg también presentó el promedio de proliferación linfocitaria era mayor que en otras concentraciones.

Una vez establecido la proliferación linfocitaria era posible con la técnica de EDU Click (5-ethynyl-2'-deoxyuridine), en las concentraciones adecuadas se realizó la prueba en pacientes con insuficiencia renal en hemodiálisis.

Se tomaron a 6 pacientes inmunizados en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México (tabla 3) y se comparó con 11 pacientes no inmunizados en el mismo programa.

Como se puede observar entre los pacientes que presentaron inmunización medida por anticuerpos en títulos mayores de 10 UI/ml de anticuerpo para antígeno de superficie se pueden observar en la siguiente tabla.

Las características generales de ambos grupos es similar entre los grupos de inmunizados y no inmunizados en cuanto a la distribución de sexo. La edad de ambos grupos es de inmunizados 49.5 ± 59.8 y no inmunizados 39 ± 14.7 , lo cual no fue estadísticamente significativo. Los pacientes en cuanto a vacunación solo el 50% de los pacientes que se encontraban inmunizados referían previamente ser inmunizados durante el programa frente a 18% de los pacientes que no se encontraban inmunizados. Los pacientes que se encontraban inmunizados presentaban un promedio de administración de componentes hemáticos de 11 ± 14.7 vs 9.18 ± 10.15 en los pacientes no inmunizados lo que resulto estadísticamente significativo (0.023). La mayoría de los pacientes no se contaba con el diagnóstico de insuficiencia renal crónica 66.7% vs 63.6%, habiéndose realizado biopsia diagnostica en solo 1 paciente por grupo

En cuanto a la biometría hemática se puede observar que no existen diferencias en cuanto a la hemoglobina , hematocrito y linfocitos entre los dos grupos , si existió una mayor cantidad de leucocitos totales entre el grupo de pacientes inmunizados (5.6 ± 1.3) contra el grupo de pacientes no inmunizados (4.66 ± 1.36).

Las variables bioquímica y electrolitos sericos no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

Las variables de inflamación como la velocidad de sedimentación glomerular y fibrinógeno se encontraron elevados en ambos tipos de pacientes , pero entre los grupos no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 3

	Inmunizados	No inmunizados	P
Hb (g/dl)	9.3 ± 1.5	9.4 ± 1.77	0.880
Hto (%)	27.8 ± 5.1	27.04 ± 5	0.920
Leucocitos	5.6 ± 1.3	4.6 ± 1.36	0.018
Linfocitos	1.02 ± 0.43	1.01 ± 0.32	0.801

Creatinina (mg/dl)	12.37 ± 5.4	15.7± 5.1	.268
Albumina (g/dl)	3.6 ± 0.48	3.98 ± 0.47	.108
Urea(mg/dl)	181-8 ± 68.9	205±82	.569
Sodio (mg/dl)	137.5 ± 3.6	138.5±2.7	.724
Potasio (mg/dl)	5.386± 0.96	5.27±0.71	.174
Calcio corregido (mg/dl)	9.2 ± 0.85	8.6±0.81	.189
Fósforo (mg/dl)	5.6 ± 2.2	6.7±1.5	.365
colesterol	95.5±39.4	157.3±35.4	0.687
Triglicéridos(mg/dl)	123.3±98.6	105.5±48.6	.841
Proteínas (g/dl)	6.9± 0.93	7.1±0.78	0.546
Albumina (g/dl)	6.9± 0.93	7.1±0.78	0.960

	Inmunizados	No inmunizados	P
VSG mm/hr	49.5 ±26.6	48.64±1.5	0.580
Fibrinógeno	351.1 ± 114	368.5 ± 5	0.651
Niveles de Antígeno HVB	1844 ± 3217.5	0	0.000
Proliferación control	0.10 ± .16	0.127± .15	0.483
Proliferación EDU	0.86 ±0.70	0.936± 0.32	0.023
Proliferación EDU+ Ag HVB	1.4 ± 1.44	1.2± 1.1	.041
Edad	49.5±59.8	39±14.7	0.268
Vacunación	3(50%)	2(18%)	0.210
No. De componentes transfundidos	11±14.7	9.18± 10.15	0.023
Eritropoyetina	6000±4898	6000±4566	0.959
Tiempo en Programa	32.6±15.6	29.73±16.49	0.960
Sexo			
Masculino	3(50%)	5(45%)	
Femino	3(50%)	6(55%)	

	Inmunizados	No inmunizados	P
Causa			
NDT	4(66.7%)	7(63.6%)	
HAS	0	2(18.2%)	
Glomerulopatía	1(16.7%)	1(9.1%)	
Obstructivas	1(16.7%)	1(9.1%)	

EL nivel de anticuerpos presento una diferencia entre los grupos altamente significativa con un promedio en los inmunizados de 1844 ± 3217.5 en los pacientes inmunizados y de 0 en los pacientes no inmunizados.

Al realizar medición de proliferación celular de linfocitos en cultivo celular a las 72 horas se encontró que los pacientes que presentaban inmunización previa en el programa 1.4 ± 1.44 % de proliferación entre 1.2 ± 1.1 % contra los no inmunizados lo cual fue significativo al realizar Chi cuadrada para esta Variable.

XIII. DISCUSION

Durante este periodo comprendido entre marzo del 2013 – marzo del 2014, 26% de los pacientes que se encontraban en nuestro programa de hemodiálisis presentaron defunción y la principal causa de muerte fue sepsis la cual represento 84% de los pacientes (11), contrastando con ello con otras cohortes de pacientes en hemodiálisis en donde la principal causa de muerte son los eventos cardiovasculares.

En nuestra población los pacientes se encuentran en un estado de infradiálisis, desnutrición e inflamación. Lo cual determina el estado de inmunodepresión de estos pacientes contribuyendo con la alta mortalidad por sepsis. Es indispensable estudiar en estos

pacientes la respuesta inmune humoral y celular, para crear de manera eficaz medidas de intervención que disminuyan la inflamación y mejoren el estado inmune.

En nuestro estudio se realizó la estandarización de una prueba para medir proliferación linfocitaria con la técnica de E-EDU Click (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) para evaluar proliferación linfocitaria. La cual es medida por citometría de flujo, por ello se probó en 5 sujetos sanos cuanto era el tiempo de proliferación celular adecuada además de la dosis de estimulación de antígeno de superficie de hepatitis B adecuada.

En nuestro estudio se determinó que el tiempo óptimo de proliferación linfocitaria en cultivos celulares era de 72 horas, además la dosis para estimulación la cual mostró mayor reactividad fue 12.5 µg de antígeno de superficie de hepatitis B en pacientes previamente inmunizados.

Los pacientes que se encontraron inmunizados presentaron por E-EDU Click (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) una mayor cantidad de linfoproliferación 1.4 ± 1.44 que los pacientes que no se encontraban inmunizados 1.2 ± 1.1 , siendo este método adecuado para poder medir la proliferación celular en pacientes en enfermedad renal crónica en hemodiálisis.

Los pacientes no presentaban una relación lineal entre la cantidad de anticuerpos a nivel sanguíneo, en comparación con el nivel de proliferación celular linfocitaria, lo que hace suponer que los pacientes que presentan un nivel de anticuerpos óptimo pueden presentar deficiencias celulares linfocitarias, que explicarían la alta morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes por infecciones.

Esto presenta un panorama complejo del paciente en insuficiencia renal crónica lo que nos permite explorar nuevas líneas diagnósticas y terapéuticas.

XIV. REFERENCIAS

1.-K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. Am J Kidney Dis 39:S1-S266,2002 (suppl 1).

2.- Clinical Practice. Stage IV chronic kidney disease. Abboud, Wenrich WL. New England Journal Medicine 2010: 362:56.

3.- The incidence of end-stage renal disease is increasing faster than the prevalence of chronic renal insufficiency. Hsu CY, Vittinghoff E. Ann Intern Med. 2004;141(2):95.

4.- Association of preventive health care with atherosclerotic heart disease and mortality in CKD. Snyder, Collins J Am Soc Nephrol. 2009;20(7):1614-1621.

5.- Hepatitis B: The virus and Disease. Liang. Hepatology. 2009 may:49 (S13-S21).

6.-Hepatitis infection in hemodialysis patients. Chiu-Ching HUANG. NEPHROLOGY 2002;7, 101-109.

7.- Norma Oficial Mexicana NOM-171-SSA1-1998, Para la práctica de hemodiálisis.

8.- A Comprehensive Immunization Strategy to Eliminate Transmission of Hepatitis B Virus Infection in the United States. CDC Morbidity and Mortality Weekly Report. December 23, 2005 / Vol. 54 / No. RR-16.

9.-Hepatitis B virus infection in dialysis patients. Pig-Nam, Tang and cols. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2005: 20 , 1641-1651.

11.-Prevalence of chronic kidney disease in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) México and comparison with KEEP US. Gregorio T. Obrador MD y cols. *Kidney International* (2010) 77 (Suppl 116), S2–S8.

12.-Elevted Prevalence of Hepatitis B in Mexican hemodialysis patients. A multicentric survey. Ramon Paniagua y cols. *Archives of Medical Research* 41 (2010) 251-254.

13-Hepatitis B virus infection in hemodialysis centres from Santa Catarina State, South of Brazil. Predictive risk factor for infection and molecular epidemiology. Carrilho FJ, Moraes CR and cols. *BMC public health* 2004; 4: 13-23

14-Select Blockade of the Antigen-receptor-mediated pathway of the cell activation in patients with impaired primary immune response . Meuer SC, Hauer M and cols. *J Clinic Invest* 1987; 80: 743-749.

15. Hepatitis B Vaccine in patients Reciving Hemodialysis – Immunogenicity and Efficacy. Stevens, Harvey and cols. *N Engl J Med* 1984; 311: 496-501

16. ENSANUT Encuesta nacional de nutrición y salud 2012 .

17. Effect of Uremia on Structure and Function of immune System. Vaziri Nosrotola, Pahl Madeline and Cols. *Journal of Renal Nutrition*; Vol 22, No 1 2012 pp 149-156.

Anexo 1. Hoja de consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

Título del protocolo: Incidencia, prevalencia y factores de riesgo de infección por virus Hepatitis B en los pacientes con insuficiencia renal crónica en el programa de hemodiálisis del Hospital General de México.

Investigador principal: Dr. Valdes Ortiz Rafael , Dra Rosa Maria Wong Chew

Sede donde se realizará el estudio: Hospital General de México

Nombre del paciente: _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La insuficiencia renal crónica es una enfermedad en auge en la actualidad, con alta demanda en el nuestro hospital. Los pacientes con esta enfermedad son pacientes que presentan mayor riesgo de presentar infección por virus de hepatitis B. Al participar en este estudio usted contribuirá en realizar estadísticas actuales y realizar medidas preventivas para esta infección.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos determinar el número de pacientes, las causas para la infección por virus de hepatitis B, además se valorara la respuesta a la vacunación contra el virus de hepatitis B en

los pacientes del programa de hemodiálisis del servicio de nefrología en el Hospital General de México

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Durante su estudio se beneficiara de la realización de panel viral gratuito por 12 meses, brindándoles un mejor control en la realización de su procedimiento de hemodiálisis. Con este estudio conocerá de manera clara si usted se encuentra infectado por hepatitis B, con esto se realizaran guías para prevenir esta infección.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos, sus antecedentes médicos, además de una muestra sanguínea venosa trimestral el cual se tomara de manera rutinaria en cuanto a la vigilancia del pacientes con terapia sustitutiva de la función renal con hemodiálisis.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Durante la toma de la muestra usted puede presentar molestias y dolor en el sitio de punción venosa, puede presentar sangrado mínimo o equimosis (moretón) del sitio de punción, lo cual no pone en peligro su vida o la función de su extremidad. Siendo este procedimiento de bajo riesgo.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario o requiera otro tipo de atención, ésta se le brindará en los términos que siempre se le ha ofrecido.

6. ACLARACIONES

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la

Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda.

Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

Anexo 2. Hoja de Recolección de Datos

Nombre el paciente: _____ Edad: _____

Sexo:

Femenino(0)	Masculino(1)
-------------	--------------

Fecha de recolección de datos: _____

Fecha de Inicio en el programa de hemodiálisis: _____ Tiempo en El programa: _____

No. de Maquina. _____

Turno:

Matutino (1)	Matutino(2)	Vespertino(3)
--------------	-------------	---------------

Numero de Hemodiálisis de urgencias hasta la fecha: _____

Vacunación Previa al Programa:

Si(1)	No(0)
-------	-------

Fecha de Vacunación _____

Número de dosis de vacuna _____

Lugar de vacunación: _____

Uso de Eritropoyetina:

Si(1)	No(0)
-------	-------

Numero de Transfusiones previas a la fecha: _____

Uso de drogas intravenosas:

Si(1)	No(0)
-------	-------

 Tiempo de uso: _____

Acceso Venoso-arterial:

Catéter Venoso (1)	Fistula (0)
--------------------	-------------

No. de parejas sexuales: _____

Tipo de Relaciones sexuales:

Heterosexual(0)	Bisexual(1)	Homosexual(3)
-----------------	-------------	---------------

Panel Viral.

Fecha	HBsAg	HBcAg	HBeAg	Anti-HBsAg	HIV	Anti-HC

Hoja de recolección de datos 2

Fecha	Lec	Neu	Linf	HB	Plaquetas	HTC	TGO	TGP	GGT	Alb	Urea	Cr	K	P	Mg	PHa	HCO3

Flujograma

