

Prevalencia de la infección por VHG en hemodiálisis mediante la detección de anticuerpos anti-E2 y RNA

A. Lozano, T. Pérez Gracia*, B. Benavides, F. Galán*, M. M. García Crespo, M. S. García Valdivia*, M. Rodríguez Iglesias* y E. Fernández Ruiz

*Servicios de Nefrología y Microbiología del Hospital Universitario de Puerto Real. Cádiz

RESUMEN

Con el fin de evaluar la incidencia real de la contaminación por VHG hemos investigado la presencia del anticuerpo específico frente al VHG (anti-E2) y la de RNA-VHG como marcadores de infección pasada y presente, respectivamente, en 88 pacientes incluidos en programa de hemodiálisis. El 29,5% (26/88) resultó positivo para alguno de los marcadores, con seronegatividad en el 70,5% (62/88) restante. Entre los pacientes seropositivos, el anticuerpo aislado se encontró en el 69,2% de ellos (18/26) y el RNA fue positivo en el 26,9% (7/28). Un paciente (3,8%) presentó ambos marcadores simultáneamente.

Nuestros resultados amplían las cifras de prevalencia de la infección comunicadas hasta ahora, en nuestro país y fuera de él, respecto a la mayoría de estudios en los que no se incluía la detección del anticuerpo específico frente al VHG y por lo que el alcance real de la contaminación pasada permanecía oculta.

Palabras clave: **VHG. RNA-VHG. Anti-VHG. Anti-E2. Prevalencia. Hemodiálisis.**

PREVALENCE OF HGV INFECTION IN HEMODIALYSIS PATIENTS JUDGED BY ANTI-E2 AND RNA DETECTION

SUMMARY

To evaluate the real incidence of hepatitis G virus (HGV) infection in hemodialysis we have investigated the presence of a specific antibody against HGV (anti-E2) and RNA-HGV as markers of past and present infection, respectively, in 88 patients with chronic renal failure on hemodialysis. Results are expressed in Table I.

In 88 patients, 29.5% (26/88) were seropositive for some marker and the remainder (70.5%: 62/88) were seronegative. We have found positive antibodies-antiE2 in 69.2% (18/26) of the seropositive group, and positive-RNA in 26.9% (7/26) of them. Both RNA and anti-HGV were present in only one (3.8%) patient.

Recibido: 13-II-98.

En versión definitiva: 23-VI-98.

Aceptado: 28-VI-98.

Correspondencia: Dr. Antonio Lozano Díaz.

Sección de Nefrología.

Hospital Universitario de Puerto Real.

Carretera Nacional IV, km. 665.

Puerto Real. Cádiz.

Duration of hemodialysis was greater ($p < 0.0001$) in seropositive than seronegative group.

Our results show a higher prevalence of HGV infection than previous reports. These did not include specific antibody detection and therefore underestimated the true prevalence.

Key words: **HGV. AntiHGV. Anti.E2. Prevalence. Hemodialysis.**

INTRODUCCION

El virus de la hepatitis G (VHG), ya intuido por Dehinarht¹ como agente diferenciado entre los que, en los años 70 y 80, constituían la incógnita de las hepatitis noA-noB, está siendo mejor conocido en su biología^{2,3}, permitiendo el desarrollo de técnicas serológicas que han permitido identificarlo como causa de hepatitis de transmisión parenteral⁴ en cierto número de casos que, ya en la década actual, quedaban en la nebulosa de las hepatitis noA-noE. Se ha investigado la prevalencia del VHG entre los grupos habituales de riesgo para este tipo de agentes basados en la determinación del RNA mediante PCR. Puesto que la presencia de viremia detecta solo la parte de la población con infección activa, hemos estudiado la prevalencia real de la infección presente y pasada por VHG en nuestros pacientes en hemodiálisis mediante la detección de RNA y del anticuerpo anti-E2^{5,6}, específico frente a proteínas que componen la estructura de la cubierta viral codificadas por el genoma del VHG.

PACIENTES Y METODO

Las determinaciones se realizaron a los 88 pacientes con insuficiencia renal crónica incluidos en programa de hemodiálisis en nuestro hospital. El grupo constaba de 49 hombres y 39 mujeres, con una edad media de 54,55 años (DS: 13,62) y una permanencia media en la técnica sustitutiva de 81,92 meses (DS: 77,89). Las sesiones se realizaban según esquema de 4 horas, tres veces por semana, en unidad independiente para los portadores del virus de la hepatitis B y, dentro de las unidades VHB negativas, en monitores exclusivos para los pacientes con serología positiva para el virus de la hepatitis C. Los dializadores empleados eran de uso único y tras las sesiones de diálisis los monitores eran desinfectados con hipoclorito sódico. En todas las unidades se sigue un estricto protocolo de desinfección ambiental y de enseres, ejerciendo las medidas de profilaxis internacionalmente admitidas para evitar la transmisión cruzada durante las maniobras de las sesiones de diálisis.

Las muestras de suero fueron separadas y almacenadas a -80°C hasta su procesamiento; fueron congeladas una sola vez antes de realizar su amplificación. El RNA del VHG se extrajo de 140 microlitros de suero usando un ensayo comercial (Qiap Viral RNA, Qiagen GmbH, Hildes, Alemania). Previa transcripción inversa, se amplificó la diana mediante reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), utilizando los primeros de la región NS3 del genoma del VHG. El producto amplificado fue hibridado con una sonda de ADN y detectado utilizando un ensayo inmunoenzimático (Gen-eti-k DEIA., Sorin Diagnostics, Saluggia, Italia).

Para la detección de los anticuerpos específicos frente al VHG (anti-E2) se utilizó un ensayo inmunoenzimático (Anti-HGenv, Boehringer Mannheim, Alemania).

El análisis estadístico se realizó mediante test t.

RESULTADOS

Los grupos de pacientes que configuraron el estudio serológico se resumen en la [tabla I](#).

En 26 de los 88 pacientes (29,5%) se detectó algún marcador del VHG y 62 pacientes (70,5%) fueron seronegativos para el VHG.

El anticuerpo específico para el VHG resultó positivo como único marcador en 18 de los 26 (69,2%) pacientes seropositivos; en 7 pacientes (26,9%) fue positivo el RNA del VHG y en un paciente se detectaron ambos marcadores (3,8%).

Las distribuciones de edad y sexo entre los grupos seropositivos y seronegativo para VHG no presentaron diferencias significativas (55,96 años, SD 11,59 vs 55,05 años, SD 14,49; 55,6% de sexo masculino vs 44,3%). El tiempo de permanencia en HD era significativamente mayor en los grupos RNA+/antiHVG+ (139,96 meses DS 86,21) respecto al de VHG- (57,58 meses DS 59,1) ($p < 0,001$).

Respecto al Virus de la hepatitis C (VHC), existían anticuerpos-VHC positivos en 14 de los 25 pacientes (56%) con RNA-VHC o anti-E2, frente a 10 de los 62 seronegativos (16,1%) para VHG ($p < 0,0001$); la presencia de anti-VHC+ entre los pacientes con RNA-VHG y los anti-E2 fue muy similar (3/7 vs 11/18), sin significación estadística.

Tabla I. Grupos según la serología VHG.

	nº	sexo (a)	edad (b)	meses HD (c)
RNA+	7	5/2	54,7 (10,9)	119,2 (92,7)
Anti-VHG+	18	10/8	56,5 (12,1)	141,7 (80,7)
RNA+ y anti-VHG+	1	1/0	66	252
VHG-	62	33/29	55,0 (14,4)	57,8 (59,1)

(a): hombres/mujeres. (b): edad media y DS. (c): media de permanencia en HD y SD.

DISCUSION

La población de pacientes con insuficiencia renal en tratamiento sustitutivo mediante hemodiálisis ha constituido uno de los principales grupos de riesgo para infecciones por los virus hepatotropos de transmisión parenteral conocidos en la actualidad. A partir de estudios serológicos que establecen la incidencia de estas infecciones es posible avanzar en el conocimiento de su epidemiología para, así, establecer medidas profilácticas que han controlado su progresión en nuestras unidades de hemodiálisis tal como ha ocurrido con el VHB⁷ y VHC^{8,9}.

El VHG es el que más recientemente se ha identificado como causa de hepatitis de transmisión parenteral noB-noC y la prevalencia del RNA-VHG+ se ha investigado en las poblaciones de riesgo: 6-14% en pacientes politransfundidos por hemopatías^{10,11}, 25-50% entre adictos a drogas parenterales^{12,13}. La prevalencia encontrada entre donantes de sangre, considerados como grupo control de población sin riesgo elevado, oscila aunque en menor grado: 0,9% en Japón¹⁴ y 3% en nuestro país¹⁵.

Las cifras de prevalencia en hemodiálisis para el RNA-VHG que hasta ahora se han comunicado presentan, como ocurre con el VHB y el VHC, importantes variaciones geográficas: 3,1% en Japón¹⁴, 15% en Brasil¹⁸, 16% en Bélgica¹⁹, 19%²⁰ en Italia y 57,5% en Francia²¹. En España, Forns y cols.¹⁵ han descrito en su población de hemodiálisis una incidencia de RNA+ para el VHG de hasta un 26%, superiores a las registradas por Sequera y cols. (14,2%) y García-Valdecasas y cols. (12,9%)^{16,17}.

Las cifras de infección activa que hemos detectado en nuestra población (9%) se aproximan al 6% encontrado en Alemania²², son inferiores a las halladas en otras zonas de Europa y Sudamérica y están muy por debajo de las comunicadas en nuestro país por Forns y cols. situándose más en la línea de los otros estudios españoles antes citados.

Sin embargo, la mayoría de estos trabajos, han investigado la incidencia del VHG mediante la determinación de RNA, reflejando solamente la existen-

cia de viremia activa en el momento de la determinación serológica, sin que permitan conocer la prevalencia real de la contaminación por VHG de las poblaciones estudiadas al no incluir marcadores de infección pasada.

En nuestra población de hemodiálisis hemos determinado, tanto el marcador de infección activa (RNA-VHG) como el anticuerpo específico frente a proteínas de la cubierta que codifica la región E2 del genoma viral y que refleja la eliminación de la infección, tal como ocurre con el anticuerpo de superficie frente al VHB. Cerca del 21% del total de nuestros pacientes presentaron anticuerpos frente al VHG. Estos resultados están en la línea de los encontrados, recientemente, por Feucht²² al estudiar un grupo de hemodializados entre otros grupos de riesgo para la infección actual y pasada por VHG (25%) y suponen la mitad de la prevalencia descrita por Stark²³ entre receptores de trasplante renal.

Un 72% de nuestros pacientes seropositivos para el VHG lo eran por presentar niveles detectables de anti-E2 reflejando que 2 de cada 3 seropositivos lo eran por contaminación pasada.

La prevalencia global de marcadores (RNA/antiVHG) de contaminación por VHG entre nuestra población de pacientes en HD ha sido del 29,5%, muy cercana a la encontrada en Alemania²².

En el suero de un paciente se detectaron, simultáneamente, el RNA del virus y el anticuerpo anti-E2, hecho ya detectado^{22,23} que reflejaría la aparición de niveles ascendentes de anticuerpos con niveles descendentes, pero aún detectables, de viremia.

Nuestros pacientes seropositivos para VHG, contrariamente a lo señalado por García-Valdecasas y cols.¹⁷, tienen estancias en HD significativamente superiores a las de los seronegativos coincidiendo en esto con otros hallazgos^{21,23} y con nuestra propia experiencia en el caso del VHC, obedeciendo a las mismas causas expuestas en su día: disminución de los requerimientos de transfusiones que la administración de eritropoyetina conlleva y el control previo de los donantes de sangre.

Nuestros resultados indican que al incluir el anticuerpo frente al VHG en el seguimiento serológico, la prevalencia real de esta infección vírica será bastante más elevada que la descrita hasta ahora, ya que si se mantuviera la misma proporción de anticuerpos+ en otras poblaciones que han sido estudiadas solo para el RNA, la incidencia de contaminaciones por VHG podría acercarse al 100% en algunas series.

Resta por determinar, en función del seguimiento epidemiológico basado en esta prevalencia real y en las repercusiones clínicas de la hepatitis G con formas de presentación aguda y fulminante²⁴, en qué

medida los protocolos para el control de la transmisión que se practican actualmente en las unidades de HD, u otras prácticas más específicas, ¿monitores de uso exclusivo para casos con RNA+ hasta que desarrollen anticuerpos?, pueden hacer que en el futuro desciendan estas cifras de prevalencia del VHG en nuestros pacientes.

Por otra parte, la frecuente asociación con el VHC, confirmada en nuestra población, hará más difícil la interpretación clínica y causal de la evolución en los test hepáticos en los pacientes RNA-VHG+.

BIBLIOGRAFIA

1. Deinhardt F, Holmes AW, Capps RB, Popper H: Studies on the transmission of disease of human viral hepatitis to marmoset monkeys. I: Transmission of disease, serial passage and description of liver lesions. *J Exp Med* 125: 673-687, 1967.
2. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matías TJ, Muerhoff AS, Schlauder GG: Isolation of novel virus like secuencias associated with human hepatitis. *Nature Med* 1: 564-569, 1996.
3. Leary TP, Muerhoff AS, Simons JN, Pilot-Matías TJ, Erker JC, Chalmers ML: Consensus oligonucleotide primers for the detection of GB virus C in human cryptogenic hepatitis. *J Virol Methods* 56: 119-121, 1996.
4. Linnen J, Wages J, Zhong-Keck ZY, Fry KE, Krawczynsky KZ, Alter H: Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion transmissible agent. *Science* 271: 505-508, 1996.
5. Pilot-Matías TJ, Carrick RJ, Coleman PF, Leary TP, Surowy T, Simons JN: Expression of the of the GB virus C E2 glycoprotein using the Semliki forest vector system and its utility as a serologic marker. *Virology* 225: 282-292, 1996.
6. Tacke M, Kiyosawa K, Stark K, Schuleter V, Ofenloch-Haenle B, Hess G: Detection of antibodies to a putative hepatitis G envelope protein. *Lancet* 349: 318-320, 1997.
7. Lozano Díaz A, Gilbert Rahola J, Perán S, Fernández Ruiz E, Zamora Madaria E: Prevalencia de los marcadores séricos del VHB en grupos de alto riesgo y distinta inmunidad. *Medicina Clínica (Barcelona)* 82: 538-541, 1984.
8. Fernández Ruiz EJ, Remón C, Rodríguez Iglesias M, Benavides B, Del Castillo Gámez R, Hernández Romero MC: Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en pacientes incluidos en programa de hemodiálisis periódica. *Nefrología* XI: 258-262, 1991.
9. Galán F, Pérez Gracia MI, Lozano Díaz, A. Benavides B, Fernández Ruiz E, Rodríguez Iglesias M: A three years follow-up of HVC/RNA and response to synthetic peptides in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl.* aceptado: en prensa, 1997.
10. Tagariello G, Infantolino D, Biasin MR, Davoli PG, Traldi A: Hepatitis G viral RNA in intalian haemophilics with and without hepatitis C infection. *Lancet* 348: 760-761, 1996.
11. Jarvis LM, Davidson F, Hanley JP, Yap PL, Ludlam CA, Simmonds P: Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products. *Lancet* 348: 1352-1355, 1996.
12. Aikawa T, Subai Y, Okamoto H: Hepatitis G infection in drug abusers with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 334: 195-196, 1996.
13. Schrier E, Höhne M, Künkel U, Berg T, Hopf U: Hepatitis GBV-C secuencias in patients infected with HCV contaminated anti-D inmunoglobulin and among i.v. drug users in Germany. *J Hepatol* 25: 385-389, 1996.
14. Masuko K, Mitsui T, Iwuano K, Yamazaki C, Okuda K, Meguro T: Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 334: 1485-1490, 1996.
15. Forns X, Fernández-Llamas P, Costa J, López Labrador FX, Ampurdanés S, Olmedo E: Hepatitis G virus infection in a hemodialysis unit: prevalence and clinical implications. *Nephrol Dial Transpl* 12: 956-960, 1997.
16. Sequera P, Cabrerizo M, Bartomomé J, Carreño V, Caramelo C: Virus de la hepatitis G (VHG) en pacientes hemodializados ¿existe una relación entre el VHG y la patología glomerular? Resúmenes de la XXVII Reunión de la Sociedad Española de Nefrología, *Nefrología* 17, Suppl. 2: 54, 1997.
17. García-Valdecasas J, López I, García F, García P, Manjón M, Bernal MC, Hornos C, Maroto MC, Cerezo S: Factores epidemiológicos relacionados con la infección por Virus de la hepatitis G (VHG) en pacientes hemodializados. Resúmenes de la XXVII Reunión de la Sociedad Española de Nefrología, *Nefrología* 17, Suppl. 2: 56, 1997.
18. Lampe E, Saback FL, Yoshida CF, Niel C: Infection with GB virusC/hepatitis G virus in Brazilian hemodialysis and hepatitis patients and asymptomatic individuals. *J Med Virol* 52: 61-67, 1997.
19. Cornu Ch, Jadoul M, Loute G, Goubau P: Hepatitis G virus infection in haemodialysed patients: epidemiology and clinical relevance. *Nephrol Dial Traspl* 12: 1326-1329, 1997.
20. Sampietro M, Badalamenti S, Graziani G, Como G, Bucciatti G, Corbetta N: Hepatitis G virus infection in hemodialysis patients. *Kidney Int* 51: 348-352, 1997.
21. De Lamballerie X, Charrel RN, Dussol B: Hepatitis GB virus C in patients on hemodialysis. *N Engl J Med* 334: 1549, 1996.
22. Feucht HH, Zollner B, Polywaka S, Knodler B, Schroter M, Nolte H, Laufs R: Distribution of hepatitis G viremia and antibody response to recombinant proteins with special regard to risk factors in 709 patients. *Hepatology* 26: 494-494, 1997.
23. Stark K, Meyer CG, Tacke M, Schwarz A, Braun C, Huzly D, Engel AM, May J, Bienzle U: Hepatitis G virus RNA and hepatitis G virus antibodies in renal transplant recipients: prevalence and risk factors. *Transplantation* 64: 608-612, 1997.
24. Yoshida M, Okamoto H, Mishito S: Detectin of GBH-C hepatitis virus in serum from patients with fulminant hepatitis of unknown etiology. *Lancet* 346: 1131-1131, 1995.