

VALOR DE LA DETERMINACION DEL VIRUS DE LA HEPATITIS "C" MEDIANTE LA TECNICA "PCR"; SU UTILIDAD PARA EL DIAGNOSTICO Y PREVENCION DE LA HEPATITIS EN LAS UNIDADES DE HEMODIALISIS.

Isabel Lorenzo, María Peredes, Paula Calderón, Milagros Medina, Antonio Morán, Marisol Panduro.

Fundación Renal Iñigo Alvarez de Toledo. Madrid.

Póster

Introducción:

La prevalencia de anticuerpos positivos para el virus de la hepatitis C en pacientes en tratamiento con Hemodiálisis Periódicas varía entre el 10 y el 50%; un porcentaje no despreciable de estos casos pueden evolucionar a la cirrosis hepática o desarrollar tumores hepáticos. Hasta la actualidad no existe un tratamiento satisfactorio de esta infección, ya que el Interferón no consigue mas de un 25% de aparentes curaciones y no está exento de bastantes efectos secundarios. Por esta razón la prevención sigue siendo la clave en esta enfermedad; en la actualidad existen dos tendencias para llevar a cabo esta prevención: a) el aislamiento y b) las medidas universales y "rigurosas" de asepsia para evitar la transmisión de los gérmenes de crecimiento sanguíneo (1).

En trabajos previos comunicamos nuestros primeros resultados utilizando solo estas "medidas universales de asepsia" para evitar la seroconversión de los pacientes (2), transcurridos desde entonces otros tres años, quisieramos volver a comunicar nuestros resultados, añadiendo, además, la determinación del Virus de la Hepatitis "C" mediante la técnica de la "PCR".

Pacientes:

En los cuatro años de funcionamiento, Marzo'93-Marzo'97, en nuestra Unidad de Hemodiálisis se han tratado a 156 pacientes, 70 de ellos continuan actualmente en tratamiento, 86 han sido baja: 8 por traslado a otras Unidades, 21 por fallecimiento y 57 por trasplante renal funcionante. En total estos 156 pacientes han realizado 3,626 meses de tratamiento.

Métodos analíticos:

Determinación de los Anticuerpos del Virus HC:

Cada cuatro meses se realiza la búsqueda de estos anticuerpos en todos los pacientes de la Unidad. En todos ellos se les realiza un método de ELISA-2. La técnica de ELISA es un método de análisis inmunológico por enzimas, que tiene la ventaja de no producir falsos negativos, pero tiene el inconveniente de dar falsos positivos. Por esa razón todos los resultados positivos son comprobados mediante un método de RIBA-3, la técnica RIBA es un análisis recombinante "immunoblot" mucho mas específico.

Determinación del RNA del virus C mediante PCR:

La cantidad de partículas de RNA del virus C en la sangre de los pacientes infectados por este virus es muy escasa, por esta razón es necesario utilizar una técnica que amplifique éstas, el número de partículas, para ello se utiliza la "reacción en cadena de la polimerasa" o PCR.

Esta técnica solo la hemos utilizado una vez, en marzo de 1997.

Enzimas hepáticas: Todos los meses se determinan en todos los pacientes las encimas alanin-aminotransferasa (ALAT o GPT) y aspartato-aminotransferasa (ASAT o GOT). Si algún paciente presenta elevación de estas cifras, se determinan los anticuerpos del virus C.

Unidad de HD: Consta de tres salas, dos de ellas con 5 y otra con 10 monitores. Monitores Monitral-SC.

Con el fin de asegurar la limpieza y asepsia rigurosa se realizan solo dos turnos de sesiones al día, uno de mañana y otro de tarde. Despues de cada sesión se realiza una desinfección química completa del monitor con hipoclorito sódico. Todas las personas que manejan sangre, u objetos que pudieran estar en contacto con sangre, utilizan guantes y éstos se desechan cada vez que cambian de paciente o de cometido. Las extracciones de sangre se realizan en tubos con vacio y todas las agujas se tapan con protector. Toda mancha de sangre se limpia inmediatamente.

Resultados:

El estudio se realizó sobre 70 pacientes. Trece de estos pacientes tienen los Anticuerpos positivos (18,57%) y 14 tienen positivo el test de la PCR (20,00%).

Figuras 1 y 2.

Como era de esperar no todos los pacientes con los anticuerpos negativos tienen la PCR negativa, 3 de los pacientes con Ac negativos tienen la PCR positiva. Tampoco todos los pacientes con Ac positivos tienen la PCR positiva, de los 13 pacientes con Ac positivos sólo 11 de ellos también son positivos para la PCR.

pero 2 son PCR negativos y Ac positivos. **Figura 3**

Si sumamos todas las positividades (Ac y PCR), hay 16 pacientes con alguno, o los dos, de estos test positivo (22.86%). **Tabla 1**

En cuanto a las enzimas hepáticas (ALAT y ASAT) sólo el grupo en que coinciden las dos positividades, Ac y PCR, tienen una cifra media superior a la de los pacientes con ambos test (Ac y PCR) negativos. **Tabla 2 y Figura 4**

Si se hace un estudio estadístico mediante la "chi cuadrado", comparando los tres grupos, con uno o las dos determinaciones positivas (Ac o PCR), frente a los 53 pacientes con las dos negatividades. Y lo que comparamos es el número de pacientes con una cifra de ASAT o ALAT superior o inferior a la media mas 2 "desviaciones standards", vemos nuevamente que el único grupo estadísticamente significativo es el que tiene las dos positividades, Ac y PCR simultaneamente.

Tabla 3

En cuanto a las seroconversiones, es decir, aquellos pacientes que siendo Ac negativos se han positivizado a lo largo del tiempo de tratamiento en nuestra unidad, solo tres pacientes se han positivizado en estos cuatro años. en estos 3,626 meses de tratamiento lo cual representa una tasa de seroconversión de solo 0,99 casos por 100 pacientes/año.

Comentarios:

1.- La técnica de la PCR representa sin duda una manera mas segura de acercarnos al diagnóstico de la infección por el virus de la hepatitis C, no obstante el hecho de las discordancias entre Ac y PCR no está totalmente aclarado. Una PCR positiva con Ac negativos puede significar: a) que es un paciente no reactivo, que nunca producirá anticuerpos, b) que está todavía en período ventana, la infección es muy reciente y todavía no ha tenido tiempo de producir anticuerpos, en este sentido merece resaltar que un cuarto paciente nuestro tuvo inicialmente Ac negativos y PCR positiva, pero repetidos los análisis un mes mas tarde, los dos test (Ac y PCR) fueron positivos, es decir, en la primera determinación el paciente estaba en período ventana, con el antígeno en la sangre, pero todavía no había producido anticuerpos; y c) es un falso positivo.

Una PCR negativa con unos Ac positivos puede representar: a) que el número de partículas de RNA es muy pequeño y no puede ser detectado por el método, o falso negativo y b) la infección se ha curado pero persisten los Ac.

En nuestro estudio estamos en la fase de repetir por segunda vez estos tests de laboratorio pasados 6 meses y ver si persisten las discordancias entre las positividades y las negatividades.

2.- El estudio de las aminotransferasas de nuestros casos tampoco sirve para

predecir que pacientes con los Ac negativos pueden tener la PCR positiva (3).

3.- En cuanto al ritmo de las seroconversiones de nuestros pacientes parece muy razonable, de sólo 0,99 casos/100 pacientes/año. De los tres pacientes que tuvieron una seroconversión, nos encontramos con los siguientes datos: en dos de ellos había un factor que podría explicarla, ambos habían recibido transfusiones de sangre, uno recibió dos unidades de sangre 5 meses antes de la determinación, al otro caso se le transfundieron 5 unidades de sangre por un hematoma retroperitoneal secundario a la ruptura de un aneurisma de la arterial renal. En el tercer caso no se ha encontrado ningún factor como posible responsable de la seroconversión. Por consiguiente la seroconversión no explicada por transfusiones sería sólo de 0,33 casos por 100 pacientes/año (4).

4.- Aislamiento. Por nuestra parte, a la vista de los comentarios anteriores, no nos parece que haya suficientes datos para aconsejar el aislamiento ni de máquinas ni de locales, si bien debe quedar claro y constantemente recordado que las medidas y precauciones universales de asepsia para evitar la contaminación por gérmenes que se transmiten por la sangre deben ser estrictas y rigurosas.

Conclusiones:

Dentro de las limitaciones que impone un estudio de sólo 4 años de evolución y con sólo 156 pacientes, creemos que se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1.- El método de la PCR para diagnosticar el virus de la PCR amplía las posibilidades de este diagnóstico, pero no evita falsos negativos ni falsos positivos.

2.- La incidencia de seroconversiones en una unidad sin aislamiento, pero con medidas severas y estrictas de asepsia reducen éstas a niveles muy bajos.

3.- En consecuencia no parece que por el momento haya datos suficientes para adoptar de manera generalizada las medidas de aislamientos para luchar contra la diseminación del virus de la Hepatitis C.

BIBLIOGRAFIA

1.- Chauveau Ph.- Epidemiology of hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis. Nephrol Dial Transpl 11 (supl 4): 39. **1996**

2.-

3.- Caramelo C, Bartolomé J, Albalade M, de Sequera P, Navas S, Bermejillo T, Oliva H, Marriot E, Ortiz A, Ruiz Tuñón C, Casado S, Carreño V.-Undiagnosed hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: Value of HCV RNA and liver enzyme levels.- Kidney Int 50: 2027, **1996**

4.- Grupo de Trabajo VHC en diálisis, coordinadores Barril G, Traver JA.- Resultados de 4 años de seguimiento epidemiológico del VHC en la población de pacientes en diálisis española.- Nefrología 16 (supl 1): 307, **1996**

TABLAS

Tabla 1

Pacientes	N	%
Total	70	
Ac-/PCR-	13	18,57
Ac-/PCR+	54	77,14
Ac+/PCR-	3	4,29
Ac+/PCR+	11	15,71

Tabla 2

Pacientes	ASAT	ALAT	p
Ac-/PCR-	12,84±3,99	12,40±6,56	
Ac-/PCR+	13,00±2,83	9,67±7,85	ns
Ac+/PCR-	10,50±0,5	16,50±4,92	ns
Ac+/PCR+	26,89±13,05	40,78±24,29	0.01

Tabla 3

Pacientes con valores ASAT > o < a Media + 2 DS

Pacientes	>Med+2DS	<Med+2DS	Total	Chi2/p
Ac-/PCR-	3	51	54	
Ac-/PCR+	0	3	3	
Total	3	54	57	ns
Ac-/PCR-	3	51	54	
Ac+/PCR-	0	2	2	
Total	3	53	56	ns
Ac-/PCR-	3	51	54	
Ac+/PCR+	6	5	11	
Total	9	56	65	0.001