

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE TECNOLOGÍA MÉDICA

“Frecuencia de Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara , periodo Febrero – Junio 2013”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en
Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico
y Anatomía Patológica

AUTOR

Selene Adelis Bautista Salas

Lima – Perú

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)

Bautista Salas Selene Adelis

Tesis presentada a la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la Obtención del Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica.

Área:

Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

**Este trabajo fue realizado en el
Servicio de Medicina Transfusional y
Banco de Sangre del Centro Médico Naval
Cirujano Mayor Santiago Távara.**

*A mis padres,
por su constante guía y apoyo;
A mi hermano,
por su apoyo incondicional.*

Agradecimientos

A la *Lic. Tecnólogo Médico Pilar Alva Betalleluz*, Jefa del Laboratorio de Hematología, Bioquímica y Uroanálisis del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” por su amistad, confianza y valiosa orientación que amablemente me supo brindar durante todo el desarrollo de este trabajo, muy agradecida.

Al *Lic. Tecnólogo Médico Eduardo Cornejo Ruiz*, por su amistad, confianza y valiosa cooperación que amablemente me supo brindar en todas las etapas de este trabajo, muy agradecida.

Al *Dr. Mario Ortiz Mondragón*, al *Lic. Tecnólogo Médico Cristian Otoya Torrejón*, al *Tec. Enf. Eloy Cárdenas Quinto* y a todo el personal del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara por su amistad, confianza y valiosa cooperación que amablemente me supieron brindar en este trabajo, muy agradecida.

A mi amigo: *Michael Rivas* por su valiosa amistad y constante apoyo.

A mis amigas: *Violeta Cabrejo* e *Ingrid Torres* por su valiosa amistad y constante apoyo.

Finalmente quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna forma colaboraron en la realización de ésta investigación y que sin su ayuda no hubiera sido posible la culminación de la misma.

INDICE

	Pág
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
1.1. Antecedentes	9
1.2. Generalidades	10
1.2.1. Patogenia e inmunidad	11
1.2.2. Transmisión	15
1.2.3. Manifestaciones Clínicas	15
1.2.4. Riesgos de productos sanguíneos específicos	19
1.2.5. Diagnóstico de laboratorio	20
OBJETIVOS	26
MÉTODOS	27
RESULTADOS	31
DISCUSION	41
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45
ANEXOS	49

RESUMEN

Se realizó un estudio prospectivo cuyo objetivo general fue determinar la frecuencia de anticuerpos de clase IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora, durante el periodo Febrero - Junio del año 2013.

La población de estudio estuvo conformada por 271 personas (221 varones y 50 mujeres) con un rango de edad entre 18 y 60 años, las cuales fueron calificadas como donantes aptos de acuerdo a los requisitos y normas técnicas que exige el Reglamento del PRONAHEBAS (Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre). La detección de anticuerpos se realizó mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) tipo sándwich.

La frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en la población de donantes de sangre que asistió al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora fue de 0.7%.

Se concluye que existe una baja frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre, sin embargo se debe evaluar la implementación de la detección de anticuerpos contra Citomegalovirus como marcador serológico obligatorio para tamizaje de unidades de sangre y derivados en los Bancos de Sangre del país a fin de prevenir una infección post - transfusional a causa de este virus, primordialmente en pacientes inmunocomprometidos.

Palabras Clave: Citomegalovirus, donantes de sangre, serología, ELISA, infecciones post- transfusionales.

INTRODUCCIÓN

El Citomegalovirus es un virus de la familia *Herpesviridae* que puede producir daño celular en diversos tejidos y posee capacidad para mantenerse en estado latente, por lo que se encuentra asociado a infecciones recurrentes ⁽¹⁾.

La infección que produce el Citomegalovirus es una de las infecciones virales más difundidas en todo el mundo que puede afectar al ser humano desde su nacimiento ⁽²⁾.

Esta infección requiere el contacto directo con el virus, que se excreta en diferentes fluidos biológicos tales como sangre, saliva, secreciones respiratorias y genitales, orina, etc. La transmisión del virus se produce a través de las mucosas oral, respiratoria y genital; por la vía parenteral, mediante la sangre, derivados sanguíneos y órganos trasplantados y por último, verticalmente, de la madre al neonato ^(3,4,5).

La enfermedad causada por Citomegalovirus establece una complicación seria y grave en pacientes inmunocomprometidos o inmunosuprimidos (trasplantados, 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 Citomegalovirus que se producen en el total de la población inmunocompetente, serán asintomáticas o con manifestaciones muy inespecíficas ^(6,7).

La transmisión de infecciones por vía transfusional (sangre y derivados plasmáticos) es un riesgo de gran importancia en relación con la morbilidad en receptores de sangre. La presencia de agentes infecciosos,

entre ellos Citomegalovirus, es frecuente en países en vías de desarrollo. Por esta razón, la detección de anticuerpos de este virus debería ser obligatoria, para hacer de la transfusión sanguínea un procedimiento más seguro ^(8,9).

1.1. ANTECEDENTES

Estudios serológicos en Guatemala, en el año 2002 realizados por Juárez I. sobre la prevalencia de Citomegalovirus en donantes de sangre demostraron una prevalencia de 22% y 97% para anticuerpos IgM e IgG respectivamente ⁽¹⁰⁾.

En el 2006, en San Benito Petén (Guatemala), Arana R. demostró que la prevalencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus fue de 8.55% en 117 donantes; donde el género con mayor índice de reactividad (95.7%) fue el masculino, con un rango de edades de 18 a 44 años. La detección de anticuerpos IgM anti Citomegalovirus se hizo mediante la técnica de enzimoimmunoensayo ⁽¹¹⁾.

En el 2008, Prera J. *et al* determinó la presencia de IgM e IgG contra Citomegalovirus en 200 donantes de la ciudad de Guatemala, encontrando que solo el 1% resultó reactivo para anticuerpos IgM contra Citomegalovirus, asimismo el 97% fueron positivos para anticuerpos IgG, mientras que el 2% obtuvieron valores que se encontraron en zona gris ⁽¹²⁾.

En el 2010, Morales L. en Chiquimula (Guatemala) encontró que la frecuencia para anticuerpos IgM contra Citomegalovirus fue de 0.36% en una población de 276 donadores de sangre entre las edades de 18 a 54 años, donde el 84% de los donantes eran del género masculino ⁽¹³⁾.

En Brasil, Souza M. *et al* en el año 2010 estudió la frecuencia de anticuerpos contra Citomegalovirus en 1045 donantes de sangre, obteniendo como resultado un 2.3% de reactividad para anticuerpos IgM contra Citomegalovirus y un 96.4% para anticuerpos IgG ⁽¹⁴⁾.

En Perú en el año 2000, Suasnabar J. realizó un estudio de prevalencia en el Instituto de Salud del Niño, detectándose anticuerpos IgM e IgG contra Citomegalovirus mediante un enzimoimmunoensayo (EIA) en una población de 222 donantes de sangre, para lo cual se obtuvo que un 13.51% era positivo para IgM contra Citomegalovirus, un 85.14% para IgG y la seroprevalencia total fue de 89.64% para Citomegalovirus ⁽¹⁵⁾.

1.2. GENERALIDADES

El Citomegalovirus (CMV) denominado también herpesvirus humano tipo 5, pertenece a la subfamilia *Betaherpesvirinae*, de la familia *Herpesviridae* y se considera un patógeno linfótrofo. Su nombre proviene del efecto citopático típico de las células que infecta: un agrandamiento celular con presencia de inclusiones nucleares basófilas y también citoplasmáticas. ⁽¹⁾

El Citomegalovirus 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 a fuera 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.
- Envoltura derivada de la membrana nuclear de la célula hospedadora, en cuya parte externa están ancladas unas proyecciones espiculares de codificación vírica y naturaleza glucoproteica ^(16,17).

Como en todos los miembros de la familia herpesvirus, la capacidad de latencia es la característica biológica más destacada del Citomegalovirus, pero, a diferencia de los demás, el espectro de tipos celulares en los que lleva a cabo este proceso es muy amplio. El CMV es uno de los agentes virales 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 minutos), y ciclos de congelación y descongelación ^(18,19).

1.2.1. Patogenia e Inmunidad

1.2.1.1. Patogenia

La patogenia del Citomegalovirus es muy similar en muchos aspectos a la de otros herpesvirus. 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 ⁽¹⁷⁾.

Desde el punto de vista patogénico, existen tres estados : 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 el sistema inmunitario del hospedero ⁽²⁰⁾.

La infección por CMV en personas inmunosuprimidas como los neonatos, los pacientes con cáncer, los receptores de un transplante de órganos tratados con inmunosupresores y personas infectadas con VIH y que han desarrollado la fase de SIDA, causa varias enfermedades inflamatorias tales como encefalitis, 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 ⁽¹⁸⁾.

1.2.1.1.1. Infección primaria

Las infecciones primarias por Citomegalovirus son benignas para la mayoría de los adultos pero si ocurre durante el embarazo, el virus puede ser transmitido al feto dando 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 ^(16,17).

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. Dos terceras partes presentan petequias, ictericia y hepatoesplenomegalia ⁽¹⁸⁾.

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 se desarrolla pérdida auditiva y deterioro neurológico ⁽²⁰⁾.

La coriorretinitis 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 ⁽¹⁾.

1.2.1.1.2. Reinfeción o activación secundaria

Es el caso del huésped con experiencia inmunitaria expuesto a agentes de infección trae como consecuencia reactivación de infecciones latentes las cuales pueden ser causadas por mecanismos patológicos o fisiológicos. El embarazo, enfermedades debilitantes, la administración de drogas inmunosupresoras y las intervenciones quirúrgicas pueden activar una infección latente ⁽¹⁷⁾.

El Citomegalovirus tiene la capacidad de diseminarse de célula a célula en presencia de niveles elevados de anticuerpos debido a la peculiar característica de los herpesvirus de infectar células y fusionarse posteriormente. Tras la infección primaria el virus permanece en estado de latencia por mecanismos aún no esclarecidos aunque 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 Citomegalovirus es su capacidad de reactivarse en condiciones de inmunodepresión posiblemente por estimulación alogénica ⁽²⁰⁾.

El riesgo de una reinfección en pacientes seropositivos es común aunque su detección es muy difícil porque requiere de análisis de ácido desoxirribonucleico (ADN). Estudios en pacientes que fueron sometidos a trasplante de médula ósea y de transfusiones sanguíneas demuestran que cerca de un 80% padece de infecciones latentes, aunque sea difícil de apreciar clínicamente ⁽¹⁾.

1.2.1.2. Inmunidad

Como respuesta a la infección primaria se producen anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA que, por sí mismos, no confieren protección contra el 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) ⁽²⁰⁾.

Los anticuerpos de clase 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 ⁽²¹⁾.

La infección primaria por Citomegalovirus 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 ⁽²¹⁾.

La infección por CMV también produce un deterioro general de la inmunidad celular, caracterizada 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 ⁽²¹⁾.

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 ⁽²²⁾.

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. Las citocinas también 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 ⁽¹⁸⁾.

Las infecciones por 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.

La reactivación del virus latente se produce cuando el sistema inmunitario del hospedero 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 Citomegalovirus 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 ⁽²⁰⁾.

1.2.2. Transmisión

El Citomegalovirus 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), por 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 ⁽¹⁾.

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 ⁽¹⁾.

1.2.3. Manifestaciones clínicas

Las consecuencias de la infección por el Citomegalovirus son muy variadas y están determinadas por la situación inmunitaria del hospedero. 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 ⁽²⁰⁾.

1.2.3.1 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 frecuente. Aunque inespecíficas y de escasa identidad, se presenta aumento de las transaminasas, trombocitopenia y anemia ⁽²⁰⁾.

La mayoría de los pacientes mejoran 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, trombocitopenia extrema, neumonía y anemia hemolítica ⁽¹⁷⁾.

1.2.3.2 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 trombocitopenia 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 ⁽¹⁷⁾.

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 ⁽²⁰⁾.

1.2.3.3 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 ⁽¹¹⁾.

En el 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 ⁽¹³⁾.

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 ⁽¹³⁾.

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 ⁽¹¹⁾.

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 ⁽¹³⁾.

1.2.3.4 Pacientes con SIDA

La retinitis por CMV es la infección intraocular oportunista que más afecta a este tipo de pacientes; y es la primera causa de ceguera, a pesar del diagnóstico y tratamiento precoz, está asociada a valores de linfocitos TCD4+ < 50 cel/ml. Es la forma de presentación más frecuente de la reactivación del CMV en SIDA (85%) ⁽²³⁾.

La afectación digestiva es la segunda en frecuencia después de la retinitis (10%) pudiéndose afectar cualquier porción del tracto digestivo, desde la boca y el esófago hasta el recto. La colitis es la forma más frecuente de afectación del tubo digestivo, siendo la clínica de dolor abdominal y diarrea (en ocasiones con sangre), junto con fiebre, disminución de peso y anorexia. El abdomen agudo por perforación (la complicación más peligrosa) es infrecuente así como el megacolon tóxico que se observa en los estadios finales del SIDA ⁽²⁴⁾.

El compromiso del SNC, hepático, pulmonar y otras localizaciones se observan con menor frecuencia (5%). Las polirradiculopatías es la manifestación más frecuente del compromiso del sistema nervioso central, que se manifiesta por dolor

lumbar, parálisis flácida progresiva (debilidad ascendente de las extremidades, pérdida de los reflejos y del control vesical y rectal). Con LCR con pleocitosis, PMN, proteinorraquia e hipoglucorraquia. Además se puede manifestar como Mononeuritis múltiple, Neuropatía multifocal, Neuropatía periférica dolorosa, Encefalitis, y asociado al Complejo demencia-SIDA ⁽²⁵⁾.

1.2.4. Riesgo de productos sanguíneos específicos

Sabemos que los leucocitos son el vehículo de la transmisión de la infección por Citomegalovirus pero el mecanismo específico de transmisión permanece confuso ⁽²⁶⁾.

La transfusión sanguínea es una práctica muy 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 ⁽¹¹⁾.

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 ⁽²⁷⁾.

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 Citomegalovirus, representan el mayor riesgo de transmisión ⁽¹³⁾.

Otros hemoderivados como el plasma fresco congelado, el crioprecipitado, etc. no transmiten la infección probablemente porque contienen un número reducido de leucocitos ⁽²⁸⁾.

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 ⁽²⁸⁾.

1.2.5. Diagnóstico de laboratorio

Las características biológicas, la patogenia y la evolución natural de las infecciones por Citomegalovirus condicionan poderosamente el diagnóstico de laboratorio. Existen numerosas pruebas cuya aplicación dependerá de las distintas situaciones y objetivos que se persigan ⁽²⁰⁾.

a. Métodos directos

Históricamente, los primeros métodos o técnicas diagnósticas en aplicarse fueron los directos, de observación histopatológica con tinciones convencionales. Las tinciones convencionales (hematoxilina-eosina, Papanicolau, etc.) pueden aplicarse al diagnóstico del CMV en muestras de tejidos (pulmón, cerebro, hígado, biopsias de tubo digestivo, etc.), así como las preparaciones procedentes de lavados broncoalveolares. En estos casos, es posible observar la presencia de las típicas células citomegálicas con inclusiones intranucleares basófilas de cromatina vírica rodeadas de un halo que margina la cromatina celular al borde de la membrana nuclear (imagen en “ojo de búho”). En manos de patólogos con experiencia, estas imágenes son patognomónicas de afectación tisular por el CMV aunque, siendo estrictos, también podrían confundirse con infecciones por otros virus, especialmente adenovirus. El mayor problema de estas técnicas es su falta de sensibilidad. La aplicación de tinciones inmunoenzimáticas con anticuerpos monoclonales mejora la especificidad, pero no significativamente la sensibilidad. Estos métodos se han aplicado con éxito al diagnóstico de la neumonitis en

pacientes de alto riesgo, sobre muestras de lavados broncoalveolares y, en especial, al diagnóstico de la enfermedad focal por CMV en pacientes inmunodeprimidos, en biopsias del tejido afecto, constituyendo en estos casos el método de referencia ⁽²⁹⁾.

El efecto citopático producido por el Citomegalovirus 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 ⁽²⁰⁾.

El cultivo celular es el método de referencia por su especificidad. No son muchos los sustratos celulares que soportan el crecimiento del Citomegalovirus, 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 ⁽³⁰⁾.

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 no óptimo 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 ⁽³¹⁾.

b. Métodos indirectos

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. 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 ⁽²¹⁾.

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) ⁽³⁰⁾.

La aglutinación con partículas de látex sensibilizadas con antígeno de Citomegalovirus, 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 ⁽²⁹⁾.

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 ⁽³⁰⁾.

El método de Western Blot incluye 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%) ⁽³⁰⁾.

c. Métodos moleculares

El valor predictivo de las pruebas para la infección sintomática mejoró radicalmente con la introducción del concepto de carga viral del citomegalovirus. 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 ⁽²⁰⁾.

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 viral, 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 ⁽³⁰⁾.

Técnicas convencionales aplicables al diagnóstico de la infección y enfermedad por el CMV.

Técnica	Ventajas	Inconvenientes	Aplicación
Diagnóstico serológico			
Fijación de complemento	Ninguna	Laboriosa. Insuficiente sensibilidad	No se recomienda hoy.
Enzimoimmunoanálisis (EIA)	Metodología familiar Disponibilidad comercial Sensibilidad Detecta IgG e IgM Procesamiento en lotes	Controlar la eficiencia de los reactivos comerciales Poco flexible	Determinación del estado inmune Soporte de algunos diagnósticos clínicos
Aglutinación con látex	Elevada sensibilidad Sencillez, flexibilidad	Interpretación subjetiva Fenómeno prozona Ausencia de marca CE	Cribado rápido de donantes de órganos Susceptibilidad a la infección
Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	Sensibilidad Detecta IgG e IgM Flexibilidad	Inespecificidad en la detección de IgG	Superada por pruebas de EIA.
Prueba de fluorescencia anticomplemento (ACIF)	Sensibilidad	Laboriosidad Experiencia técnica Sólo detecta IgG	Sólo en centros de referencia
Histopatología	Habituales en laboratorios Correlación con afectación focal	Sensibilidad insuficiente	Referencia diagnóstica de afectación focal
Detección de antígeno			
Antigenemia pp65 (leucocitaria)	Sensibilidad Especificidad Rapidez y familiaridad técnica Marcador de carga viral	Difícil estandarización Interpretación de los resultados dependiente de experiencia propia	Diagnóstico de enfermedad en transplantados y otros inmunodeprimidos (SIDA) Marcador de profilaxis guiada
En otras muestras	Detección <i>in situ</i> Especificidad	Sensibilidad variable Experiencia	Neumonitis en lavado broncoalveolar Inmunohistoquímica
Métodos de cultivo			
Cultivo en tubo	Especificidad	Experiencia en cultivos Sensibilidad insuficiente Tardanza de resultados	Confirmación de casos atípicos Punto de partida para los estudios de sensibilidad a los antiviricos
Cultivo <i>shell vial</i>	Rapidez Sensibilidad, especificidad	Experiencia en cultivos Experiencia en la técnica	Seguimiento de transplantados Diagnóstico rápido diferencial

Fuente: Gimeno C, Navarro D, de Oña M, y Pérez J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por herpesvirus. En: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 8 ed. España. 2005.

Resumen de las principales características de las técnicas moleculares aplicables al diagnóstico del CMV^a

Técnica	Sensibilidad analítica	Ventajas	Inconvenientes	Aplicación
Métodos cualitativos				
PCR desarrollo propio	Simple: 10 ³ copias Anidada: 10-10 ² copias	Elevada sensibilidad	Ausencia de estandarización. Bajo valor predictivo de ECMV (no aplicable a seguimiento de pacientes de riesgo)	Diagnóstico de la afectación del SNC Diagnóstico prenatal de la infección congénita
Nucisens pp67	700 copias ARN	Asociación con ECMV	No cuantitativo. Instrumental específico. Poca experiencia clínica Precio	Seguimiento de pacientes de riesgo
Amplicor® CMV	1000 copias/ml plasma	Escasas	Sensibilidad insuficiente como procedimiento cualitativo	Superada por procedimiento cuantitativo (Amplicor® CMV Monitor)
Métodos cuantitativos				
Digene Hybrid Capture (captura del híbrido)	700 copias/ml sangre	Sencillez del proceso	Muchos controles/muestra Poca experiencia clínica Precio	Seguimiento de pacientes de riesgo
Quantiplex® CMV ADN ramificado	900 copias/10 ⁶ PMN	Alta reproducibilidad	Requiere partir de 2x10 ⁶ PMN Instrumental específico Trabajo en lotes grandes	No se ha llegado a comercializar
Amplicor® Monitor	400 copias/ml plasma 400 copias/5x10 ⁶ PMN.	Elevada sensibilidad	Instrumental específico Impacto de controles y estándares Precio	Seguimiento de pacientes de riesgo

^aAbreviaturas. ECMV: enfermedad por CMV; PMN: leucocitos polimorfonucleares

Fuente: Gimeno C, Navarro D, de Oña M, y Pérez J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por herpesvirus. En: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 8 ed. España. 2005.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Determinar la frecuencia de Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora, periodo Febrero - Junio del 2013.

2. Objetivos específicos

- Clasificar la frecuencia de acuerdo a las características socio-demográficas de donantes de sangre con Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en el periodo Febrero - Junio del 2013.
- Determinar la frecuencia de donantes de sangre con Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en el periodo Febrero - Junio del 2013 según edad.
- Determinar la frecuencia de donantes de sangre con Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en el periodo Febrero - Junio del 2013 según sexo.

MÉTODOS

DISEÑO

El estudio fue de tipo observacional, descriptivo, prospectivo y transversal.

POBLACIÓN

Donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval “Cirujano Mayor Santiago Távora”.

MUESTRA

271 sueros de donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora durante el periodo de Febrero - Junio del 2013.

MUESTREO

Muestreo Probabilístico Aleatorio Simple

VARIABLE

Frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus

TECNICAS E INSTRUMENTOS

Técnicas

- ✓ Entrevista
- ✓ Inmunoensayo enzimático (ELISA)

Instrumentos

- ✓ Cuestionario (Ficha del donante)
- ✓ Ficha de recolección de datos

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ✓ Haber sido aceptado como APTO en la Entrevista de Selección de Donante.
- ✓ Ser varón o mujer de 18 a 55 años.
- ✓ Tener hematocrito mayor al 40% en varones y en mujeres.
- ✓ Tener un peso mayor a 55kg en mujeres y 60kg en varones.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- ✓ No haber sido aceptado como APTO en la Entrevista de Selección de Donante.
- ✓ Estar gestando o en periodo menstrual en el caso de mujeres.
- ✓ Haber tenido contacto sexual con trabajadoras sexuales, homosexuales, o de algún otro grupo de riesgo.
- ✓ Haber donado sangre total en los últimos 3 meses.

PLAN DE PROCEDIMIENTOS

El presente estudio se realizó con las muestras de sueros que se obtuvieron de los donantes de sangre que acudieron al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Cirujano Mayor Santiago Távora durante el periodo de Febrero - Junio del 2013, de acuerdo al plan de procedimientos establecido. Ver anexo 1.

1. Entrevista y calificación al donante

En la entrevista al donante, se aplicó la encuesta “Selección del Postulante a Donación de Sangre” al candidato a donante de sangre la cual fue evaluada por el personal del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval. Si el donante cumplía con todos los requisitos del PRONAHEBAS se le considera como APTO. Ver Anexo 2

2. Aplicación del Consentimiento Informado

Si el donante fue calificado como APTO, se procedió al llenado de la carta de Consentimiento Informado para que brinde su autorización en la participación de este estudio. Ver Anexo 3.

3. Recopilación de datos en la Ficha de Recolección de datos

Se recopiló los datos necesarios para este estudio en la Ficha de Recolección de datos a partir de la encuesta a los donantes que se atendieron durante el periodo de Febrero – Junio del 2013 en el Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara. Ver Anexo 4.

4. Toma de muestra

Se procedió a la extracción de la unidad de sangre, así como también se obtuvo una muestra de sangre en un tubo de 6 mL sin aditivo.

5. Obtención y almacenamiento de suero

Para la obtención del suero del donante se realizó la centrifugación de la muestra sanguínea, luego se separó el suero y se almacenó en crioviales a -70°C para una mejor conservación de los anticuerpos en interés.

6. Prueba de ELISA

Se procedió a realizar la prueba de ELISA IgM Anti CMV con un kit comercial de la marca Virion Serion, un inmunoensayo enzimático tipo sándwich, siguiendo el procedimiento descrito por el inserto del kit comercial utilizado, en donde en una placa de microtitulación de 96 pocillos recubiertas con antígenos específicos de Citomegalovirus se agregó los controles listos para usar y las muestras diluidas previamente con diluyente de muestra y con el material absorbente de factor reumatoideo. Luego se incubó toda la placa en cámara húmeda durante 60 minutos y se procedió a realizar 4 lavados con solución de cloruro de sodio con Tween 20 y 30 mM Tris/HCl, pH 7,4 (Solución WASH –

Virion Serion). Después se adicionó el conjugado de anticuerpo policlonal IgM anti-humano conjugado con fosfatasa alcalina (APC – Virion Serion) y luego de incubar durante 30 minutos en cámara húmeda, se repitió el proceso de lavado descrito anteriormente. Posteriormente se procedió a agregar el sustrato-cromógeno *para-nitrofenilfosfato* (pNPP – Virion Serion) y se incubó en cámara húmeda durante 30 minutos. Terminado el periodo de incubación, inmediatamente se agregó la solución de parada de hidróxido de sodio 1,2 N (STOP – Virion Serion) y se procedió a leer los resultados en un espectrofotómetro para placas de microtitulación a una longitud de onda 405 nm con longitudes de onda de referencia recomendadas de 620 – 690 nm. Los resultados y la interpretación de ellos, se obtuvieron siguiendo las fórmulas provistas por el kit comercial. Ver Anexo 5.

ANALISIS DE DATOS

Los datos recopilados en la ficha de recolección de datos y los resultados del ELISA IgM anti CMV, fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS 17.0 y en el Programa Excel para Windows.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

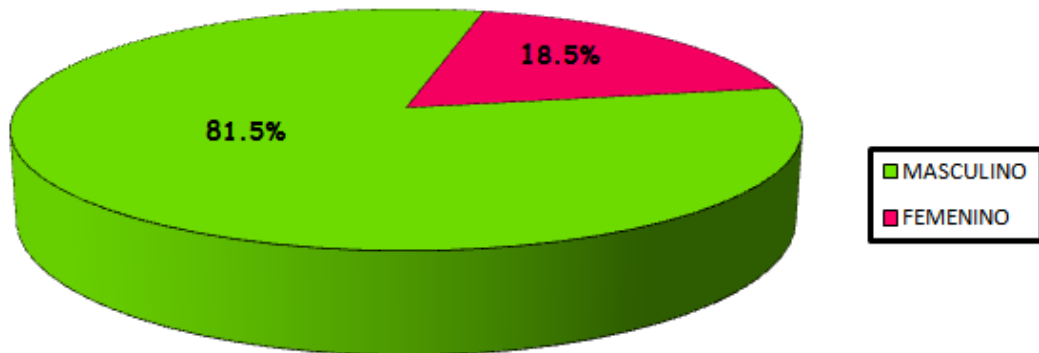
El presente estudio se realizó respetando los principios de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia de la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) ⁽³²⁾, se contó con la autorización del Comité de Ética del Centro Médico Naval.

Se brindó una carta de consentimiento informado a todos los donantes que acudieron al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara la que fue firmada y sellada con impresión dactilar previo a la obtención de la muestra sanguínea para el estudio.

RESULTADOS

La distribución de la población estudiada según sexo fue de 81,5% (221) donantes de sangre del sexo masculino y 18,5% donantes (50) del sexo femenino. (Figura 1)

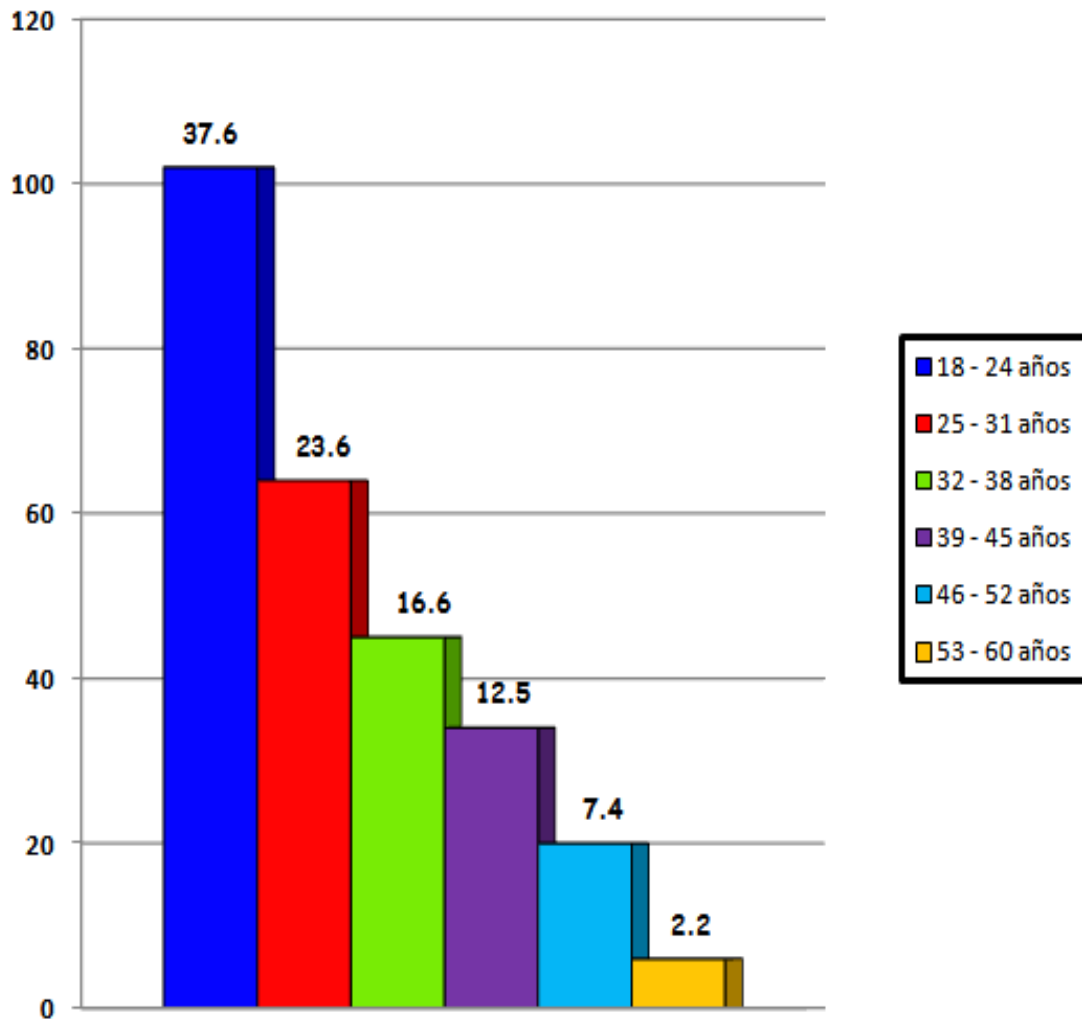
Figura 1 . Distribución de los donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora, periodo Febrero – Junio 2013, según sexo



Fuente : Elaboración propia.

La distribución de la población según grupos etáreos fue la siguiente: 37,6% (102) donantes de sangre entre 18 y 24 años, 23,6% (64) entre 25 y 31 años, 16,6% (45) entre 32 y 38 años, 12,5% (34) entre 39 y 45 años, 7,4% (20) entre 46 y 52 años y 2,2% (6) entre 53 y 60 años. (Figura 2)

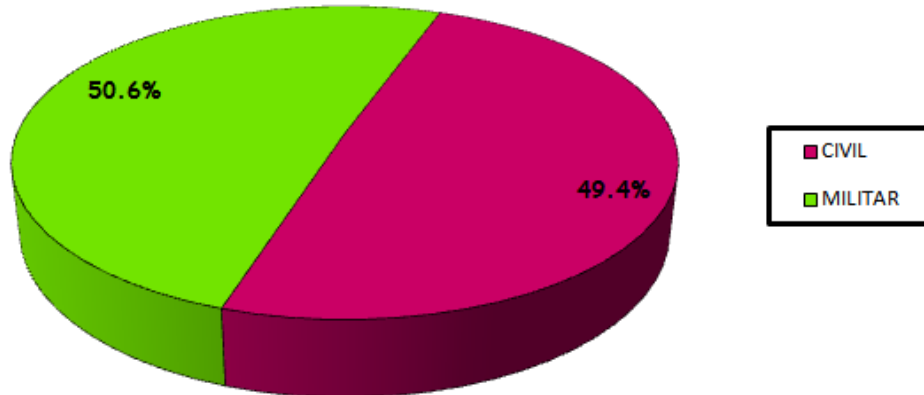
Figura 2 . Distribución de los donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távora, periodo Febrero – Junio 2013, según grupo etéreo



Fuente : Elaboración propia.

Los donantes de sangre estuvieron distribuidos según categoría Civil o Militar, un 50,6% (137) siendo de categoría militar y un 49,4% (134) categoría de civil. (Figura 3)

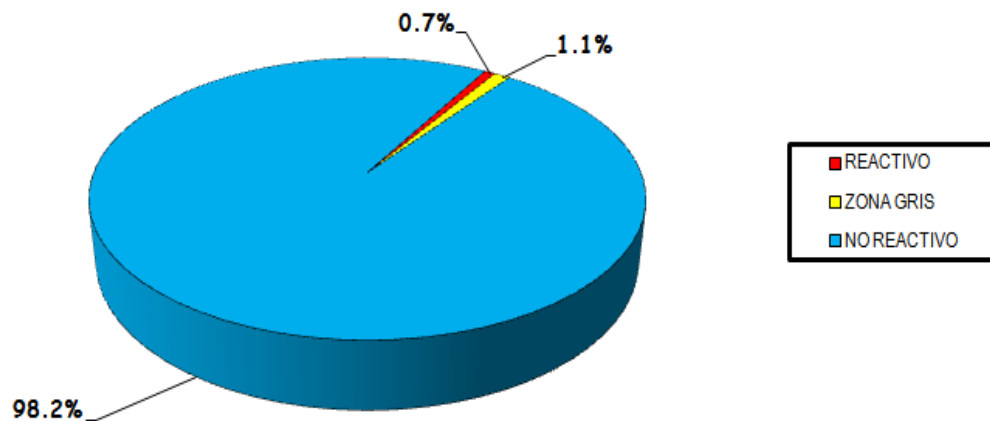
Figura 3 . Distribución de los donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013, según categoría



Fuente : Elaboración propia.

Se encontró que en el resultado de la prueba de ELISA IgM anti Citomegalovirus en la población estudiada, el 0,7% (2) de los donantes de sangre fueron reactivos, 1,1% (3) se encontraron en zona gris y 98,2% (266) tuvieron serología no reactiva. (Figura 4)

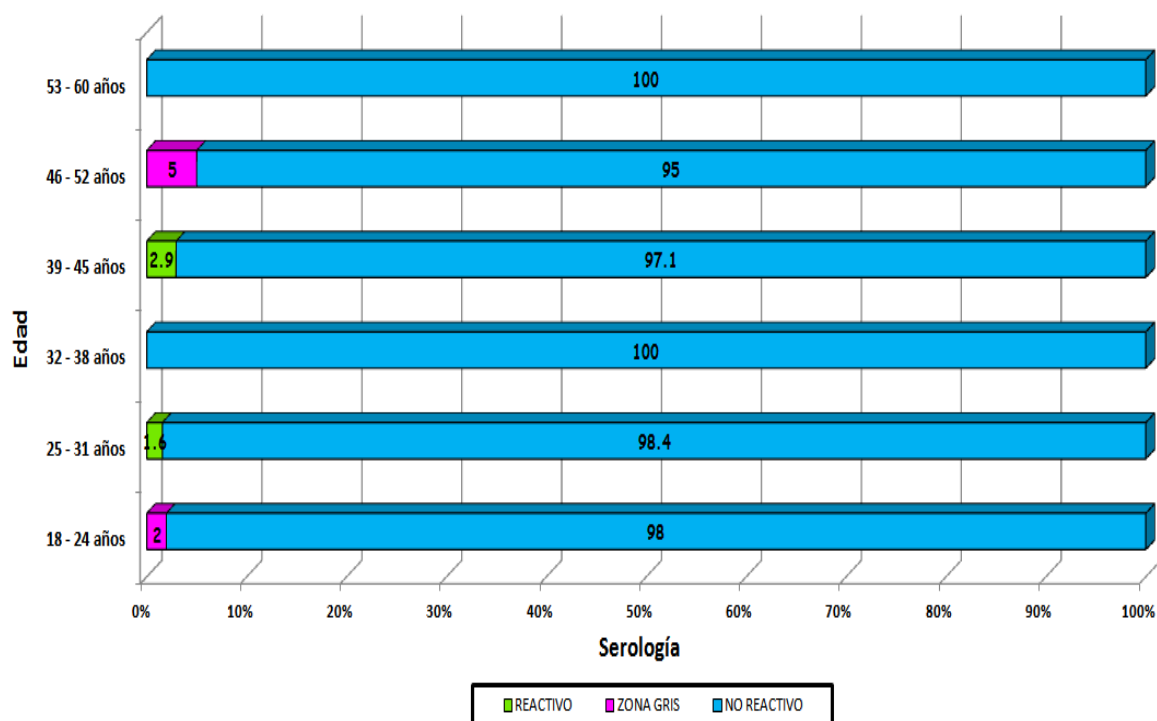
Figura 4 . Frecuencia de la prueba de ELISA IgM anti Citomegalovirus en donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013



Fuente : Elaboración propia.

Los donantes que presentaron serología reactiva a CMV correspondieron al 1,6% (1) entre 25 y 31 años; 2,9% (1) entre 39 y 45 años; el 2% (2) que se encontró en zona gris se encontraban entre 18 y 24 años y el 5% (1) de los donantes entre 46 y 52 años. (Figura 5)

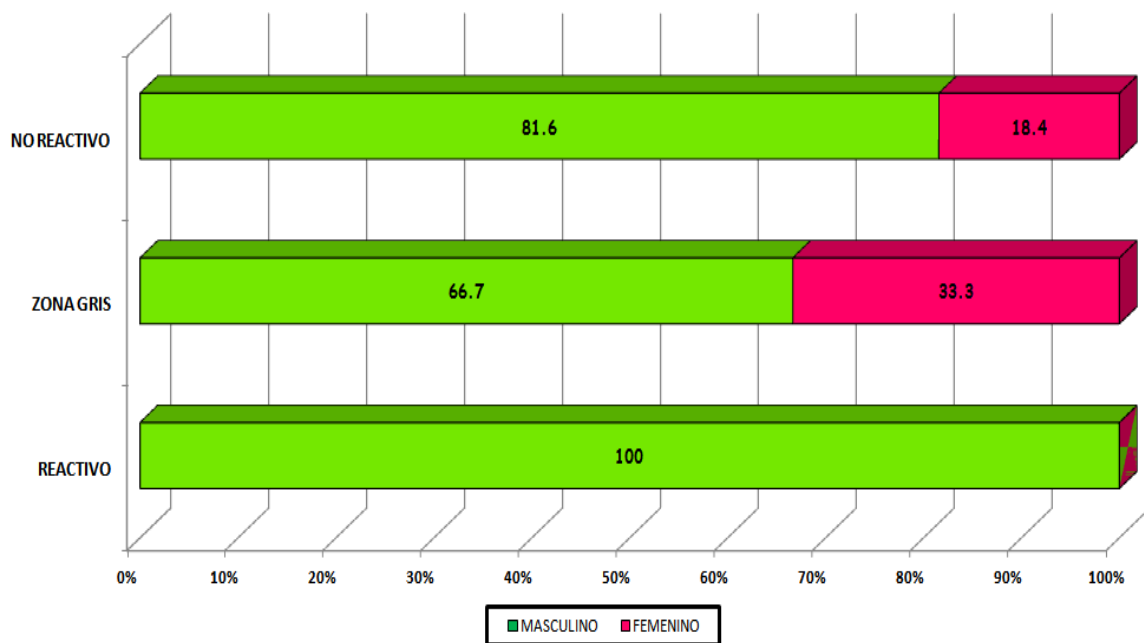
Figura 5 . Resultados de la serología a Citomegalovirus en donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013, según grupo etáreo



Fuente : Elaboración propia.

Se encontró que el 100% de los donantes de sangre reactivos a anticuerpos IgM contra Citomegalovirus fueron varones, al igual que el 66,7% de los donantes cuyos resultados estuvieron en zona gris, mientras que el 33,3% fueron mujeres. En el caso de los donantes no reactivos el 81,6% fueron del sexo masculino y el 18,4% del sexo femenino. (Figura 6)

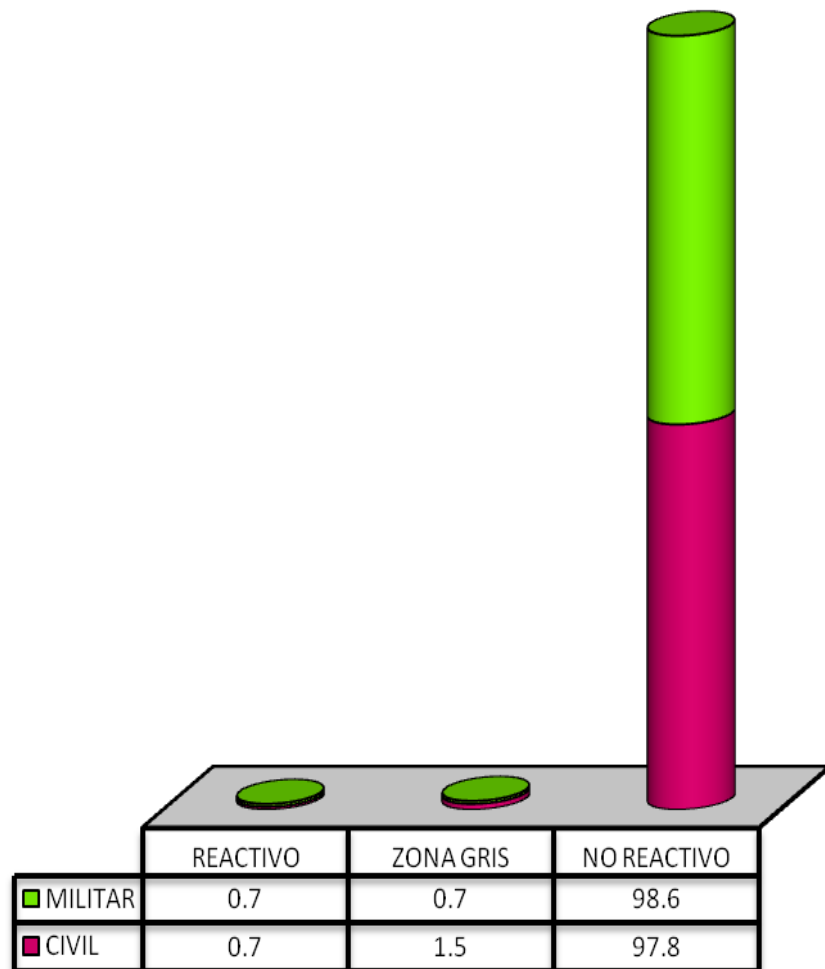
Figura 6 . Resultados de la serología a Citomegalovirus en donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013, según sexo



Fuente : Elaboración propia.

Se observó que dentro de la categoría militar el 0,7% (1) de los donantes se encontró con serología reactiva a anticuerpos IgM contra Citomegalovirus, el 0,7% (1) en zona gris y el 98,5% (135) fueron no reactivos. En el caso de los donantes civiles el 0,7% (1) fueron reactivos, el 1,5% (2) estuvieron en zona gris y el 97,8% (131) fueron no reactivos. (Figura 7)

Figura 7 . Resultados de la serología a Citomegalovirus en donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013, según categoría



Fuente : Elaboración propia.

Se observó que el 0,5% (1) y 1,4% (3) de los donantes de Lima fueron reactivos y en zona gris respectivamente, y el 33,3% (1) de los donantes de Loreto fueron reactivos a Citomegalovirus. (Cuadro 1)

Cuadro 1

Resultados de la serología anti CMV Ig M de los donantes de sangre del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara según el Departamento de procedencia

Procedencia	Serología						Total	%
	Reactivos	%	Zona Gris	%	No Reactivos	%		
Arequipa	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Callao	0	0,0	0	0,0	49	100,0	49	100,0
Ica	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Junín	0	0,0	0	0,0	2	100,0	2	100,0
Lambayeque	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Lima*	1	0,5	3	1,4	206	98,1	210	100,0
Loreto	1	33,3	0	0,0	2	66,7	3	100,0
Pasco	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Piura	0	0,0	0	0,0	2	100,0	2	100,0
Tumbes	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
Total	2	0,7	3	1,1	266	98,2	271	100,0

Fuente : Elaboración propia.

*Se incluyen las provincias de Lima.

Al realizar la asociación entre la serología para Citomegalovirus y lugar de procedencia no se encontró diferencias significativas. (chi-cuadrado = 1,74; $p < 0.05$). (Tabla 1)

Tabla 1

Chi – cuadrado de la serología para Citomegalovirus en relación a Departamentos de Procedencia de los donantes de sangre que acudieron al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero - Junio 2013

	Lima	Otros Departamentos	Total
Reactivo	1	1	2
Zona Gris	3	0	3
No Reactivo	202	60	266
Total	210	61	271

Fuente : Elaboración propia.

Chi – cuadrado serología Departamentos de Procedencia = 1,74

$p < 0,05$

g.l. : 2

La asociación entre la serología para Citomegalovirus y grupo etáreo no demostró significancia estadística entre ellas. (chi-cuadrado = 3,10; $p < 0.05$). (Tabla 2)

Tabla 2

Chi – cuadrado de la serología para Citomegalovirus en relación al Grupo Etáreo de los donantes de sangre que acudieron al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero - Junio 2013

	18 – 31 años	32 – 45 años	46 – 60 años	Total
	n	n	n	n
Reactivo	1	1	0	2
Zona Gris	2	0	1	3
No Reactivo	163	78	25	266
Total	166	79	26	271

Fuente : Elaboración propia.

Chi – cuadrado serología grupo etáreo = 3,10

$p < 0,05$

g.l. : 4

Al efectuar la asociación entre la serología para Citomegalovirus en relación al sexo de los donantes no se encontró relación estadísticamente significativa.

(chi-cuadrado = 0,36; $p < 0.05$). (Tabla 3)

Tabla 3

Chi – cuadrado de la serología para Citomegalovirus en relación al Sexo de los donantes de sangre que acudieron al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero - Junio 2013

	Masculino	Femenino	Total
	n	n	n
Reactivo	2	0	2
Zona Gris	2	1	3
No Reactivo	217	49	266
Total	221	50	271

Fuente : Elaboración propia.

Chi – cuadrado serología sexo = 0,36

$p < 0,05$

g.l. : 2

DISCUSIÓN

La frecuencia de serología reactiva a Citomegalovirus detectada a través de la prueba de ELISA fue del 0,7% y la frecuencia de serología en zona gris fue de 1,1% un valor similar al obtenido por Prera *et al* ⁽¹²⁾ en Guatemala en el año 2008, donde la serología reactiva fue de 1% y en zona gris fue de 2%; pero superior al encontrado por Morales L. ⁽¹³⁾ que encontró una frecuencia de 0,36%.

La frecuencia de serología reactiva encontrada en este estudio fue inferior al encontrado por Souza M. *et al* ⁽¹⁴⁾ que obtuvo un 2,3% de reactividad, pero marcadamente inferior al encontrado por Juárez I. ⁽¹⁰⁾ y Arana R. ⁽¹¹⁾ en Guatemala que fue de 22% y 8,55% respectivamente.

Es importante considerar que el ELISA utilizado en este estudio, es una prueba cualitativa porque nos permite evaluar la respuesta inmunológica al Citomegalovirus a través de la detección de anticuerpos de tipo IgM mas no la cuantificación de la misma, esta prueba posee como característica una sensibilidad superior al 99% y una especificidad de 92%, datos provistos por el inserto del kit comercial, si bien esta prueba tiene un porcentaje alto de sensibilidad, la especificidad es baja, es por ello que se encontró un porcentaje mayor en zona gris que reactivos, y podría deberse a alguna infección por algún otro virus de la familia de los *Herpesviridae* como una posible reacción cruzada.

Se ha realizado un solo estudio en nuestro país en el año 2000 por Suasnabar J., en el Instituto de Salud del Niño ⁽¹⁵⁾, en el cual se obtuvo una serología reactiva para IgM contra Citomegalovirus de 13,51%, dato que difiere del obtenido en el presente estudio.

Al ser éste el único trabajo en el país con datos demográficos sobre la serología de IgM contra Citomegalovirus no pudimos compararlo con ningún otro.

Los donantes entre 39 y 45 años presentaron una elevada frecuencia de reactividad (2,9%) con respecto a los demás donantes de sangre; así mismo el

1,6% de personas entre 25 y 31 años también presentaban serología reactiva, datos que difieren a lo observado por Suasnabar J. ⁽¹⁵⁾ en el 2000, donde el grupo etáreo con mayor frecuencia de reactividad (16,1%) fue de 18 – 25 años, seguido por un 14% encontrado en el grupo de 26 – 35 años. En cuanto a los donantes en zona gris la frecuencia elevada se encontró en el grupo etáreo de 46 – 52 años con un 5%, mientras que un 2% en el grupo de 18 – 24 años.

En este estudio se observó que el 100% (2) de los donantes reactivos a anticuerpos IgM contra Citomegalovirus fue del sexo masculino, en cambio Suasnabar J. ⁽¹⁵⁾ halló que el 13,2% (27) de los donantes reactivos fueron de este mismo sexo.

No se alcanzó a identificar factores de riesgo debido a que sólo hubo dos casos reactivos a anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en este estudio.

Se realizó el seguimiento de las unidades reactivas para determinar las características de los receptores de transfusión sanguínea encontrándose que fueron transfundidas a pacientes inmunocomprometidos, exponiéndose así al receptor a una infección post – transfusional a causa de este virus.

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero - Junio del 2013 es baja.
2. La frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre durante el periodo Febrero - Junio del 2013, según lugar de procedencia fue baja en los donantes de Lima, sólo el departamento de Loreto tuvo un porcentaje superior debido a la baja cantidad de donantes de sangre de ese departamento.
3. La frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre durante el periodo Febrero - Junio del 2013, según categoría fue igual de baja tanto en militares como civiles.
4. La frecuencia de anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero - Junio del 2013, según edad fue ligeramente elevada en los donantes entre 39 y 45 años, seguido por los donantes entre 25 y 31 años.

RECOMENDACIONES

1. Establecer protocolos de procedimientos para garantizar que las unidades de sangre transfundidas a la población de riesgo, tales como inmunocomprometidos y neonatos estén libres de Citomegalovirus, y poder evitar así cualquier infección post - transfusional a causa de este virus.
2. Evaluar la implementación de la detección de infección por Citomegalovirus mediante una prueba rápida que detecte antígeno y/o anticuerpo dentro de los marcadores serológicos obligatorios para tamizaje de unidades de sangre y derivados, principalmente en los casos que se requieren de unidades a ser transfundidas a pacientes inmunocomprometidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kumar V., Abbas A., Fausto N. Patología estructural y funcional de Robbins y Contran. 7 ed. España. Editorial Elsevier S.A. 2006. 1750 p. (p. 371 y 372).
2. Taylor GH. Cytomegalovirus. Am Family Physicians 2003; 67:519-24.
3. Navarro D. Diagnóstico serológico de la infección por el Citomegalovirus humano. Tratado de SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. España. 2002; 10:47-53.
4. Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. J Gen Vir 2006; 87:1763-79.
5. Barba Evia JR. Citomegalovirus y transplante renal: una combinación peligrosa. Rev Mex Patol Clin 2006; 53:52-61.
6. Romero C. Microbiología y parasitología humana. 2 ed. México: Médica Panamericana, 1999 p. (p. 147-150).
7. Braunwald E. et al. Principios de Medicina Interna. 15 ed. Agud JL, Trad. México: McGraw-Hill, Vol, 2, Vol. 1, 2002, 2060 p. (p.1311-1315).
8. 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.
9. Atul K. et al. Seroprevalence of Cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. J Health Popul Nutr 2002; 20(4):348-351.
10. Juárez I. Prevalencia de infección por Citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios [Tesis para optar el título de Licenciado]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2002.

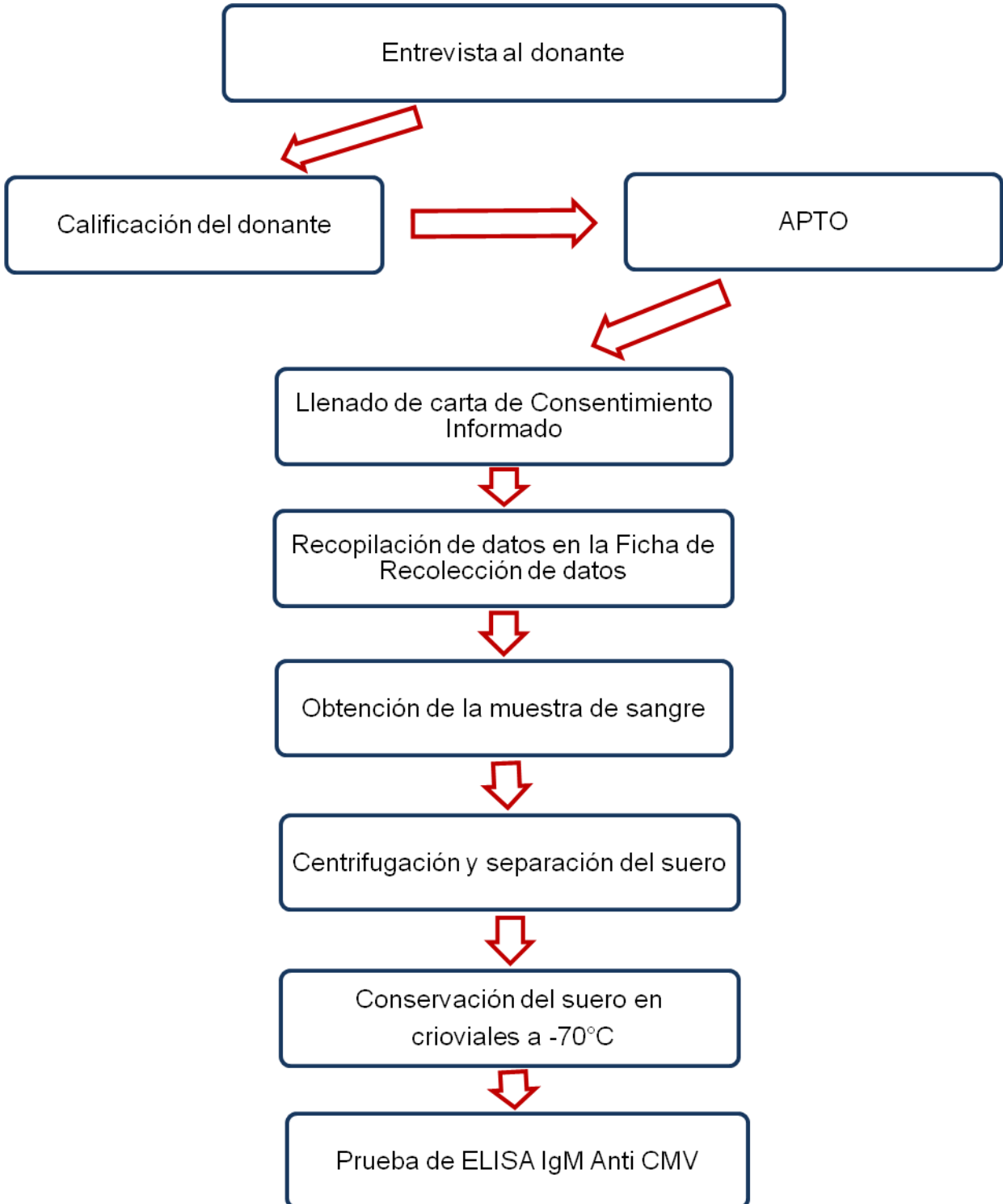
11. Arana R. Prevalencia de infección por Citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre del Hospital de San Benito-Petén [Tesis para optar el título de Licenciado]. Guatemala. Universidad San Carlos de Guatemala. 2006.
12. Prera J, Almengor S, Del Valle G. Citomegalovirus en donadores de sangre. Rev Fac Med Univ Francisco Marroquín. Guatemala. 2009 ; 4: 47-53
13. Morales L. Frecuencia de Citomegalovirus en donadores que asisten al Banco de Sangre de Oriente en el Departamento de Chiquimula [Tesis para optar el título de Licenciado]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2010.
14. Souza Marli Adelina, Passos Ana Maria, Treitinger Arício, Spada Celso. Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies in blood donors in southern, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2010 Aug; 43(4): 359-361.
15. Suasnabar J. Prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti Citomegalovirus en donantes de sangre del Instituto de Salud del Niño enero – marzo del 2000 [Tesis para optar el título de Licenciado]. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2000.
16. Forbes B., Sahm D., Weissfeld A. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. 11 ed. Rondinone S, Trad. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 2004. 1115 p. (p. 843).
17. Murray P. et al. Microbiología Médica. 5 ed. España: Elsevier S.A. 2006. 963 p. (p. 558-563).
18. Fumarola A. et al. Microbiología y Parasitología Médica. 2ed. España: Editorial Masson S.A. 1998. 1895 p. (p. 8-19).
19. Artagnan J. et al. Las citocinas en la patogénesis por Citomegalovirus. Rev Biomed 2000; 11:293-300.

20. Ruiz V. et al. Tratado de SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. España: Panamericana. 2006. 2067 p. (p. 747-757).
21. Parslow T. et al. Inmunología básica y clínica. 10.ed. México. 2002. 917 p. (p. 158-160, 167-184).
22. Levinson W. Microbiología e Inmunológica Médica. 5 ed. España : Editorial McGraw-Hill. 2004. 662 p. (p.363-366).
23. Metta H, Maranzana A. Infecciones virales. En Benetucci J A: SIDA y enfermedades asociadas. 2008. Tomo 1. 361-364
24. Crumpacker C. Citomegalovirus. En Mandell–Bennett–Dolin. Enfermedades infecciosas, principios y prácticas. 5ta Edicion. Tomo II. 1938-1958 Rev Mex Neurocl 2005; 6(5) 399-410
25. Alarcón, R. et. al. Infección por Citomegalovirus en pacientes con SIDA. Rev. Inst. Med. Trop. Vol 4(2);7:13; Diciembre 2009
26. Meijer E., Boland G., Verdonck LF. Prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogenic stem cell transplant. Clin Microbiol Rev 2003; 16:647-649.
27. 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.
28. 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.
29. Gimeno C, Navarro D, de Oña M, y Pérez J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por herpesvirus. En: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 8 ed. España. 2005.

30. Rayan K., Ray G. Microbiología médica de Sherris. 4 ed. México: McGraw-Hill. 2004. 1051p. (p. 618-622).
31. Nester E. et al. Microbiología humana. 5 ed. México: Editorial Manual Moderno. 2007. 1902 p. (p. 846-848).
32. UNESCO. Declaración Universal sobre Bioética y los Derechos Humanos. Disponible en http://portal.unesco.org/es/ev.php-URL_ID=31058&URL_DO=DO_TOPIC&URL_SECTION=201.html. Paris. 2005.

ANEXOS

ANEXO 1
PLAN DE PROCEDIMIENTOS





ANEXO 2

SS-132 (EMI. Ago. 2007)

DIRECCION DE SALUD Y CENTRO MEDICO NAVAL
"CINCUANO MAYOR SANTIAGO IBAÑANA"

SELECCIÓN DEL POSTULANTE A DONACION DE SANGRE

Grupo sanguíneo: Factor Rh: Código de Postulante:
 Fecha: Código de Donante:
 Tipo de donación: Voluntaria Reposición Remunerada Autóloga

I. DATOS PERSONALES:

Nombre:	Edad: años	Sexo: <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Femenino
Categoría Militar () Civil ()	Estado Civil: <input type="checkbox"/> Sol <input type="checkbox"/> Cas <input type="checkbox"/> Viu <input type="checkbox"/> Div <input type="checkbox"/> Con	
Ocupación:	Lugar y fecha de Nacimiento:	
Lugar de procedencia:	Domicilio:	
Centro de trabajo:	Teléfono casa:	Celular:
DNI / CIP:	E - mail:	

II. PROTOCOLO DE SELECCIÓN AL DONANTE DE SANGRE

1. ¿Ha donado sangre alguna vez?	Si ()	No ()	
2. ¿Donó sangre en los últimos tres meses?	Si ()	No ()	
3. ¿Se puso nervioso cuando donó sangre?	Si ()	No ()	
4. ¿Cuándo fue la última regla?			
5. ¿Cuántos días menstrúa?			
6. En su menstruación, el sangrado es: abundante () moderado () escaso ()			
7. ¿Está gestando?	Si ()	No ()	
8. Fecha del último parto:			
9. ¿Está dando de lactar?	Si ()	No ()	
10. ¿Ha sido operado en los últimos seis meses?	Si ()	No ()	
11. ¿De que fue operado?			
12. ¿Ha recibido sangre, transplante de órgano o tejidos? Hace que tiempo	Si ()	No ()	
13. ¿Ha sido tatuado, se ha sometido a punción de piel para aretas, adornos, acupuntura o ha usado drogas ilegales?	Si ()	No ()	
14. ¿Qué medicina está tomando actualmente? ¿Por qué?			
15. ¿Ha tenido o tiene alguna (s) de estas enfermedades o moléstias?			
Hepatitis	Chagas (Rp)	Cáncer (Rp)	Dengue (1a)
Tuberculosis (5a)	Bartonelosis	Diabetes (Rp)	Fiebre Amarilla (1a)
Fiebre Tifoidea (2a)	Cardiopatías (Rp)	Asma	Amebiasis (1a)
Fiebre Malta (3a)	Hipertensión Arterial	Fiebre Reumática (Rp)	Mononucleosis
Enfermedades venéreas (3a)	Convulsiones (Rp)	Hipertiroidismo	Osteomielitis (5a)
Paludismo	Hemorragias	Trastornos de Coagulación	Glomerulonefritis
16. ¿Ha tenido contacto directo con personas que tengan hepatitis o ictericia?	Si ()	No ()	
17. ¿Ha viajado a zona endémica de paludismo?	Si ()	No ()	
18. ¿Consume usted drogas?	Si ()	No ()	
19. ¿Ha recibido vacunas? Cuáles:	Si ()	No ()	
20. ¿Viajó fuera del país en los últimos años?	Si ()	No ()	
21. Pertenecer usted o ha tenido contacto sexual con grupo de riesgo? Homosexual () Bisexual () Promiscuo () Prostituta () No () Otro:			
22. ¿Con cuántas personas tuvo contacto sexual en los últimos tres años?			
23. ¿Tiene usted SIDA o ha tenido alguna prueba para SIDA positiva?	Si ()	No ()	
24. ¿Ha sido excluido como donante anteriormente? ¿Por qué?	Si ()	No ()	
25. ¿Ha tomado medicamentos para Psoriasis tales como Etratinato (Tagisón) en los últimos 3 años?	Si ()	No ()	
26. ¿Ha ofrecido dinero o drogas a alguna persona para tener sexo con Ud., en los últimos 12 meses?	Si ()	No ()	
27. ¿Ha tomado medicamentos tales como Isotretinoína (Acutane) (Roaccutan), Finasterida (Proscar) en los últimos 4 semanas?	Si ()	No ()	
28. ¿Ha tomado Aspirina o algún medicamento que contenga Acido Acetilsalicílico en los últimos 3 días	Si ()	No ()	
29. ¿Está donando sangre para que le hagan las pruebas para enfermedades hemotransmisibles?	Si ()	No ()	
30. ¿Comprende Ud., que de estar infectado con el virus del SIDA, puede transmitirlo con su donación de sangre a pesar de tener una prueba negativa para SIDA, y a pesar de que se sienta bien de salud?	Si ()	No ()	
31. ¿Ha leído y entendido toda la información presentada y han sido resueltas todas sus preguntas?	Si ()	No ()	
32. ¿Se ha sometido a curación o extracción dental en los últimos 03 días?	Si ()	No ()	

Receptor:

Nombre del Entrevistador: _____
Firma y Sello: _____

Nombre del Postulante: _____
Firma: _____



SELECCIÓN DEL POSTULANTE A DONACION DE SANGRE

III. EXAMEN CLÍNICO:

Peso: _____ Kg. Talla: _____ m. P.A. _____ Mm/Hg Pulso: _____ pul/ min.

Estado de accesos venosos: _____

Observaciones: _____

Nombre del Examinador: _____

Nombre del Postulante: _____

Firma y Sello: _____

Firma: _____

IV. EXAMENES COMPLEMENTARIOS:

Hematocrito:	Hb:	VDRL / RPR:	Anti VH:
HBsAg:		Anti Core VHB:	Anti VHC:
Anti HTLV:		Anti Chagas:	Otros: Malaria Bartonella
Grupo Sanguíneo:		Factor Rh:	Variante Du:
		Fenotipo Rh:	

Nombre del Responsable: _____

Firma y Sello: _____

V. CALIFICACIÓN DEL DONANTE

APTO

NO APTO TEMPORALMENTE

NO APTO PERMANENTE

Nombre del Calificador: _____

Firma y Sello: _____

V. CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Yo, voluntariamente dono mi sangre y derivados a esta institución. Concedo autorización para que se obtenga la cantidad de 450 ml. de sangre y sea examinada y utilizada en la transfusión sanguínea. He tenido la oportunidad de preguntar sobre este procedimiento, y entiendo lo que es y cuales son sus riesgos y también he tenido oportunidad de rechazar que lo realicen. He revisado y entendido la información que me dieron referente a la propagación del virus del SIDA a través de donaciones de sangre, plaquetas o plasma, por lo tanto yo considero que mi sangre debe ser examinada para los anticuerpos del SIDA y otras enfermedades infecciosas. En mi consentimiento yo certifico que he contestado con toda veracidad las preguntas que me realizaron. Yo por medio de la presente eximo de toda responsabilidad a esta institución y a sus miembros de cualquier reclamo o demanda que yo, mis herederos, ejecutores o administradores tengan o puedan tener en contra de cualquiera de ellos en lo que se refiere a esta donación y cualquier consecuencia como resultado directo o indirecto de ella.

Firma del Donante

Huella digital

Firma y Sello del Entrevistador

ANEXO 3

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Protocolo : “Frecuencia de Anticuerpos IgM contra Citomegalovirus en donantes de sangre que acuden al Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre del Centro Médico Naval Cirujano Mayor Santiago Távara, periodo Febrero – Junio 2013”.

Investigador : Int. T.M. Selene Adelis Bautista Salas.

Información acerca del estudio:

El Citomegalovirus es un virus que puede causar varias enfermedades inflamatorias tales como encefalitis, retinitis, hepatitis, gastritis, colitis y alteraciones hematológicas en personas inmunocomprometidas o inmunosuprimidas como los transplantados, pacientes con SIDA, neonatos y mujeres embarazadas.

Actualmente no se detecta este tipo de virus en los Bancos de Sangre del país, es por ello que el propósito del presente trabajo es valorar la significancia de los resultados en donantes de sangre para este tipo de virus, para lo cual necesitamos contar con una muestra de sangre para obtener suero y llevar a cabo el estudio para evitar así cualquier infección a causa de una transfusión sanguínea.

¿Cuál será su rol en el estudio?

Le estaremos muy agradecidos si Ud. decide participar en el estudio. Si decide hacerlo, uno de los profesionales que participa en el estudio le solicitará una muestra de sangre para análisis. El análisis que se le practicará no tendrá ningún costo para Ud.

Su participación es voluntaria y Ud. puede retirarse del mismo en cualquier momento sin perjuicio alguno.

La información que se obtenga será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de esta investigación.

Aceptación de su participación

He leído y comprendido toda la información precedente que describe las características de este estudio clínico, y todas mis preguntas y dudas han sido satisfechas.

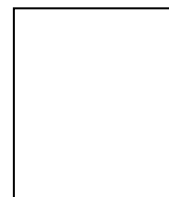
Yo doy voluntariamente mi consentimiento para participar en este estudio.

Entiendo que soy libre de participar en el estudio o poder retirarme en cualquier momento sin que ello me ocasione perjuicio alguno.

Nombre del donante: _____

Firma: _____

Impresión dactilar:



Firma del Investigador

Fecha: _____

ANEXO 5

INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO (ELISA) PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y REACTIVOS

1. Se procedió a preparar el reactivo, sustratos (según instrucciones del inserto) y muestras.
2. Las muestras y reactivos antes del uso se llevaron a temperatura ambiente.
3. Se diluyó el suero de los pacientes 1:100 con el diluyente (DIL-M) y material absorbente de factor reumatoideo (Absorbente Rf), se mezcló vigorosamente.
4. Se incubó las muestras diluidas antes del uso por lo menos 15 minutos a una temperatura de 17 a 25°C.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

5. El pocillo 1 se designó como blanco y se agregó 100 µL del diluyente.
6. El pocillo 2 y 3 se designaron para control negativo (duplicado), se agregó 100 µL a cada pocillo (sin diluir).
7. El pocillo 4 y 5 se designaron para control positivo (duplicado), se agregó 100 µL a cada pocillo (sin diluir).
8. Del pocillo 6 en adelante se asignaron para los sueros de los donantes, se agregó 100 µL de suero previamente diluido.
9. Se incubó 60 minutos a temperatura de 37 °C en cámara húmeda.

PROCEDIMIENTO DE LAVADO

10. Se aspiró el contenido de los pocillos y se llenó con 300 μ L de solución de lavado (solución de cloruro de sodio con Tween 20 y 30 mM Tris/HCl, pH 7,4 Solución WASH – Virion Serion) previamente diluida 1:30 con agua destilada. Este procedimiento se repitió 4 veces, entre cada lavado se dio ligeros golpes al final del procedimiento de lavado sobre papel toalla.

ADICIÓN E INCUBACIÓN DE CONJUGADO

11. Se agregó 100 μ L de conjugado de anticuerpo policlonal IgM anti-humano conjugado con fosfatasa alcalina (APC – Virion Serion) listo para usar a cada pocillo.

12. Se incubó 30 minutos a temperatura de 37 °C en cámara húmeda.

13. Se lavó 4 veces con 300 μ L de solución de lavado como lo descrito anteriormente.

ADICIÓN E INCUBACIÓN DE SUSTRATO

14. Se agregó 100 μ L de sustrato-cromógeno *para-nitrofenilfosfato* (pNPP – Virion Serion) listo para usar a cada pocillo.

15. Se incubó 30 minutos a temperatura de 37 °C en cámara húmeda.

PARADA DE LA REACCIÓN

16. Se agregó 100 μ L de solución de parada de hidróxido de sodio 1,2 N (STOP – Virion Serion) (STOP) a cada pocillo.

LECTURA ESPECTOFOTOMÉTRICA

17. Se procedió a leer cada pocillo en un plazo no mayor de 60 minutos a 405 nm, utilizando filtro dual de 620 nm y 690 nm en el lector de ELISA.

CÁLCULO DEL VALOR DE CORTE

- El blanco de sustrato se restó de todos los valores de DO antes de la evaluación.

Se sacó un promedio de la absorbancia de los controles negativos (MNC) y positivos (MPC).

- Los puntos de corte o Cut-off (COV) se calculó con la fórmula siguiente:

$$\text{UPPER COV} = 0,502 \times \text{MPC}$$

$$\text{LOWER COV} = 0,352 \times \text{MPC}$$

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

- Blanco en pocillo 1 con una absorbancia $< 0,100$.
- $\text{MNC} \leq 0.250$
- $\text{MPC} \geq 1,100$

Los fabricantes reportan una sensibilidad y especificidad superior al 99% y 92% respectivamente.

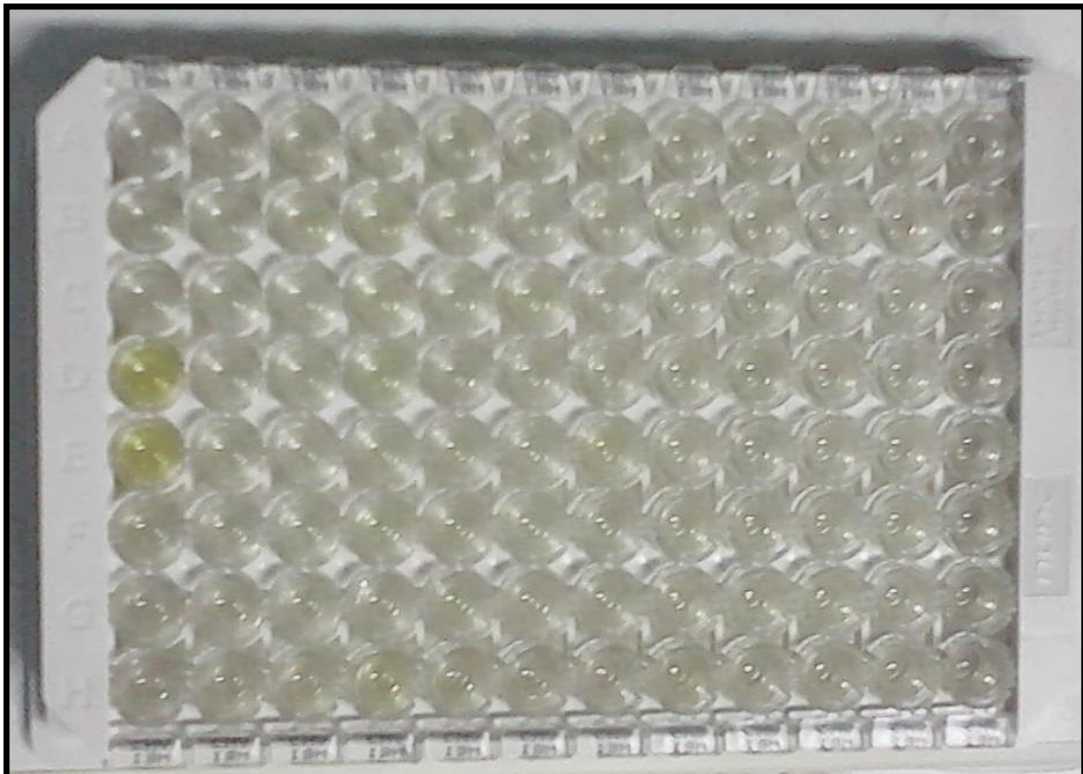
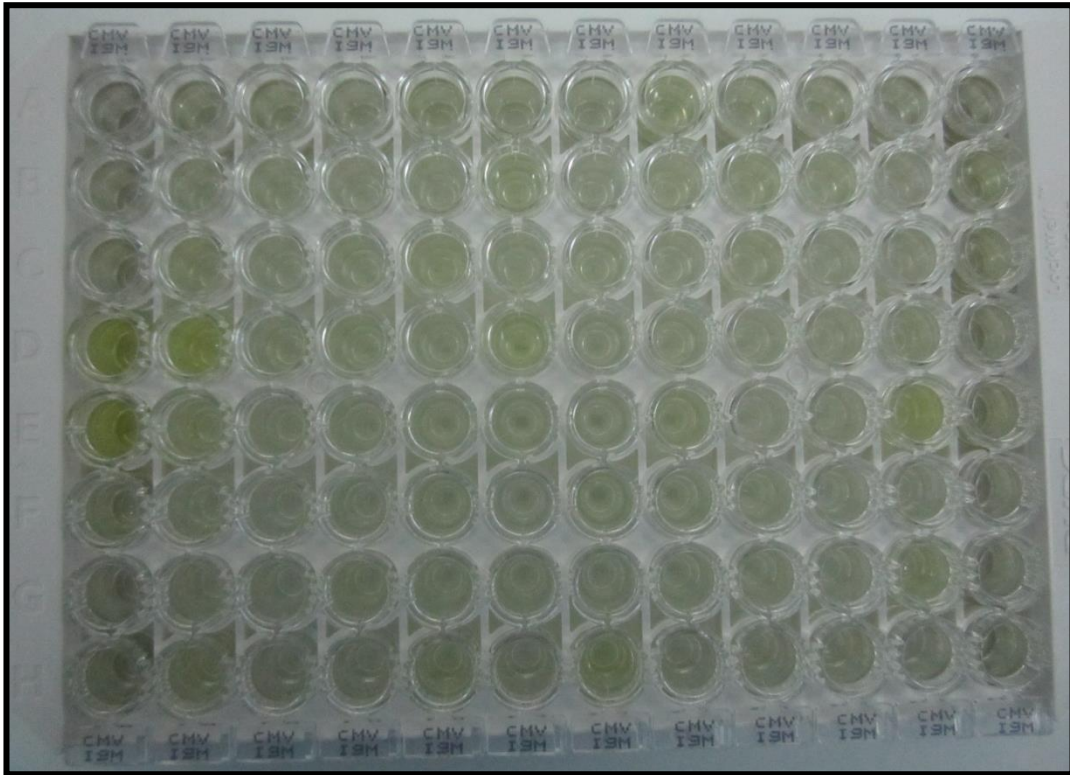
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

- $\text{AbsDON} > \text{UPPER COV} = \text{Reactivo}$
- $\text{UPPER COV} < \text{AbsDON} > \text{LOWER COV} = \text{Zona gris}$
- $\text{AbsDON} < \text{LOWER COV} = \text{No reactivo}$

ANEXO 6

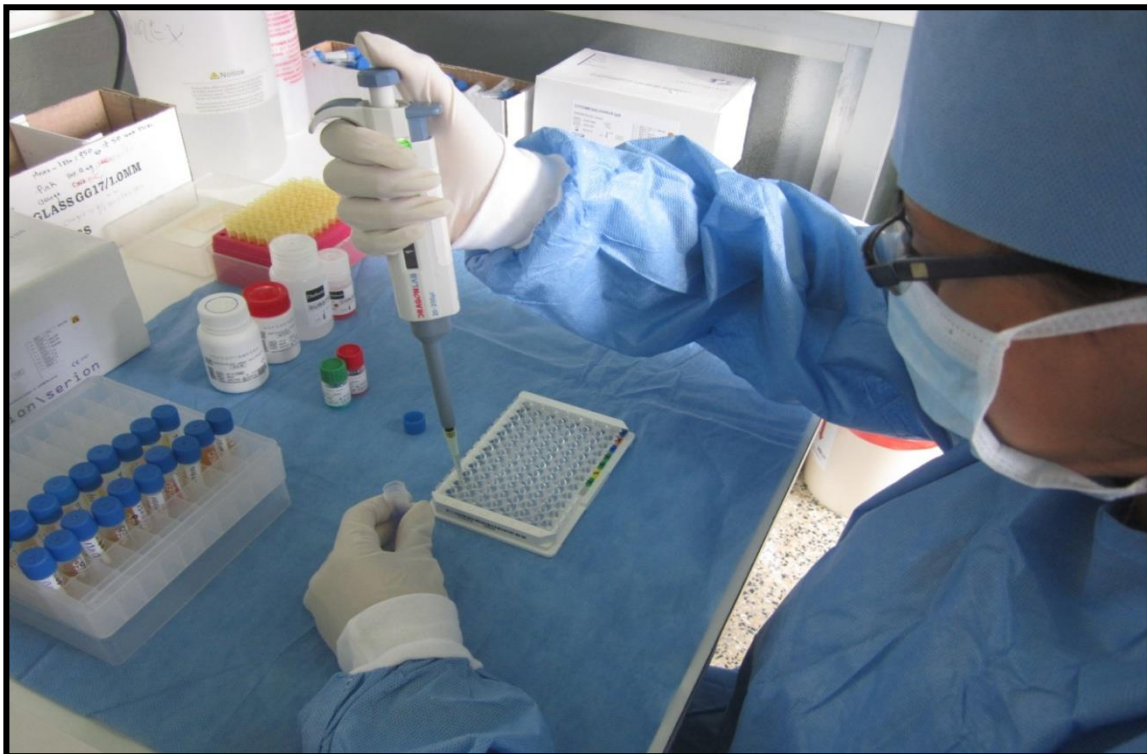
ELISA IgM Anti Citomegalovirus



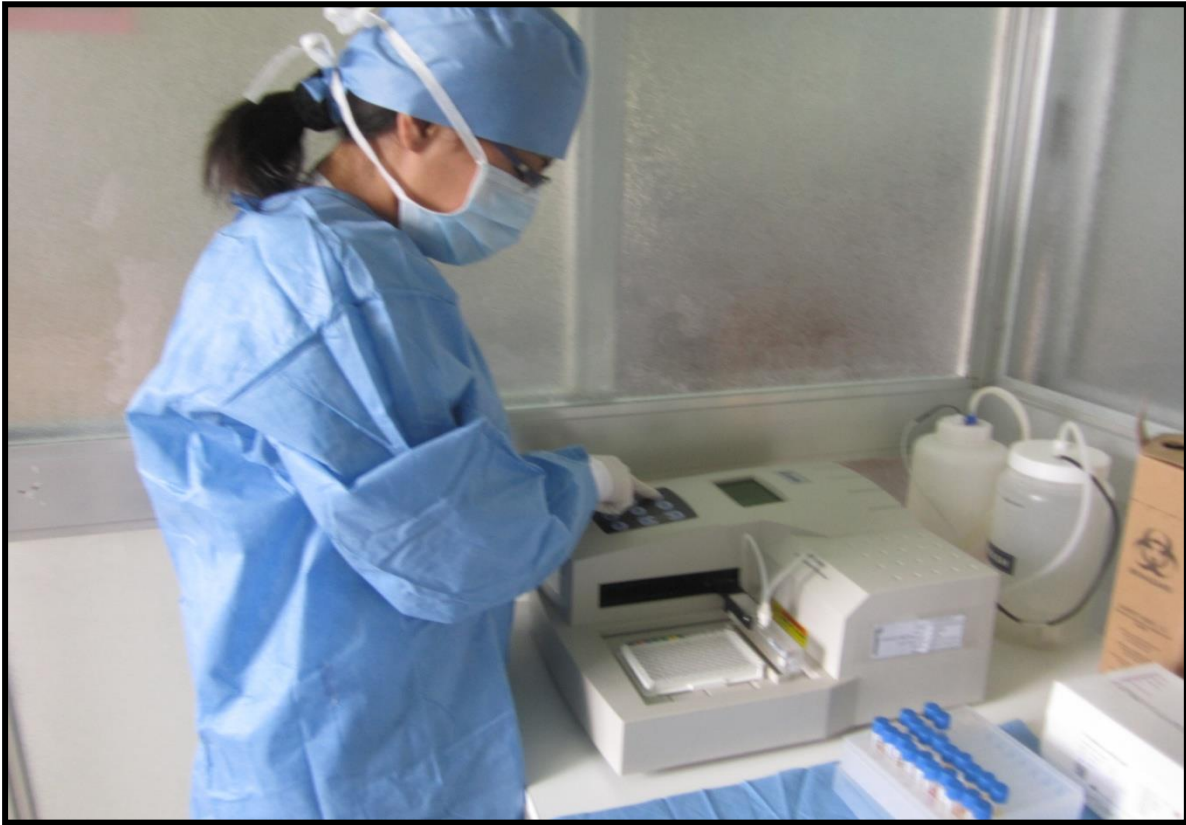
Preparación de las muestras y reactivos



Adición de las muestras



Procedimiento de lavado



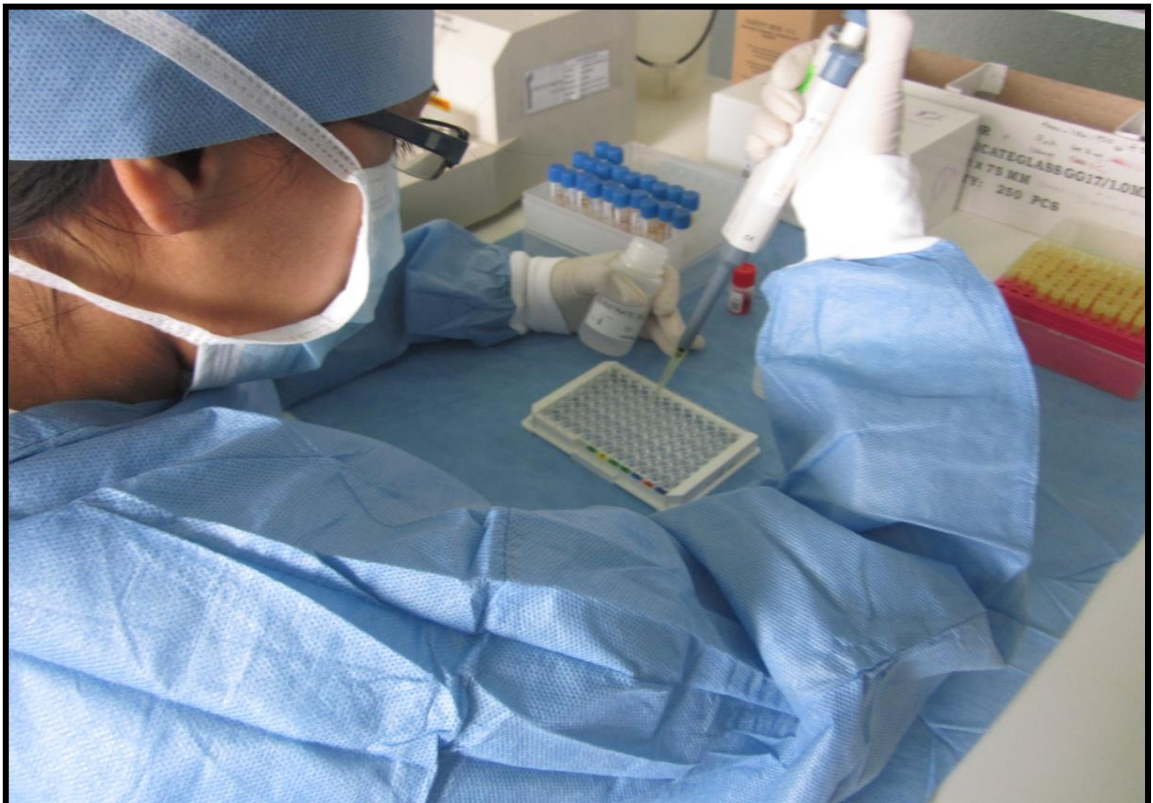
Adición de conjugado



Adición de sustrato



Parada de la reacción



Lectura espectrofotométrica

