

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**FRECUENCIA CITOMEGALOVIRUS EN DONADORES QUE ASISTEN AL
BANCO DE SANGRE DE ORIENTE EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA**

LUIS EDGARDO MORALES SOLÍS

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, noviembre de 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**FRECUENCIA CITOMEGALOVIRUS EN DONADORES QUE ASISTEN AL
BANCO DE SANGRE DE ORIENTE EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA**

INFORME DE TESIS

Presentado por

LUIS EDGARDO MORALES SOLÍS

Para optar el título de

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, noviembre de 2010

JUNTA DIRECTIVA

<i>Oscar Cobar Pinto, Ph.D.</i>	<i>Decano</i>
<i>Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto</i>	<i>Secretario</i>
<i>Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A</i>	<i>Vocal I</i>
<i>Licda. Liliana Vides de Urizar</i>	<i>Vocal II</i>
<i>Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli</i>	<i>Vocal III</i>
<i>Br. María Estuardo Guerra Valle</i>	<i>Vocal IV</i>
<i>Br. Berta Alejandra Morales Mérida</i>	<i>Vocal V</i>

DEDICATORIA

Acto que dedico:

A Dios:

Por darme la vida y todas las oportunidades que a diario pone en mi camino, por permitirme culminar con éxito este tramo de mi vida y llenarme de bendiciones cada día.

A mis padres:

Elder Morales y Estela Solís, por su amor, entrega, sustento, confianza, por darme la inspiración de superarme cada día y apoyo incondicional que hacen posible este triunfo.

A mi esposa:

Jennifer Andrino, gracias por complementarme con tu gran amor, comprensión, apoyo incondicional, fidelidad, confianza y por ser esa compañera sincera, te amo mucho.

A mi hija:

Valeria Alejandra, por llenarme de alegría, completarme y darle sentido a mi vida.

A mis hermanos:

Elder y Henry, por todos los momentos compartidos que han llenado mi vida de un sentido incomparable, por darme amor, ternura, apoyo y amistad, los amo con todo mi corazón.

A mis cuñadas y sobrinas:

Marisol Hernández y Wilda González, por su apoyo incondicional, a mis sobrinas Sofía y Jimena Morales por su cariño y llenar mi vida de alegría.

A mis amigos:

Especialmente Bruno, Álvaro, Lili, Rolando, Darwin, Lucia, Yessenia, Claudia, Ana, Luis y Amalia, gracias por su amistad, por su apoyo, por los gratos momentos compartidos y a todos esos amigos que Dios puso en mi camino, siempre ocuparán un lugar en mi corazón y en mi recuerdo.

A mi familia en general:

En especial a Familia Morales Gutiérrez, Zully Morales, Delia Velazco, Julio Cáceres y Carlos Andrino, por sus consejos, cariño y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A:

La Universidad de San Carlos de Guatemala, por brindarme las herramientas necesarias para mi formación profesional.

Todos los catedráticos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por los conocimientos que me brindaron durante mi paso por la Universidad.

Lic. Jorge Mario Hernández de León, por su valiosa enseñanza, paciencia, ayuda y apoyo en la realización de esta investigación.

Licda. Karla Lange y MSc. MSc. Vivian Matta, por su colaboración y orientación.

Todo el personal del Banco de Sangre de Oriente del departamento de Chiquimula, por su ayuda y colaboración.

Licda. Jennifer Andrino y Licda. Zully Morales, por su colaboración durante la fase experimental de esta investigación.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	3
III.	ANTECEDENTES	5
	A. Historia	5
	B. Etiología	6
	C. Patogenia e inmunidad	7
	1. Patogenia	7
	2. Inmunidad	9
	D. Transmisión	11
	E. Manifestaciones clínicas	12
	1. Pacientes inmunocompetentes	12
	2. Infección en el recién nacido	13
	3. Pacientes inmunodeprimidos	13
	4. Receptores de trasplante de órganos	15
	5. Pacientes con SIDA	16
	F. Riesgo de productos sanguíneos específicos	16
	G. Diagnóstico	17
	H. Tratamiento	21
	1. Fármacos antivíricos	21
	2. Inmunoterapia pasiva	22
	I. Prevención y control	22
	J. Epidemiología	24
IV.	JUSTIFICACIÓN	28
V.	OBJETIVOS	30
VI.	HIPÓTESIS	31
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	32
	A. Universo	32

B. Muestra	32
C. Recursos	32
D. Procedimiento	34
E. Diseño metodológico	37
VIII. RESULTADOS	38
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
X. CONCLUSIONES	43
XI. RECOMENDACIONES	44
XII. REFERENCIAS	45
XIII. ANEXOS	51
Anexo 1 Entrevista de Banco de Sangre de Oriente	51
Anexo 2 Consentimiento informado	54

Luis Edgardo Morales Solís
Autor

Lic. Jorge Mario Hernández de León
Asesor

Licda. Karla Lange
Revisora

MSc. Vivian Matta Ríos de García
Revisora

MSc. Vivian Matta Ríos de García
Directora

Óscar Cobar Pinto Ph.D
Decano

I. RESUMEN

El citomegalovirus (CMV) es un herpes virus que puede producir daño a nivel celular en diversos tejidos y posee capacidad para mantenerse en estado latente, por lo que está asociado a infecciones recurrentes. Se propaga por contacto personal íntimo, a través de órganos donados o transfusiones sanguíneas.

Para la mayoría de personas adultas la infección por CMV pasa desapercibida pero en pacientes con sistema inmunológico comprometido, neonatos y receptores de órganos los daños pueden ser irreversibles e incluso llevarlos a un desenlace fatal.

La transmisión de infecciones por vía transfusional (sangre y derivados plasmáticos) es una complicación de gran importancia en relación con la morbimortalidad en receptores de sangre, lo que ha creado la necesidad de establecer estrategias de prevención que reduzcan o eliminen este riesgo.

El objetivo general del estudio fue determinar la frecuencia de infección por citomegalovirus (CMV) través de la detección de anticuerpos IgM en donadores que asisten al Banco de Sangre de Oriente del departamento de Chiquimula, por medio de la prueba de inmunoenzayo Enzimático (ELISA).

Se incluyó en el estudio 276 donadores de sangre, predominando el género masculino con un 84% entre las edades de 18 a 54 años, los cuales fueron escogidos de acuerdo a los requisitos, normas y técnicas que exige el Reglamento de la Ley de Servicios de Medicina Transfusional y Banco de sangre.

Los resultados de la presente investigación indican que la frecuencia de anticuerpos IgM contra CMV en los donadores del Banco de Sangre de Oriente en

el departamento de Chiquimula es de 0.36% (1/276); comprendiendo el único caso al genero masculino.

La frecuencia de anticuerpos IgM para CMV en la población de donadores de sangre que asistió al Banco de Sangre de Oriente en el departamento de Chiquimula fue de 0.36%.

II. INTRODUCCIÓN

La transmisión de infecciones por vía transfusional (sangre y derivados plasmáticos) es una complicación de gran importancia en relación con la morbimortalidad en receptores de sangre. La presencia de agentes infecciosos en la sangre o plasma de donadores asintomáticos es uno de los mayores factores de riesgo de transmisión de agentes infecciosos, entre ellos citomegalovirus (CMV), el cual es frecuente en países en vías de desarrollo. Por esta razón, la determinación de este virus debe ser obligatoria, para hacer de la transfusión sanguínea un procedimiento más seguro (1, 2).

La enfermedad causada por CMV constituye una complicación seria y grave en pacientes inmunocomprometidos o inmunosuprimidos (transplantados, pacientes con SIDA y neonatos), mujeres embarazadas que sufren una primoinfección o una reinfección y se identifica actualmente como un patógeno importante en todos los grupos de edad. Sin embargo, la mayor parte de las infecciones por CMV que se producen en el total de la población inmunocompetente, serán asintomáticas o con manifestaciones muy inespecíficas (3, 4).

Investigaciones realizadas hasta la fecha, indican que la prevalencia de CMV en la población que acude a donar sangre al Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala es considerablemente elevada, reportándose que la prevalencia de anticuerpos IgM e IgG en donadores tamizados que se presentaron en el año 2002, es de 22% y 97%, respectivamente (5).

En el 2006 se determinó que la prevalencia de anticuerpos IgM para CMV en la población de donadores de sangre que asisten al Hospital de San Benito, Petén fue de 8.55% (6).

Los estudios mencionados demuestran la necesidad de establecer la frecuencia de CMV en los donadores que asisten a los bancos de sangre del departamento de Chiquimula, ya que en la actualidad no se realiza la detección de este virus, para así en un futuro, implementar métodos sensibles y específicos para la detección de dicho virus en las unidades de sangre.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

Durante los primeros años del siglo anterior, el CMV fue reconocido por los cambios citopáticos que producía a nivel intracelular en las glándulas salivales. La enfermedad citomegálica se describió por primera vez en 1904 en recién nacidos cuya orina y saliva se apreciaban células gigantes multinucleadas con importantes inclusiones intracelulares. El origen vírico se empezó a sospechar en las décadas sucesivas debido a la similitud histopatológica con las lesiones herpéticas (7).

En 1926, Glahn y Pappenheimer hicieron el primer reporte de células citomegálicas en adultos, postulando que se trataba de una patología viral. Sin embargo, el virus fue aislado por primera vez en 1956 por Smith y col., en pacientes con enfermedad de inclusión citomegálica congénita (1, 8, 9).

En 1960, Weller y col. sugirieron la existencia de tres serotipos del CMV, y, en 1972, Yeager y col. describieron el primero de dos casos de lactantes de bajo peso al nacer con infección por CMV adquirida por transfusión sanguínea (10).

En 1966, se demostró que el CMV era el agente causal del síndrome mononucleósico postransfuncional y, en la década comprendida de 1970 a 1980, surgió como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunosuprimidos por trasplante de órganos, trasplante de médula ósea o con SIDA (11).

En 1976, Ballard y col. informaron infecciones por CMV en lactantes prematuros que habían recibido transfusiones múltiples en la primera semana de vida, observándose que a las seis semanas posteriores a la transfusión

desarrollaron hepatoesplenomegalia, coloración gris, deterioro de la función respiratoria, linfocitopenia y trombocitopenia (10).

B. Etiología

El CMV, también denominado herpesvirus humano tipo 5, pertenece a la subfamilia *Betaherpesvirinae*, de la familia *Herpesviridae* y se considera un patógeno linfótrofo. Su nombre deriva del efecto citopático típico de las células que infecta: un agrandamiento celular con presencia de inclusiones nucleares basófilas y también citoplasmáticas (7, 12, 14).

El CMV tiene una arquitectura característica de la familia de los herpesvirus. Posee un genoma de DNA envuelto, de unos 180-200 nm, ligeramente pleomórfico. De adentro hacia afuera presenta las siguientes estructuras:

- Núcleo con el DNA vírico y proteínas asociadas.
- Cápside icosaédrica constituida por 162 subunidades o capsómeros, de naturaleza proteica.
- Una zona amorfa de grosor y consistencia variables, denominada tegumento o matriz, compuesta de proteínas.
- Involtura membranosa derivada de la membrana nuclear de la célula hospedadora, en cuya parte externa están ancladas unas proyecciones espiculares de codificación vírica y naturaleza glucoprotéica (7, 14, 15).

Algunas regiones del genoma del CMV tienen cierta homología con el DNA humano, lo que llevó a pensar en una posible oncogenicidad natural del CMV, aspecto que, con posterioridad, quedó descartado (7).

Como en todos los miembros de la familia, la capacidad de latencia es la característica biológica más destacada del CMV, pero, a diferencia de los demás, el espectro de tipos celulares en los que lleva a cabo este proceso es muy amplio.

La reactivación está relacionada con la inmunidad del individuo, en especial la de tipo celular, pero las causas últimas que la desencadenan no se conocen con detalle (7).

Es uno de los agentes virales animales más termolábiles conocidos hasta la fecha. A 37°C su vida media es de aproximadamente 55 minutos. Puede ser inactivado con diversos agentes químicos como el éter; y físicos como pH bajo y luz ultravioleta, incluyendo calor (56°C durante 30 min), y ciclos de congelación y descongelación (16).

C. Patogenia e inmunidad

1. Patogenia

La patogenia del CMV es similar en muchos aspectos a la de otros herpes virus. Suele asociarse a células y se disemina por el organismo a través de las células infectadas, en especial de los monocitos, linfocitos y células epiteliales (13).

La infección por el CMV se produce por tres vías diferentes: la infección primaria, la reactivación de una cepa latente y la reinfección por una cepa externa. Sólo una pequeña parte de estas infecciones es sintomática. La aparición o no de síntomas está determinada, principalmente, por la situación inmunitaria del hospedador (7).

La infección por CMV en individuos inmunocomprometidos, como los neonatos, los pacientes con cáncer, los receptores de un trasplante de órganos tratados con inmunosupresores y enfermos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), causa varias enfermedades inflamatorias tales como encefalitis, pneumonitis intersticial, retinitis, hepatitis, gastritis, colitis y alteraciones

hematológicas. La mayoría de las enfermedades asociadas a CMV son el resultado de la reactivación de virus latente o persistente adquiridos antes de la inmunosupresión (2, 17).

1.1 Infección primaria

Las infecciones primarias por CMV son benignas para la mayoría de los adultos, pero, si ocurre durante el embarazo, el virus puede ser transmitido al feto y esto da como resultado una enfermedad neonatal sintomática o una infección congénita subclínica, que más tarde puede manifestarse con pérdida de la audición o trastornos del aprendizaje (9, 10).

La infección congénita ocurre en 0.4 a 2.3% de todos los nacidos vivos. Alrededor del 10% son sintomáticos y el resto tiene infección subclínica. La infección neonatal sintomática tiene una tasa de mortalidad del 15 al 30% y la mayoría de los sobrevivientes presentan secuelas en el largo plazo. Como dos terceras partes presentan petequias, ictericia y hepatoesplenomegalia (9).

Los signos comunes en la infección neonatal sintomática, son las convulsiones e hipotonía, la microcefalia se registra en un 50 a 75% de los casos. La mitad de los pacientes presentan calcificaciones intracraneales y en un 50% de los sobrevivientes desarrollan pérdida auditiva y deterioro neurológico (18).

La corioretinitis es la anormalidad ocular más común, seguida por la atrofia óptica. También ocurre microftalmia, cornea nublada, hipoplasia del nervio óptico, y estrabismo. Estas anormalidades oculares son comunes en los neonatos con calcificaciones intracraneales (2, 9).

1. 2. Reinfeción o activación secundaria

Es el caso del huésped con inmunidad previa al CMV que se expone al agente infeccioso nuevamente, lo cual trae como consecuencia la reactivación de infección latente, la que puede ser causada por mecanismos iatrogénicos patológicos o fisiológicos. El embarazo, enfermedades debilitantes, la administración de drogas inmunosupresoras y las intervenciones quirúrgicas pueden activar una infección latente debido a las causas anteriormente mencionadas (2, 7).

El CMV tiene la capacidad de diseminarse de célula a célula en presencia de niveles elevados de anticuerpos debido a la peculiar característica de los herpes virus de infectar células, que a su vez infectan a otras células y que luego se fusionan. Tras la infección primaria, el virus permanece en estado de latencia por mecanismos aún no esclarecidos. Se sospecha que los leucocitos, particularmente los mononucleares, son los posibles reservorios y los responsables de la transmisión a través de las transfusiones sanguíneas. Otra particularidad del CMV es su capacidad de reactivarse en condiciones de inmunodepresión, posiblemente por estimulación alogénica (7, 15).

El riesgo de una reinfeción en pacientes seropositivos es común, aunque su detección es muy difícil porque requiere de análisis de ácido desoxirribonucleico (ADN). Estudios en pacientes que sufrieron trasplante de médula ósea y de transfusiones sanguíneas, demuestran que cerca de un 80% sufre reactivación, aunque sea difícil de apreciar clínicamente (7, 15).

2. Inmunidad

Como respuesta a la infección primaria se producen anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA que, por sí mismos, no confieren protección frente al CMV. Es la

respuesta celular, mediada por linfocitos citocidas naturales (NK) y, sobre todo, por los linfocitos T citotóxicos (LTC), la que consigue el control de la infección primaria. De esta manera, el CMV queda en estado de latencia permanente tanto en células circulantes (polimorfonucleares y linfocitos T, como tisulares, células del endotelio vascular y del epitelio renal) (7).

Los anticuerpos IgM son detectables de 7 a 12 días después de la infección inicial y por lo general persisten por 3 a 4 meses. Los anticuerpos IgG aparecen al mismo tiempo, alcanzando su máximo 2 a 3 meses después de la infección y persisten por muchos años, a menudo de por vida (19).

La infección primaria por CMV es seguida por la reactivación de las células NK y de los LTC, la función de estos últimos es específicamente destruir las células infectadas por CMV (19).

La infección por CMV también produce un deterioro general de la inmunidad celular, caracterizado por alteración de la respuesta blastógena a mitogénica no específicas. Los antígenos específicos de CMV incrementan el subgrupo de linfocitos T CD8 y disminuyen su capacidad citotóxica, además se presenta una reducción moderada pero transitoria en el número de linfocitos T CD4. El citomegalovirus codifica numerosas proteínas que permiten al virus evadir la respuesta inmunitaria (19).

El CMV presenta un mecanismo específico de evasión inmune, que le permite permanecer en estado latente durante largos períodos. En las células infectadas, el ensamblaje del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I-péptido vírico es inestable, por la codificación de numerosas proteínas, por lo tanto los antígenos del virus no se presentan en la superficie celular y no se produce la eliminación por LTC (20).

La defensa inicial contra la invasión viral comienza con la respuesta inmune innata o no específica que incluye a diferentes citocinas con propiedades de regular la respuesta inmune (celular y humoral) antiviral, también las citocinas pueden tener efectos antivirales directos, tal es el caso del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e interferón- γ (IFN- γ) que actúan sobre las células infectadas impidiendo la replicación viral. Se conoce que las citocinas tipo I, tienen una participación muy importante como moléculas efectoras antivirales en la respuesta por células T contra las infecciones virales (17, 21).

Las infecciones con CMV, inducen altos niveles de interleucina-12 (IL-12), IFN- γ , TNF- α e IL-6, citocinas que están asociadas con efectos pro-inflamatorios. Las citocinas son de mucha importancia para el control de la infección por CMV. La menor patogenicidad de estos virus es debida a la capacidad de estos factores solubles de suprimir el crecimiento viral *in vivo* más que aumentar la respuesta antiviral del huésped (22).

La reactivación del virus latente se produce cuando el sistema inmunitario del hospedador se debilita como consecuencia principalmente de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y del tratamiento inmunosupresor en los receptores de trasplante. No hay datos que sugieran que la reactivación o la enfermedad se deban a factores de virulencia del virus. La replicación del CMV ocurre fundamentalmente en el núcleo de la célula infectada; por esta razón, las células gigantes con inclusiones intranucleares son la marca para el diagnóstico histológico de la enfermedad (7).

D. Transmisión

El CMV puede ser transmitido de las siguientes formas: Transplacentaria, desde una madre con infección primaria o adquirida, quien no tiene anticuerpos protectores contra el virus (CMV congénito). A través de las secreciones cervicales

o vaginales durante el nacimiento, por la leche de la madre que tiene una infección activa (CMV perinatal), por la saliva durante los años preescolares, especialmente en las guarderías, o por la vía fecal-oral. Los niños que se infectan de esta manera transmiten fácilmente el virus a sus padres (12).

La transmisión iatrogénica puede ocurrir a cualquier edad a través de órganos trasplantados o por transfusiones de sangre. La vía venérea es la forma dominante después de los 15 años de edad (12).

E. Manifestaciones clínicas

Las consecuencias de la infección por el CMV son muy variadas y están determinadas por la situación inmunitaria del hospedador. Así, en las personas sanas, la infección por el CMV es casi siempre asintomática, mientras que en los pacientes inmunodeprimidos es una causa principal de morbilidad y, hasta fechas recientes, de mortalidad (7).

1. Pacientes inmunocompetentes

El síndrome mononucleósico por el CMV del niño y del adulto inmunocompetentes se produce como consecuencia de la primoinfección. Predomina en adultos jóvenes, en los que el CMV es la primera causa de síndrome mononucleósico. La fiebre, que es el síntoma principal, se prolonga 2 a 3 semanas y se acompaña de mialgias y postración. Al contrario de lo que ocurre en la mononucleosis producida por el virus de Epstein-Barr, la odinofagia, la amigdalitis, la esplenomegalia y las adenopatías son poco frecuentes. Aunque inespecíficas y de escasa identidad, se presenta aumento de las transaminasas, trombopenia y anemia (7).

La mayoría de los pacientes se curan de forma espontánea y sin secuelas, pero algunos quedan con astenia prolongada y otros, de forma excepcional, desarrollan complicaciones. Entre éstas, se han descrito casos de hepatitis, miocarditis, meningoencefalitis, síndrome de Guillain-Barré, trombopenia extrema, neumonía y anemia hemolítica (15).

2. Infección en el recién nacido

El 25% de las infecciones congénitas por el CMV son sintomáticas. El 5% de los hijos de madres primíparas que sufren la primoinfección durante el embarazo, tienen mayor riesgo de infecciones graves. Se manifiestan con ictericia, petequias, hepatoesplenomegalia, acompañadas de trombopenia y anemia hemolítica. También son frecuentes la prematuridad, el bajo peso, la microcefalia, las convulsiones y la afectación multiorgánica con miocarditis, neumonitis y coriorretinitis. En estos casos, la mortalidad precoz es del 30% y los supervivientes quedan con secuelas neurológicas graves, como ceguera, hipoacusia y retraso psicomotor (7, 15).

La infección perinatal por CMV es generalmente asintomática y no produce secuelas tardías. Cuando produce síntomas, estos se asemejan a los del síndrome mononucleósico del adulto sano (2, 7).

3. Pacientes inmunodeprimidos

Los avances en el conocimiento de la epidemiología, diagnóstico, prevención y tratamiento de la enfermedad por el CMV de la última década, han restado protagonismo a este virus como principal oportunista de este grupo de pacientes. En los años ochenta y en los inicios de los noventa, era la principal causa de muerte en los receptores de trasplantes y de ceguera en los pacientes con SIDA, pero, aún hoy, la infección por el CMV ocasiona una importante morbilidad en

estos pacientes. La enfermedad por el CMV en los pacientes inmunodeprimidos se clasifica en el síndrome vírico y en la enfermedad invasora de órgano (2, 7).

3.1 Síndrome vírico

La clínica incluye, al menos, una de las siguientes alteraciones: fiebre igual o mayor de 38 °C, malestar general, leucopenia (inferior a 3,500 leucocitos/ μ l o una reducción mayor del 20% si el recuento previo al inicio de los síntomas era superior a 4,000 células/ μ l), linfocitosis atípica (superior al 5%), trombopenia (inferior a 100,000 plaquetas/ μ l o una reducción mayor del 20% si el recuento previo al inicio de los síntomas era inferior a 115,000 células/ μ l) y elevación de las transaminasas superior a dos veces los valores basales, excepto en el trasplante hepático (7).

La fiebre, generalmente prolongada y acompañada de artromialgias, suele ser el único síntoma. Sin tratamiento se autolimita de 3 a 4 semanas, o bien progresa hacia una enfermedad invasora. Las manifestaciones clínicas del síndrome vírico son inespecíficas y plantean un diagnóstico diferencial amplio que incluye las infecciones producidas por otros microorganismos oportunistas, el rechazo agudo y la toxicidad por fármacos (7).

3. 2 Enfermedad invasora

La enfermedad invasora causada por el CMV se define por la presencia conjunta de: a) infección localizada, confirmada por la demostración de células de oclusión citomegálica, detección *in situ* de antígeno de CMV o detección de DNA por inmunohistoquímica o hibridación en la biopsia. b) síntomas o signos de disfunción del órgano del que se ha tomado la muestra. De esta forma, se establece el diagnóstico de la hepatitis, esofagitis, gastroenteritis, colitis y neumonía (7).

A diferencia de lo anterior, el diagnóstico de la retinitis es, fundamentalmente, clínico. El diagnóstico de encefalitis o de polirradiculitis se establece mediante la demostración del CMV en el líquido cefalorraquídeo (LCR) más los síntomas y signos propios de afección de ambas entidades (7, 15).

4. Receptores de trasplante de órgano

Las manifestaciones clínicas de la infección por CMV en los receptores de trasplante de órgano se agrupan en dos categorías. Por una parte, las ocasionadas por la acción directa del propio virus, (las mejor conocidas), que comprenden el síndrome vírico y la enfermedad invasora. Por otra parte, las manifestaciones indirectas, atribuidas a los efectos del CMV sobre el sistema inmunitario del paciente, que incluyen la asociación con otras infecciones, con diferentes formas de disfunción del trasplante (7).

4. 1 Acción directa

El trasplante es el órgano diana del CMV en los receptores de trasplante de órgano sólido, especialmente cuando el donante es seropositivo y el receptor seronegativo (7).

La infección por el CMV de los órganos transplantados produce disfunción del trasplante, indistinguible de la producida por el rechazo agudo. Por ello, la enfermedad por CMV se incluye siempre en el diagnóstico diferencial de la disfunción del trasplante, especialmente si ésta se produce durante los primeros meses postrasplante. La biopsia es, por ahora, la prueba que permite resolver este importante dilema (7).

La cronología de la enfermedad por CMV es una característica clínica única de los receptores de trasplante que está estrechamente ligada a la intensidad del

tratamiento inmunosupresor. La aparición más tardía puede producirse en los pacientes con rechazo tardío, que presentan disfunción crónica del trasplante y reciben profilaxis anti-CMV durante los primeros meses postrasplante (7).

4. 2 Efectos indirectos

El efecto inmunodepresor del CMV sobre el hospedador incrementa la sensibilidad de éste a otros patógenos. Se ha demostrado que la enfermedad por el CMV se acompaña con frecuencia de infecciones por *Pneumocystis jiroveci* y *Aspergillus* en los receptores de trasplante cardíaco y pulmonar, así como con un mayor riesgo de infecciones bacterianas y fúngicas en los receptores de trasplante hepático (7).

5. Pacientes con SIDA

En la época previa al tratamiento antirretroviral de gran eficacia, la enfermedad por el CMV, especialmente la retinitis, afectaba a casi la mitad de los pacientes. En la actualidad es una rara complicación, limitada a los pacientes sin control de la infección por el VIH y con destrucción completa del sistema inmunitario. Las manifestaciones más características de la infección por el CMV en estos pacientes son la retinitis y la polirradiculopatía (7).

F. Riesgo de productos sanguíneos específicos

Aunque es claro que los leucocitos son el vehículo de la transmisión de la infección por CMV, el mecanismo específico de transmisión permanece confuso (23).

La transfusión es una práctica frecuente. El empleo de la sangre puede salvar la vida de un paciente, pero no está exento de riesgos, de los cuales la

transmisión de infecciones es uno de los más importantes. A partir de la identificación de la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) por vía de la transfusión, a nivel mundial se ha incrementado el número de medidas preventivas para eliminar el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas por esta vía. Los microorganismos que se pueden transmitir por transfusión incluyen: virus linfotrópicos humanos de células T (HTLV), VIH, virus de hepatitis B, virus de hepatitis C, virus de hepatitis D, virus de hepatitis G, citomegalovirus, *Treponema pallidum*, *Brucella* sp, *Plasmodium* sp, *Toxoplasma gondii* y *Trypanosoma cruzi*. La medida más importante para reducir los riesgos que conlleva la transfusión es el uso adecuado y cauteloso de la misma (24).

La sangre completa, (sangre sin separar glóbulos rojos, plasma, leucocitos, etc.) y las células empacadas (sangre sin el plasma sanguíneo), provenientes de donadores seropositivos para CMV, representan el mayor riesgo de transmisión. Otros hemoderivados como el plasma fresco congelado, el crioprecipitado, etc. no transmiten la infección probablemente porque contienen un número reducido de leucocitos, además de que el proceso de congelamiento al que son sometidos, induce su destrucción (25).

El riesgo aumenta si hay exposición a sangre de múltiples y diferentes donadores, estimándose un riesgo de 5 a 12% por unidad. El volumen de sangre, la edad de la sangre (tiempo de haber sido extraída del receptor), el número de leucocitos y características del receptor, también son características de riesgo (25).

G. Diagnóstico

Las características biológicas, la patogenia y la evolución natural de las infecciones por CMV condicionan poderosamente el diagnóstico de laboratorio.

Existen numerosas pruebas cuya aplicación dependerá de las distintas situaciones y objetivos que se persigan (7).

Históricamente, los primeros métodos o técnicas diagnósticas en aplicarse fueron los directos, de observación histopatológica con tinciones convencionales. El efecto citopático producido por el CMV en las células es muy característico y proporciona un diagnóstico rápido, fiable y asequible a todos los laboratorios por su sencillez. La sensibilidad es baja, aunque puede aumentarse con la utilización de técnicas de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales, que también mejoran la especificidad (7).

Los pacientes infectados por el CMV desarrollan una respuesta humoral bastante precoz, con producción de IgM e IgG que son la base del diagnóstico serológico (7).

Existen numerosos métodos de detección de anticuerpos en el laboratorio. La prueba de fijación de complemento, que detecta conjuntamente IgG e IgM, adolece de falta de sensibilidad y es muy laboriosa. La inmunofluorescencia indirecta es más sensible que la fijación de complemento y permite la detección individualizada de distintos tipos de anticuerpos. Sin embargo, genera falsos positivos por la presencia de receptores Fc inducidos por el CMV, en las células infectadas que sirven de sustrato antigénico de la reacción. Ambos métodos han quedado relegados por razones de índole práctico por pruebas como la aglutinación con partículas de látex y enzimoanálisis (EIA) (7, 26).

La aglutinación con partículas de látex sensibilizadas con antígeno de CMV, permite la detección conjunta de IgG e IgM. Es sensible, específica, sencilla, rápida de ejecutar y resulta ser la más apropiada para la detección inmediata de anticuerpos totales (26).

Los métodos de EIA permiten detectar anticuerpos de las clases IgM e IgG. Existen numerosos sistemas comerciales con una calidad general muy aceptable, fácilmente aplicables al trabajo habitual del laboratorio. En la actualidad se trabaja en el diseño de nuevos EIA (en formato ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas –ELISA- y western-blot) (7, 26).

El método de western-blot contiene proteínas víricas purificadas (pp150, p82, pp65, pp28) y proteínas recombinantes (rp150, rp52, rp130 y rp38) con el que se consigue una extraordinaria eficacia diagnóstica (sensibilidad del 100%, especificidad del 98,6%) (27).

El cultivo celular es el método de referencia por su especificidad. No son muchos los sustratos celulares que soportan el crecimiento del CMV, siendo las líneas de fibroblastos humanos las más utilizadas. El proceso es muy largo y laborioso que requiere hasta 30 días. En estos cultivos se necesitan de 1 a 2 semanas para los cambios citológicos (28).

El cultivo convencional en tubo resulta demasiado lento y ha sido sustituido en la práctica por la variante conocida como *shell vial*, que detecta precozmente el crecimiento del virus por tinción fluorescente específica de proteínas inmediatas tempranas en el cultivo celular. El método *shell vial* mejora también la sensibilidad y resulta altamente específico para la presencia del CMV en la muestra. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la simple presencia del virus que se replica (infección activa) no significa que sea el responsable del cuadro clínico (enfermedad por el CMV), por lo que, en la práctica, el valor predictivo de los métodos de cultivo puede ser subóptimo en ciertos pacientes y muestras clínicas, como la orina, la saliva o las secreciones respiratorias de pacientes inmunodeprimidos, aunque la predictividad mejora si el aislamiento se realiza en sangre. Por otra parte, el cultivo de la orina del recién nacido es el método de

elección ante la sospecha de infección neonatal, resultando también útil en la primoinfección del niño y adulto sanos (7).

El valor predictivo de las pruebas para la infección sintomática mejoró radicalmente con la introducción del concepto de carga vírica del CMV. Existen dos formas de llevarla a cabo: la prueba de determinación de antígenos en sangre (antigenemia) y los métodos moleculares. La primera detecta antígenos de la fosfoproteína de matriz pp65 en los leucocitos de sangre periférica. Se trata de un método al alcance de muchos laboratorios. Tiene una sensibilidad superior a los métodos de cultivo, es muy específico, ofrece resultados tras 4 a 5 horas de procesamiento y la cuantificación de las células que expresan el antígeno es una medida indirecta pero fiable, de la carga vírica. Por el contrario, no está estandarizado, los valores indicativos de enfermedad no son intercambiables entre diferentes laboratorios. Además, la proteína pp65 es muy lábil, lo que obliga a un procesamiento inmediato de la muestra (7).

Los métodos cuantitativos moleculares, de los que existen sistemas comerciales basados en PCR, no se ven afectados por la estabilidad del material y son más reproducibles que la detección de antígenos en sangre, aunque tampoco están bien estandarizados. Por tanto la detección de antígenos como el PCR son buenos métodos de determinación de la carga vírica, por lo que la adopción de uno u otro estará condicionada por razones de índole práctico. Recientemente se han descrito técnicas de PCR en tiempo real que solventan algunos problemas técnicos de los métodos de amplificación convencional (7).

H. Tratamiento

1. Fármacos antivíricos

Los fármacos aprobados para el tratamiento de la enfermedad causada por el CMV son ganciclovir, valganciclovir, foscarnet y cidofovir, así como fomivirsén para el tratamiento intravítreo de la retinitis (29).

El ganciclovir por vía intravenosa es el tratamiento de elección de la enfermedad por el CMV. Este medicamento previene la enfermedad causada por este virus en pacientes con SIDA y en los que reciben trasplantes, ya que reduce la gravedad de algunos síndromes, como retinitis y enfermedades gastrointestinales (29).

La dosis de ganciclovir es de 5 mg/kg cada 12 horas, que debe ajustarse en los pacientes con insuficiencia renal. La duración del tratamiento se ha establecido, de forma empírica, en 2-3 semanas (7, 30).

El valganciclovir es un profármaco del ganciclovir que permite la administración oral. Tiene una excelente biodisponibilidad y alcanza niveles en suero similares a los conseguidos por vía intravenosa. Es tan eficaz como el ganciclovir intravenoso en el tratamiento de coriorretinitis en los pacientes con SIDA. La experiencia en los receptores de trasplante es limitada. La dosis de tratamiento es de 900 mg por vía oral cada 12 horas. Para mantenimiento y profilaxis se utilizan 900 mg/día (7, 31).

El foscarnet es la alternativa terapéutica para los pacientes con fracaso o intolerancia al tratamiento con ganciclovir. Se administra por vía intravenosa en dosis de 60 mg/kg cada 8 horas, con ajuste de dosis en los pacientes con insuficiencia renal. La toxicidad renal, que puede ser grave, es muy frecuente.

Otros efectos adversos son anemia, hipocalcemia, náuseas, vómitos y convulsiones (7, 29).

El tratamiento combinado de ganciclovir y foscarnet tiene actividad antivírica sinérgica *in vitro* y se ha utilizado en algunos casos en los que las opciones previas han fracasado (31).

El cidofovir se ha ensayado, básicamente, en los pacientes con retinitis y SIDA. La dosis es de 5 mg/kg por vía intravenosa, cada 7 días las 2 primeras semanas y después cada 14 días como pauta de mantenimiento. La toxicidad renal, que es frecuente y grave, se reduce con la hidratación adecuada y la administración de probenecida (2 g, 3 horas antes de administrar el cidofovir, y 1 g, 3 y 8 horas después de su administración) (7, 29, 32).

2. Inmunoterapia pasiva

La eficacia de las inmunoglobulinas en el tratamiento de la enfermedad por CMV no se ha demostrado de forma concluyente y su precio es muy elevado. El tratamiento combinado con gammaglobulina hiperinmune y ganciclovir en los casos de neumonía por CMV en el trasplante de progenitores hematopoyéticos, mejora los pésimos resultados de la monoterapia con ganciclovir. Aún así la mortalidad se mantiene en el 50% (7, 29).

I. Prevención y control

Las principales vías de prevención para contagio de CMV son la sexual, el trasplante de tejidos y la transfusión de sangre. El semen representa un vector fundamental para la diseminación sexual del virus durante contactos tanto heterosexuales como homosexuales, por lo que es de suma importancia el uso de condón (7).

El CMV se transmite de una persona a otra por medio de la saliva, las secreciones vaginales, la sangre, la orina, heces fecales y la leche materna. Se puede controlar la transmisión de CMV al lavarse las manos después del contacto con estos fluidos y evitar el contacto oral con saliva u objetos cubiertos con saliva (como tazas, chupetes, juguetes, etc.) (12).

En el caso de transplantes de tejidos y transfusión, es importante que en bancos de sangre se utilice la prueba de CMV de rutina para garantizar que está libre del virus (24).

Los recién nacidos necesitan protección contra las enfermedades citomegálicas y la inmunización materna puede permitir esta protección, ya que los recién nacidos que adquieren el CMV, ya sea por vía posnatal o transplacentaria, están protegidos contra la enfermedad si su madre adquirió anticuerpos antes del embarazo (28, 33).

El aborto terapéutico no es un método de control prudente, pues se desconoce si en las primeras 20 semanas el feto es vulnerable o no (33).

Finalmente, la única posibilidad de intervención es detectar a las mujeres que presentan infección primaria durante el embarazo. Muchas de ellas son asintomáticas y el médico sólo puede intervenir en los casos en que la madre acude a él por un síndrome de mononucleosis (28, 33).

Las medidas preventivas que deben tenerse en cuenta para el control de esta afección son: lavado de manos después de manipular pañales. Las personas que trabajan en salas de obstetricia y pediatría o en instituciones que atienden a preescolares, deben cumplir con las precauciones universales de higiene. Se debe tener control en el manejo de secreciones de enfermos hospitalizados y los artículos contaminados con éstas. Evitar la transfusión de sangre de donantes con seropositividad al virus citomegálico.

Debe evitarse el trasplante de órganos o tejidos de un donador seropositivo a CMV a un receptor seronegativo. Se debe tener un control del paciente mientras permanezcan en el hospital con excreción vírica, así como de los contactos, notificando a la autoridad de salud local la detección de estos casos (28, 33).

No ha sido posible prevenir las infecciones por CMV en personas seronegativas de riesgo (recién nacidos, receptores de injertos e inmunosuprimidos), con productos hematológicos y aloinjertos seronegativos para CMV (28, 33).

La infección de CMV en recién nacidos e inmunocomprometidos, puede evitarse estudiando la presencia de anticuerpos IgM contra CMV en componentes sanguíneos de donadores (34).

J. Epidemiología

En 1965, Tejada y col. realizaron el primer estudio sobre CMV en Guatemala, el cual consistió en la descripción de los primeros seis casos de niños con enfermedad citomegálica, quienes fallecieron (35).

En 1972, Mata y col. encontraron que 46.8% de los recién nacidos en el municipio Santa María Cauqué del departamento de Sacatepéquez, Guatemala, excretaban en orina CMV durante el primer año de vida (36).

En 1973, Beargie y Trent encontraron una prevalencia de 1.5%, en una población de recién nacidos sépticos del Hospital Roosevelt de Guatemala (37).

En 1977, Trent y col. investigaron a 47 niños del Hospital San Juan de Dios, quienes presentaban agentes de Toxoplasmosis, Rubéola, Citomegalovirus y Herpes (TORCH) encontrando en el sedimento urinario células con inclusiones

intracelulares. Posteriormente en el mismo año Cruz y col. estudiaron 109 niños del altiplano, de los cuales, el 23.4% excretaron CMV por vía urinaria en las primeras 12 semanas de vida y el 41% antes de las 26 semanas (37, 38).

En 1981, en un estudio llevado a cabo por Recinos durante los meses de enero a mayo en el Hospital General San Juan de Dios, se determinó que de 84 casos de neonatos, el 2% eran positivos para CMV IgM y 2.69% para IgG. Además se obtuvieron datos de 210 mujeres adultas, de las cuales 5% fue positivo para IgM y 25% para IgG (39).

En 1996, Polanco y col. realizaron un estudio en 182 mujeres embarazadas en la Universidad Autónoma de Yucatán en México, donde se encontró que el 1.6% de las mujeres tenía presencia de anticuerpos IgM contra CMV (40).

En 1998, Orya y col. estudiaron un total de 692 muestras de suero de mujeres en edad fértil, con edades comprendidas entre 15 a 45 años, en el Instituto de Salud Carlos III, comunidad de Madrid, estableciéndose una prevalencia de anticuerpos IgG contra CMV del 75.6% (523) (41).

En un estudio retrospectivo sobre la incidencia de infección perinatal por CMV en recién nacidos que ingresaron al servicio de neonatología del hospital La Fe, en Valencia, España durante los años de 1998 al 2000 se encontraron 24 niños con este diagnóstico. El porcentaje de transfusión y lactancia materna fue elevado (87 y 91% respectivamente), por lo que la fuente de contagio no pudo establecerse correctamente. Nueve de los niños (34%) presentaron afectación hepática y 3 (12%) tuvieron un cuadro clínico grave que precisó tratamiento antiviral (18).

En 2002, Juárez reportó una prevalencia del 22% de anticuerpos IgM para CMV y de 97% para IgG en donadores que asisten al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios (5).

En 2002, Kothari y col. realizaron un estudio en 5,600 donadores de sangre pertenecientes a la India, de los cuales, únicamente el 0.071% fue reactivo para anticuerpos IgM contra CMV (42).

En 2004, Monir y col. determinaron que la prevalencia de Anticuerpos IgM contra CMV en la población de 600 donadores que asistieron al Banco de Sangre de Kashan de la universidad de Medicina y Ciencia en Irán era del 2.3% (43).

En 2006, Arana determinó que la prevalencia de anticuerpos IgM para CMV en la población de donadores de sangre que asiste al Hospital de San Benito Petén fue de 8.55% (6).

En 2006, Godoy y col. estudiaron anticuerpos IgG e IgM contra CMV en 204 sueros de cordón umbilical de recién nacidos de partos normales a término en Venezuela. Se encontró que el 96% de las muestras eran reactivas para IgG y el 100% no reactivas para IgM (44).

En 2006, Adjei y col. realizaron un estudio en 264 donadores de sangre que asistieron la Hospital de Ghana en África occidental, de los cuales, ninguno fue reactivo para detectar anticuerpos IgM contra CMV (45).

En 2008, Gutiérrez y col. realizaron un estudio en 968 pacientes que asistían a la consulta externa en el Hospital Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" en la Ciudad de México, donde se encontró que el 85.23% (825) presentaba resultados positivos para anticuerpos IgG contra CMV, de los cuales el 57.21% correspondieron a mujeres y 42.79% hombres (46).

En 2008, Hernández y col. determinaron la prevalencia de anticuerpos IgM contra CMV en 200 donadores de sangre que asistieron en el Hospital San Juan

de Dios de Guatemala por la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín la cual fue de 1% (47).

En 2009, El Programa de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, realizaron un estudio a partir del mes de abril de año 2009 sobre anticuerpos IgM contra CMV en 86, 259 donadores que asistieron a los Bancos de Sangre a nivel Nacional, siendo reactivos 916 donadores con una prevalencia del 1.06%. Así mismo en el Hospital Nacional de Chiquimula se analizaron a 805 donadores para detectar anticuerpos IgM contra CMV, de los cuales 9 fueron reactivos, dando una prevalencia del 1.12% (48).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las consecuencias de la infección por el CMV son muy variadas y están determinadas por la situación inmunitaria del hospedador. Así, en las personas sanas, la infección por el CMV es casi siempre asintomática, mientras que en los pacientes inmunodeprimidos es una causa principal de morbilidad y hasta fechas recientes, de mortalidad (7).

La transfusión es una práctica frecuente, ya que el empleo de la sangre puede salvar la vida de un paciente. Sin embargo, ésta no está exenta de riesgos, de los cuales, la transmisión de infecciones es uno de los más importantes. A partir de la identificación de la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) por vía transfusional, a nivel mundial se han incrementado el número de medidas preventivas, para eliminar el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas por esta vía (24).

Aunque el reglamento del decreto No. 87-97, ley de Servicios de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre del Organismo Legislativo del Congreso de la República de Guatemala, el acuerdo gubernativo No. 75-2003, específicamente recomiendan en el capítulo III y artículo 13, que en casos especiales se realice un tamizaje de anticuerpos contra CMV, en el Hospital Nacional del departamento de Chiquimula, sólo se reportó un estudio sobre la prevalencia de anticuerpos IgM contra CMV en donadores que asisten a los bancos de sangre en el año 2009, encontrando una prevalencia de 1.12%, demostrando la necesidad de realizar este estudio (48).

Estudios realizados en Guatemala han demostrado que en donadores que asistieron al Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios de Guatemala en el 2003, poseen una prevalencia del 22% y en el Hospital de San Benito, Petén, en el 2006, una prevalencia de CMV del 8.55% (5, 6).

Los resultados que se aporten al Banco de Sangre de Oriente con este estudio, pueden ayudar en un futuro a la implementación de métodos sensibles y específicos para la detección de anticuerpos IgM contra CMV en las unidades de sangre y así reducir los riesgos de transmisión del virus que podrían existir actualmente al no realizar esta detección.

V. OBJETIVOS

A. Generales

Determinar la frecuencia de infección por citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre de Oriente del departamento de Chiquimula.

B. Específicos

1. Determinar la presencia de infección de citomegalovirus activo en los donadores de sangre que asistan al Banco de Sangre de Oriente.
2. Identificar por medio del cuestionario los factores de riesgo para la infección por Citomegalovirus en la población de estudio.

VI. HIPÓTESIS

No se incluye, por ser un estudio de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Donadores que asistieron al Banco de Sangre de Oriente en el Departamento de Chiquimula del mes de agosto del 2009 a febrero del 2010.

B. Muestra

Se evaluaron 276 donadores, los que fueron seleccionados por cuota, 12 a la semana, hasta llegar a tamaño de la muestra establecida.

a. Criterios de inclusión

Los donadores fueron seleccionados conforme a los requisitos y normas establecidas por el Reglamento de la Ley de Servicios de Medicina Transfusional y de Bancos de Sangre (49).

C. Recursos

a. Humanos

1. Investigador: Luis Edgardo Morales Solís
2. Asesor: Lic. Jorge Mario Hernández de León

b. Materiales, equipos y reactivos

1. Materiales

- Agua desmineralizada.
- Alcohol.
- Tintura de yodo incoloro.

- Algodón.
- Esparadrapo.
- Curitas.
- Hipoclorito de sodio al 4.72% (dilución 1:10).
- Jabón antiséptico.
- Descartador de puntas de pipeta.
- Gradillas.
- Liga.
- Guantes.
- Bata.
- Mascarilla.
- Jeringas para punción venosa de 5cc.
- Micropipetas de volumen variable.
- Papel absorbente.
- Puntas de pipeta para micropipetas de volumen variable.
- Recipiente descartador para punzocortantes.
- Tubos vacutainer sin anticoagulante.
- Viales de almacenamiento de 1.5 ml
- Probetas.
- Papel bond de 80 gramos.

2. Equipo

- Equipo automatizado de ELISA marca *BRIO*[®].
- Lector de ELISA marca Sirio S[®].
- Congelador y refrigerador.
- Computadora.
- Impresora.

3. Reactivos

- 3 Kit de 96 pruebas para CMV anti IgM, marca HUMAN®.

D. Procedimiento

a. Recolección de la muestra

Se recolectaron los sueros de los donadores que asistieron al Banco de Sangre de Oriente que cumplieron con los requisitos que exige la Ley de Servicios y Medicina Transfusional, de acuerdo al siguiente diagrama de flujo:

1. Se inició con la entrevista y el consentimiento informado de donación y realización del estudio (anexo 1 y 2).
2. Se evaluó el peso, temperatura y presión arterial.
3. Se realizó la extracción de 5 mL de sangre en un tubo sin anticoagulante para las pruebas respectivas.

b. Procedimiento de la muestra

1. Se identificó correctamente la muestra.
2. Se centrifugaron los tubos con sangre sin anticoagulante a 5,000 rpm por 5 minutos.
3. Se congelaron los sueros colocándolos en viales de almacenamiento debidamente identificados a -30°C, hasta el momento del análisis.

c. Prueba de inmunoensayo Enzimático (ELISA)

Se introdujo en el equipo *BRIO*® los pasos de la metodología del inserto para la realización automatizada de la prueba.

Se resume en los siguientes pasos:

- Se procedió a preparar el reactivo, sustratos (según instrucciones del inserto) y muestras.
- Las muestras y reactivos antes del uso se llevaron a temperatura ambiente.
- Se diluyó el suero de los pacientes 1:100 con el diluyente (DIL-M), se mezcló vigorosamente.
- Se Incubaron las muestras diluidas antes del uso por lo menos 5 minutos a una temperatura de 17 a 25°C.
- En el pozo 1 se designó como blanco y se agregó 100 µL del diluyente.
- En el pozo 2 y 3 se designó para control negativo (duplicado), se agregó 100 µL a cada pozo (sin diluir).
- En el pozo 4 y 5 se designó para control positivo (duplicado), se agregó 100 µL a cada pozo (sin diluir).
- Del pozo 6 en adelante se asignó para los sueros de los donadores, agregando 100 µL de suero previamente diluido.
- Se incubó 30 minutos a temperatura de 17 a 25 °C.
- Se aspiró el contenido de los pocillos y se llenó con 350 µL de solución de lavado previamente diluida 1:20 con agua desmineralizada. Este procedimiento se repitió 6 veces (por ser ensayo automatizado), entre cada lavado se dejó reposar 30 segundos.
- Se agregó 100 µL de conjugado (CON) listo para usar a cada pozo.
- Se incubó 30 minutos a temperatura de 17 a 25 °C.
- Se lavó 6 veces con 350 µL de solución de lavado como lo descrito anteriormente.
- Se agregó 100 µL de sustrato (SUS) listo para usar a cada pozo.
- Se incubó 15 minutos a temperatura de 17 a 25 °C.
- Se agregó 100 µL de solución de parada (STOP) a cada pozo.

- Se leyó cada pozo en un plazo no mayor de 30 minutos utilizando filtro dual de 450 nm y 630 nm en el lector de ELISA Sirio S[®].

Se realizó cálculos de controles y del punto de corte como sigue:

- Se sacó un promedio de la absorbancia de los controles negativos (MNC) y positivos (MPC).
- El punto de corte o Cut-off (COV) se calculó con la fórmula siguiente:

$$\text{COV} = \text{MNC} + 0.2 \times \text{MPC}$$

Se consideró válida la corrida si se cumplieron los siguientes criterios:

- Blanco en pozo 1 con una absorbancia < 0.150.
- $\text{MNC} \leq 0.250$
- $\text{MPC} \geq 0.400$

Los fabricantes reportan una especificidad y sensibilidad de 99.2% y 93.75% respectivamente.

d. Interpretación de resultados

Resultado de la absorbancia del suero del donador (AbsDON).

- $\text{AbsDON} \geq \text{COV} + 15\% = \text{Reactivo}$
- $\text{AbsDON} < \text{COV} - 15\% = \text{No reactivo}$

Nota: 15% arriba o abajo del valor calculado como punto de corte (COV).

- Los resultados reactivos o no reactivos se dieron a conocer a los donadores y se les informó en forma verbal y escrita que los resultados del Banco de Sangre de Oriente no tienen un papel diagnóstico y requieren información.
- A los donadores reactivos se les aconsejó que buscaran un médico de confianza para que les brindara asistencia clínica y tratamiento a criterio del mismo.
- La determinación de anticuerpos IgM por ELSA para CMV se realizó semanalmente hasta cumplir con el número de muestra establecido en este

estudio. Toda unidad de sangre que dio reactiva a CMV no se utilizó para transfusión y los resultados fueron confirmados por medio del equipo AXIM de Abbott.

- Se solicitó al donador reactivo a CMV que se presentara al Banco de Sangre de Oriente de Chiquimula para una nueva toma de muestra para repetir el análisis.

E. Diseño metodológico

a. Muestra

Se analizó 276 donadores por cuotas que asistieron al Banco de Sangre de Oriente del departamento de Chiquimula.

b. Análisis de resultados

Estudio descriptivo, se reportó la frecuencia de donadores reactivos a anticuerpos IgM contra citomegalovirus.

VIII. RESULTADOS

Se evaluó la frecuencia de anticuerpos específicos IgM contra CMV, en 276 donadores que asistieron al Banco de Sangre de Oriente en el departamento de Chiquimula durante el período de agosto de 2009 a febrero de 2010.

De los 276 donadores de sangre, 16% (45/276) pertenecieron al género femenino y 84% (231/276) al género masculino, siendo éste el de mayor representatividad (Tabla 1). Los donadores estuvieron comprendidos entre 18 a 54 años, con un promedio de 29 años y una desviación estándar de 8.89.

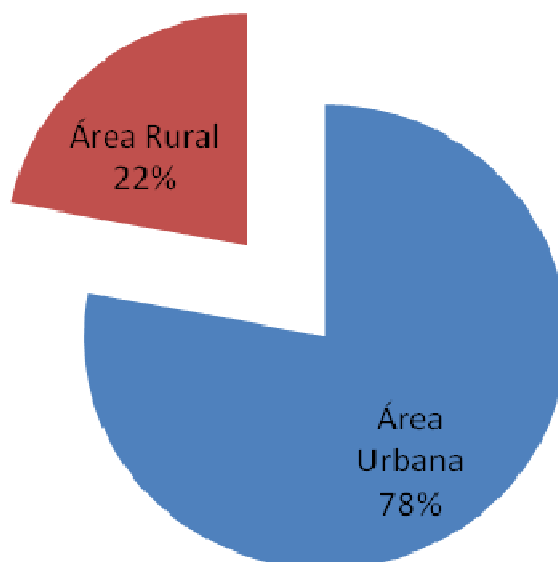
Tabla 1. Frecuencia de anticuerpos IgM en donadores de sangre según género.

Género	Muestras negativas	Muestras positivas	Total de muestras
Masculino	230	1	231 (84%)
Femenino	45	0	45 (16%)
Total	275 (99.64%)	0 (0.36%)	276 (100%)

Fuente: datos experimentales

El 78% (215/276) de los donadores procedían del área urbana, mientras que 22% (61/276) procedían del área rural del departamento de Chiquimula (Gráfica 2).

Gráfica 2: Distribución total de donadores de sangre por procedencia del área rural o urbana.



Fuente: datos experimentales

El 100% de los donadores cumplieron con los requisitos de la encuesta, eso incluye el no presentar factores de riesgo, sintomatología o historia clínica de alguna enfermedad o infección para poder ser aceptado como donador.

De los resultados obtenidos en los donadores de sangre, únicamente el 0.36% (1/276) resultó reactivo para anticuerpos IgM contra CMV el cual se confirmó posteriormente por metodología de quimioluminiscencia en el equipo ARCHITEC de Abbott resultando reactivo a CMV. El donador con serología reactiva pertenecía al género masculino con procedencia del área rural, mientras que 99.64% (275/276) fueron no reactivas (Tabla 1).

Durante la entrevista no se detectaron factores de riesgo para la infección por citomegalovirus en la población que asistió a donar al Banco de Sangre de Oriente en el departamento de Chiquimula.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de la presente investigación indican que la frecuencia de anticuerpos específicos IgM contra CMV en la población de donadores de sangre que asisten al Banco de Sangre de Oriente en el departamento de Chiquimula es de 0.36%, lo que demuestra una baja frecuencia de infección activa. Estos resultados son comparables con reportes de otros países con poblaciones de donadores de sangre con características socioeconómicas similares a Guatemala (47, 48).

Sin embargo, Juárez en el año 2003 reportó una prevalencia de anticuerpos IgM contra CMV del 22% en donadores de sangre que asistieron al Hospital General San Juan de Dios en la Ciudad de Guatemala y Arana en el año 2006 reportó una frecuencia de anticuerpos IgM contra CMV de 8.03% en donadores de sangre del Hospital Regional de San Benito Petén. Estos resultados no presentan una relación con lo encontrado en este estudio y otros realizados en países con nivel socioeconómico parecido al de Guatemala. Se debe de mencionar que la encuesta es muy importante para reducir la presencia de agentes infecciosos. Sin embargo, la población de estudio en este caso pertenecía en su mayoría al área urbana lo que disminuye factores de riesgo para CMV (5, 6).

Según el estudio realizado en el 2008 en el Hospital San Juan de Dios de Guatemala por la Facultad de Medicina de la Universidad Francisco Marroquín la prevalencia de anticuerpos IgM contra CMV era del 1%. Las muestras reactivas no fueron confirmadas (47).

El Programa de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre del Ministerio de Salud Pública reportó de abril a diciembre el 2009 una prevalencia de anticuerpos IgM contra CMV a nivel Nacional del 1.06% y en el Hospital Nacional de

Chiquimula del 1.12%, lo que tiene relación con lo encontrado en este estudio, donde se establece una baja frecuencia en infección activa (48).

Lamentablemente los estudios de CMV en la población de donadores en Guatemala son escasos para poder hacer una comparación más extensa, lo cual lleva a la necesidad de realizar investigaciones y poder justificar los datos establecidos con anterioridad.

En estudios realizados en otros países, Polanco en el año 1996 reporta una prevalencia del 1.6% en mujeres embarazadas en la Universidad Autónoma de Yucatán en México. En otro estudio se reportó el 100% no reactivo a anticuerpos IgM contra CMV de sueros de cordón umbilical de recién nacidos en el Departamento de Obstetricia y Ginecología Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Bolívar Universidad de Oriente en Venezuela en el año 2007. Un estudio reportó una prevalencia de 2.3% en donadores que asistieron al Banco de Sangre de Kashan de la Universidad de Medicina y Ciencia en Irán en el año 2004. En otro estudio ningún donador de sangre presentó reactividad a anticuerpos IgM contra CMV en el Hospital de Ghana, África Occidental. En India únicamente el 0.071% de los donadores de sangre fueron reactivos a anticuerpos IgM contra CMV. Por lo anterior se puede mencionar que hay una relación con los resultados encontrados en la presente investigación y una probable similitud socioeconómica de la población con respecto a las presentadas en Guatemala, aunque el estudio es realizado en poblaciones diferentes se puede ver claramente una similitud en los resultados en cada una de las poblaciones estudiadas lo que nos lleva a una baja frecuencia de infección activa (40, 42-45, 47).

El único donador reactivo a anticuerpos IgM contra CMV pertenecía al género masculino procedente del área rural, que concuerda con las características epidemiológicas del virus, cuya transmisión se da más fácilmente en la población con condiciones económicas e higiénicas desfavorables (7).

Se informó al donador de sangre sobre el resultado de CMV reactivo para que realizara la respectiva visita médica para su tratamiento o instrucciones que el médico considera pertinente. Así como para la obtención de una nueva muestra para confirmar y repetir las pruebas correspondientes para detectar anticuerpos IgM contra CMV. El paciente se presentó veinte días después de la primera toma de muestra, en esta ocasión ya no se encontró presencia de anticuerpos IgM contra CMV siendo confirmado por metodología de quimioluminiscencia en el equipo ARCHITEC de Abbott. En esta ocasión el resultado fue negativo posiblemente debido la disminución de producción de anticuerpos IgM ya que se desconocía el tiempo inmunológico presente en el donante o bien pudo deberse a un falso positivo (19).

Según los resultados obtenidos en el presente estudio y comparados con otros, la detección de anticuerpos IgM es baja, por lo que la implementación de métodos sensibles y específicos para la detección de anticuerpos IgM contra CMV puede aumentar el costo de los componentes sanguíneos (7).

X. CONCLUSIONES

1. La frecuencia de anticuerpos IgM para CMV en la población de donadores de sangre que asistieron al Banco de Sangre de Oriente en el departamento de Chiquimula fue de 0.36%.
2. La única muestra reactiva para anticuerpos IgM contra CMV en el Banco de Sangre de Oriente del departamento de Chiquimula fue del género masculino procedente del área rural la cual fue posteriormente confirmada resultando no reactiva a la infección por CMV.
3. No se alcanzó el objetivo de Identificar factores de riesgo debido a que sólo hubo un caso reactivo para la infección por Citomegalovirus en la población de estudio.

XI. RECOMENDACIONES

1. Promover la donación de sangre voluntaria para reducir la participación de personas remuneradas lo que representa un riesgo elevado de transmisión de agentes infecciosos.
2. Realizar las encuestas eficientemente para disminuir la presencia de unidades reactivas a agentes infecciosos.
3. Difundir entre los bancos de sangre del país los resultados de este estudio para que con ello se determine si es o no recomendable la implementación de la prueba para CMV.

XII. REFERENCIAS

1. Romero C. Microbiología y parasitología humana. 2 ed. México: Médica Panamericana, 1999p. (p. 147-150).
2. Braunwald E. *et al.* Principios de Medicina Interna. 15 ed. Agud JL, Trad. México: McGraw-Hill, Vols, 2, Vol. 1, 2002, 2060p. (p.1311-1315).
3. Adjei A. *et al.* Seroprevalence of Cytomegalovirus among some voluntary blood donors at the 37 military hospital, Accra, Ghana. Med J 2006; 40(3): 99–104.
4. Atul K. *et al.* Seroprevalence of Cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. J Health Popul Nutr 2002; 20(4):348-351.
5. Juárez I. Prevalencia de infección por citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2003. 57p. (p. 38).
6. Arana R. Prevalencia de infección por citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre del Hospital de San Benito, Petén. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2006. 63p. (p. 35 y 38).
7. Ruiz V. *et al.* Tratado de SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. España: Panamericana. 2006. 2067p. (p. 747-757).
8. Krugman K. *et al.* Enfermedades Infecciosas. 8 ed. España: Editorial Interamericana Mc-Graw-Hill. 1998. 1099p. (p. 926-929).
9. Fumarola A. *et al.* Microbiología y Parasitología Médica. 2 ed. España: Editorial Masson S.A. 1998. 1895p. (p. 8-19).

10. Horsfall J. *et al.* Viral and Rickettsial infections of man. 4 ed. Philadelphia Toronto: Editorial J. B. Lippincott Company. 1995. 544p. (p. 632-633).
11. Griffiths P. Cytomegalovirus. Principles and practice. Clinical Virology. 4 ed. Jhon Wiley & Sons Ltd, 2000. 912p. (p. 97-116).
12. Kumar V., Abbas A., Fausto N. Patología estructural y funcional de Robbins y Contran. 7 ed. España. Editorial Elsevier S.A. 2006. 1750p. (p. 371 y 372).
13. Murray P. *et al.* Microbiología Médica. 5 ed. España: Elsevier S.A. 2006. 963p. (p. 558-563).
14. Forbes B., Sahm D., Weissfeld A. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. 11 ed. Rondinone S, Trad. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 2004. 1115p. (p. 843).
15. Nester E. *et al.* Microbiología humana. 5 ed. México: Editorial Manual Moderno. 2007. 1902p. (p. 846-848).
16. Murray P *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 6 ed. Washinton D.C: editorial ASM Press. 1995. 1687p. (p. 884-890).
17. Artagnan J. *et al.* Las citocinas en la patogénesis por citomegalovirus. Rev Biomed 2000; 11:293-300.
18. Pérez A. *et al.* Infección perinatal por Citomegalovirus en recién nacidos pretérmino. Pediatría 2002; 57:205-208.
19. Parslow T. *et al.* Inmunología básica y clínica. 10.ed. Rebtet GA, Trad. México. El Manual Moderno. 2002. p.917 (p. 158-160, 167-184).

20. Levinson W. Microbiología e Inmunológica Médica. España: Editorial McGraw-Hill. 2004. 662p. (p.363-366).
21. Ramshaw I. *et al.* Cytokines and immunity to viral infection . *Inmunol Rev* 1997; 159:119-135.
22. Cousens L. *et al.* Early cytokine responses to viral infections and their roles in shaping endogenous cellular immunity. In *Mechanisms of lymphocyte activation and immunoregulation VII*. Plenum Press, New York; 1998; 15: 452p. (p. 143-149).
23. Arai K. *et al.* Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 783-786.
24. Figueroa R. El riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas por vía de la transfusión. *Ginecol Obstet Mex* 1998; 66 (7): 277-283.
25. Takanaka K. *et al.* The role of the host's immune system in pathogenesis of cytomegalovirus-associated disease. *Nippon Rinsho* 1998; 56:97-100.
26. Alberola J. *et al.* Antibody response to human cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B in AIDS patients with CMV end-organ disease. *J Med Virol* 1998; 55:272-280.
27. Lazzarotto T. *et al.* Development of a new cytomegalovirus (CMV) immunoglobulin M (IgM) immunoblot for detection of CMV-specific IgM. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3337-3341.
28. Martínez A. *et al.* Infecciones por citomegalovirus. *Rev Cub Med Gen Integr* 1999; 14: 66-68.
29. Rayan K., Ray G. Microbiología médica de Sherris. 4 ed. México: McGraw-Hill. 2004. 1051p. (p. 618-622).

30. Papadakis M. Mcphee S. Medicina Clínica. Consulta Rápida. González JL. Trad. México. McGraw-Hill. 2006.1414p (p. 1089).
31. Velasco A. Farmacología fundamental. España. McGraw-Hill. 2003. p. 1225 (p. 662-663).
32. Ferri F. *et al.* Consultor Clínico-Diagnóstico y tratamiento en medicina interna. España: Harcourt/Océano, 2005. p.360 (p162-163).
33. Revello M., Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. Clin Microbiol Rev 2002; 15:680-683.
34. Meijer E., Boland G., Verdonck LF. Prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogenic stem cell transplant. Clin Microbiol Rev 2003; 16:647-649.
35. Gutiérrez J. *et al.* Estudio de la seroprevalencia de la infección por citomegalovirus a través de la concentración sérica de IgG en un hospital de tercer nivel. Rev Mex Patol Clin 2008; 44:175-186.
36. Mata L. *et al.* Citomegaloviruria durante el primer año de vida: estudio prospectivo en una población indígena de Guatemala. Bol. San. Pan. 1972; 83: 218.
37. Trent F. *et al.* Prevalencia de infecciones citomegálicas. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1977. 50p. (p. 23).
38. Cruz J., Urrutia J. Citomegalovirus durante el primer año de vida.: Estudio prospectivo en una población indígena de Guatemala. Bol Of San Pan 1977; 83: 218-220.

39. Recinos SA. Investigación de anticuerpos a citomegalovirus por un método inmunoenzimático en niños menores de tres años de edad y búsqueda complementaria de otros agentes del síndrome de TORCH. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1982. 44p. (p. 35).
40. Polanco G. Prevalencia de infección por citomegalovirus en mujeres embarazadas del estado de Yucatán, México. *Rev Biomed* 1996; 7:127-131.
41. Orya F. *et al.* Estudio seroepidemiológico frente a citomegalovirus en mujeres en edad fértil de la Comunidad de Madrid. *Med Clin* 1998; 111: 286-287.
42. Kothari A. *et al.* Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr* 2002; 20:348-351.
43. Moniri R., Mosayebii Z., Mossavi GA. Seroprevalence of cytomegalovirus, hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus antibodies among volunteer blood donors Iranian. *Iranian J Publ Health* 2004; 4:38-42.
44. Godoy G. *et al.* Anticuerpos anti-citomegalovirus en sangre del cordón umbilical de recién nacidos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2007; 27:85-89.
45. Adjei A., Armah H., Narter-Olaga E. Seroprevalence of cytomegalovirus among some voluntary blood donors at the 37 military hospital, Accra, Ghana. *Ghana Med J* 2006; 40:99-104.
46. Tejada C. *et al.* Enfermedad de inclusión citomegálica: estudio clínico patológico de los seis primeros casos observados en Guatemala. *Rev Med Guate* 1965; 16:11-22.

47. Hernández JC., Almengor S., Del Valle G. Citomegalovirus en donadores de sangre. Universidad Francisco Marroquín. Revista de la Facultad de Medicina. 2009; 9:7 y 8.

48. Programa de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre. Prevalencia de Anticuerpos IgM contra CMV en Guatemala y Chiquimula. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud. 2010.

49. Organismo Legislativo. Congreso de la República de Guatemala. Decreto Numero 87-97. Reglamento de la Ley de Servicios de Medicina Transfusional y de Bancos de Sangre. Acuerdo Gubernativo 75-2003. Capítulo III, artículo 13.