

44
2ej-



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES



**"ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE INFECCION A
CITOMEGALOVIRUS EN PACIENTES
INMUNOSUPRIMIDOS ASOCIADO A NEOPLASIAS
HEMATOLOGICAS"**

**T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A:
PEDRO SANCHEZ CRUZ**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



MEXICO, D. F.,

ENERO DE 1992



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAGINA
RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	2
Neoplasias hematológicas	3
Linfomas	7
Leucemias	7
Disproteinemias	8
Enfermedad de Hodgkin	9
Inmunosupresión	9
Citomegalovirus	10
Características biológicas del virus	11
Patogenesis	12
Diagnóstico	13
Diagnóstico serológico	13
Epidemiología	15
Infección por CMV en pacientes inmunosuprimidos	15
II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA	17
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
IV. OBJETIVOS	20
V. HIPOTESIS	21
VI. MATERIAL Y METODOS	
Material Biológico	22
Material	22
Equipo	23
Reactivos	23
Metodología	25
Técnica de ELISA	25

INDICE

	PAGINA
VII. RESULTADOS	29
Cuadros	32
Gráficas	35
Tablas de contingencia	41
VIII. DISCUSION	47
IX. CONCLUSIONES	50
X. BIBLIOGRAFIA	51

RESUMEN

Las infecciones por citomegalovirus (CMV) son extensas y generalmente asintomáticas. La frecuencia y el espectro de la enfermedad en pacientes con cáncer (particularmente leucemia y linfoma), y en los receptores de transplante de órganos, establecen a este virus como patógeno importante en humanos.

Con el objeto de determinar la prevalencia de la seropositividad a CMV, en pacientes con neoplasias hematológicas del Instituto Nacional de Cancerología; (INCan), se realizó la detección de anticuerpos séricos totales contra CMV, (utilizando la técnica de ELISA) a pacientes del servicio de Hematología (divididos en los de nuevo ingreso y los que ya recibían atención médica) y a dos grupos testigo; el primero formado por donadores de sangre y el segundo por pacientes de nuevo ingreso a otros servicios. Además se recabaron datos demográficos (sexo, edad, nivel socioeconómico, hacimiento) y de diagnóstico de los pacientes, y se correlacionaron con los resultados de seroprevalencia a CMV.

La prevalencia de seropositividad a CMV fue elevada en los cuatro grupos (mayor del 85%). Con respecto a factores demográficos, la edad fue el único que se asoció a la presencia de anticuerpos contra CMV. Se observó que a mayor edad se incrementa la seropositividad a CMV (por debajo de los 25 años el porcentaje de individuos seronegativos fue de 34.1 y después de la quinta década de la vida ninguno es seronegativo).

En conclusión la prevalencia de la seropositividad a CMV es muy alta en nuestra población y parece mayor a lo observado en países desarrollados. La edad parece ser el único factor asociado a la prevalencia de seropositividad a CMV.

INTRODUCCION

Neoplasia significa neoformación, y el grupo de células que la componen se conoce con el mismo nombre. Una definición aceptable es la formulada por Willis (1957) "Neoplasia es una masa anormal de tejido, cuyo crecimiento excede al de los tejidos normales, está incoordinado con el de los mismos, y persiste de la misma manera excesiva después de cesar los estímulos que desencadenaron el cambio" ¹ Además, las neoplasias tienen otras dos características; (a) se comportan aparentemente como parásitos y para obtener sus requerimientos metabólicos compiten con las células y los tejidos normales; (b) tienen cierto grado de autonomía y aumentan en mayor o menor proporción, independientemente de su medio ambiente local y del estado nutricional del huésped.^{1,2}

En medicina, a la neoplasia se le denomina tumor, y el estudio de los tumores se le llama Oncología.³ Sin embargo, tumor es sencillamente tumefacción que pudiera ser producida, entre otras cosas, por edema o hemorragia en un tejido. Pero la palabra tumor se ha utilizado casi exclusivamente a masas neoplásicas que, por supuesto puede causar tumefacción cuando están en la superficie corporal.^{1,2}

La clasificación de las neoplasias en benignas y malignas se fundamenta en la base de su potencial de comportamiento clínico; un tumor es benigno cuando los caracteres citológicos y macroscópicos se consideran comparativamente inocuos, por lo que seguirá localizado, y es susceptible de extirpación quirúrgica local permitiendo la supervivencia del enfermo. Los tumores malignos se denominan en conjunto cáncer. El calificativo "maligno" significa que dicha neoplasia puede

invadir y destruir estructuras adyacentes y propagarse a sitios alejados para causar la muerte.¹

NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS.

Dentro de las neoplasias hematológicas los trastornos leucocitarios más importantes son las enfermedades malignas proliferativas, que incluyen:

a) linfomas, caracterizados por proliferación de células nativas dentro del tejido linfoide.

b) leucemias, que corresponden a proliferación desordenada de leucocitos.

c) disproteinosis que son trastornos de las células plasmáticas con proliferación de una sola clona de células secretoras de inmunoglobulinas, con aumento resultante de la concentración sérica de una inmunoglobulina homogénea o de sus fragmentos.

d) enfermedad de Hodgkin, que se clasifica por separado aunque en un principio se consideró una forma de linfoma.^{1,2,3,4,5}

Según datos registrados en 1987 sobre la frecuencia de los diferentes tipos de cáncer en la ciudad de México; los linfomas ocuparon el tercer lugar en frecuencia de todos los casos de cáncer, y las leucemias el sexto (Cuadro 1). Por sexo, los linfomas ocuparon el quinto lugar y las leucemias el octavo en mujeres (Cuadro 2); mientras que en los hombres, los linfomas ocuparon el segundo y las leucemias el cuarto lugar (Cuadro 3).⁶

CUADRO 1. PRINCIPALES LOCALIZACIONES ANATOMICAS Y TIPOS MORFOLOGICOS. CASOS DE CANCER REGISTRADOS DE PRIMERA VEZ EN LA CIUDAD DE MEXICO DURANTE 1987.

LOCALIZACIONES ANATOMICAS	CASOS	%
1) CERVIX UTERINO	3218	19.8
2) MAMA	1808	11.1
3) LINFOMA	834	5.1
4) PROSTATA	723	4.4
5) ESTOMAGO	668	4.1
6) LEUCEMIA	640	3.9
7) PULMON	494	3.0
8) OVARIO	435	2.7
9) TIROIDES	408	2.5
10) VEJIGA URINARIA	383	2.4
11) CUERPO DELUTERO	328	2.0
12) ENCEFALO	295	1.8
13) TEJIDO CONJUNTIVO	284	1.7
14) RECTO ANO PIEL (MELANOMA)	280	1.7
15) VESICULA Y VIAS BILIARES	268	1.6
NEOPLASIAS DE LA PIEL	1676	10.3
LAS DEMAS	2642	16.2
TUMORES NO PRECISADOS*	878	5.4
TOTAL	16262	100.0

*Este agrupamiento de tumores representa todos aquellos casos en los que no se identificó el sitio primario.

Registro Nacional del Cáncer, D.G.E./SSA.MEX.1987.

CUADRO 2. PRINCIPALES LOCALIZACIONES ANATOMICAS Y TIPOS MORFOLOGICOS. CASOS DE CANCER REGISTRADOS DE PRIMERA VEZ EN MUJERES, EN LA CIUDAD DE MEXICO DURANTE 1987

LOCALIZACIONES ANATOMICAS	CASOS	%
1) CERVIX UTERINO	3218	30.7
2) MAMA	1787	17.0
3) OVARIO	432	4.1
4) TIROIDES	350	3.3
5) LINFOMAS	339	3.2
6) CUERPO DEL UTERO	328	3.1
7) ESTOMAGO	311	3.0
8) LEUCEMIA	284	2.7
9) VESICULA Y VIAS BILIARES	203	1.9
10) PULMON	182	1.7
11) RECTO-ANO	152	1.4
12) ENCEFALO	139	1.3
13) TEJIDO CONJUNTIVO	135	1.3
14) COLON	124	1.2
15) MELANOMA	116	1.1
NEOPLASIAS DE LA PIEL	930	8.9
LAS DEMAS	947	9.0
TUMORES NO PRECISADOS*	509	4.9
TOTAL	10466	100.0

*Este agrupamiento de tumores representa todos aquellos casos en los que no se identificó el sitio primario.

Registro Nacional del Cáncer, D.G.E./SSA.MEX.1987.

CUADRO 3. PRINCIPALES LOCALIZACIONES ANATOMICAS Y TIPOS MORFOLOGICOS. CASOS DE CANCER REGISTRADOS DE PRIMERA VEZ EN HOMBRES, EN LA CIUDAD DE MEXICO EN HOMBRES.

LOCALIZACIONES ANATOMICAS	CASOS	%
1) PROSTATA	723	12.5
2) LINFOMA	495	8.6
3) ESTOMAGO	357	6.2
4) LEUCEMIA	355	6.2
5) PULMON	312	5.4
6) VEJIGA URINARIA	273	4.7
7) TESTICULO	232	4.0
8) LARINGE	217	3.8
9) ENCEFALO	155	2.7
10) TEJIDO CONJUNTIVO	148	2.6
11) RIÑON URETER	141	2.4
12) RECTO Y ANO	128	2.2
13) COLON	117	2.0
14) BOCA-ENCIA	114	2.0
15) HUESOS Y ARTICULACIONES	113	2.0
NEOPLASIAS DE LA PIEL	745	12.9
LAS DEMAS	776	13.4
TUMORES NO PRECISADOS*	369	6.4
TOTAL	5770	100.0

*Este agrupamiento de tumores representa todos aquellos casos en los que no se identificó el sitio primario.

Registro Nacional del Cáncer, D.G.E./SSA. MEX. 1987.

LINFOMAS.

Los linfomas se caracterizan por proliferación o acumulación de células originadas en el tejido linfóide; esto es; linfocitos, histiocitos o células reticulares madre. Puesto que los linfomas comparten la importancia clínica de todas las enfermedades malignas, se observa que el nombre "linfoma" aunque consagrado por el tiempo, en realidad es equivocado.^{2,4,7} Los linfomas se originan del tejido linfóide de cualquier sitio del organismo, generalmente de ganglios linfáticos y, en la mayor parte de los casos no afectan de modo difuso la médula ósea ni invaden la sangre periférica. Aunque pueden ocurrir en cualquier edad, son más frecuentes entre los 50 y los 70 años y afectan algo más a hombres que a mujeres. Algunas circunstancias se relacionan con un mayor riesgo de presentar linfoma, como son el trasplante renal, el tratamiento con fármacos inmunosupresores, las deficiencias inmunitarias congénitas, las enfermedades autoinmunitarias, e infección por algunos virus como HIV-1 y virus del Epstein -Barr.^{1,2,3}

LEUCEMIA.

Las leucemias se caracterizan por sustitución difusa de la médula ósea por leucocitos más o menos inmaduros, que por lo regular también se presentan en abundancia en la sangre circulante. Estas células pueden infiltrar hígado, bazo, ganglios linfáticos y otros tejidos, y de esta manera propagarse a órganos y tejidos de todo el organismo.^{1,4,5,7}

Las leucemias se clasifican de acuerdo a la diferenciación celular en agudas y crónicas:

- a) En las leucemias agudas, si no se provoca su remisión, suelen ser mortales

en un lapso muy corto. La médula ósea esta repleta de células primitivas, con muy pocas muestras de diferenciación.

b) Los pacientes con leucemia crónica presentan un tipo celular más diferenciado; generalmente sobreviven más de un año después del comienzo de los síntomas, si no ocurre remisión.^{1,2,4,5}

Las leucemias se clasifican también según las características citológicas. Hay dos clases principales, mieloide y linfoide. Estas además, se dividen dependiendo del nivel de diferenciación de la célula predominante.^{2,3,4}

La proliferación en la leucemia mieloide aguda se produce fundamentalmente a expensas de mieloblastos, mientras que, en la leucemia mieloide crónica (mielógena) tiene lugar apartir de células más diferenciadas (metamielocitos, mielocitos, neutrófilos) y pocos mieloblastos.⁴

En la leucemia linfode aguda, la proliferación se realiza a partir de los linfoblastos. En cambio en la leucemia linfode crónica se trata de pequeñas células linfoides inmaduras.^{4,5}

DISPROTEINEMIAS

Las disproteinemias son trastornos de las células plasmáticas que integran un grupo de enfermedades neoplásicas alines asociadas con proliferación de una sola clona de células plasmáticas que secretan un solo tipo de inmunoglobulina o de sus fragmentos, aumentando así la concentración sérica. Las disproteinemias pueden clasificarse en tres trastornos principales: 1) mieloma múltiple y sus variantes; 2) macroglobulinemia de Waldenström y 3) enfermedad de cadenas pesadas. De todas las disproteinemias el mieloma múltiple es, con mucho, la más

frecuente. Este grupo de trastornos ha sido calificado con una serie de términos sinónimos: gammapatías monoclonales, discrasias de células plasmáticas, gammapatías, inmunoglobulinopatías, paraproteinemias y disproteinemias.^{1,2,3}

ENFERMEDAD DE HODGKIN.

La enfermedad de Hodgkin (E.H.) es un padecimiento maligno con proliferación de los elementos celulares de los ganglios linfáticos. La E.H. se considera generalmente como un linfoma, pero con una histología distinta, ya que las células que reaccionan a la neoplasia predominan más que las propias células neoplásicas. La característica de la E.H. es la presencia de las llamadas células gigantes de Reed Stenberg, que son grandes, binucleadas o multinucleadas y muestra un núcleo portador de varios nucleolos. Puede iniciarse en uno o varios grupos de ganglios linfáticos: cuello, mediastino o mesenterio.^{1,2,3,4,5}

INMUNOSUPRESION.

La inmunosupresión es la ausencia de la capacidad de respuesta inmunológica. La inmunosupresión incluye todos los aspectos de la respuesta inmunitaria, sin embargo, se puede dividir en: a) falta de respuesta inmunitaria natural o tolerancia, b) falta de respuesta inmunitaria secundaria inducida artificialmente, y c) inmunosupresión inducida por enfermedad.⁶

a) La tolerancia es la incapacidad del huésped para responder a los antígenos propios.

b) La inmunosupresión inducida artificialmente puede deberse, entre otros; al uso de medicamentos citotóxicos, radiaciones y extirpación quirúrgica del tejido

linfoides.

c) En la inmunosupresión inducida por enfermedad los trastornos proliferativos que afectan las células inmunocompetentes (por ejemplo, linfomas, mieloma múltiple, leucemia) al igual que las enfermedades infecciosas crónicas (por ejemplo sífilis, tuberculosis y lepra), pueden inducir la supresión de la respuesta inmunitaria específica e inespecífica. Esta inmunosupresión resulta de la acción recíproca específica del sistema inmunitario del huésped y la enfermedad, conduciendo a la supresión de la función inmunológica normal del huésped. El proceso puede ser activo o pasivo; un organismo invasor puede producir alguna sustancia que suprime la respuesta inmunitaria del huésped o, de manera alterna, los mecanismos normales de resistencia del huésped pueden ser bloqueados.^{8,9}

En los individuos que padecen neoplasias hematológicas su sistema inmunológico se encuentran deprimido debido a la enfermedad en sí o por el tratamiento que estén recibiendo. El estado inmunológico que presentan permite que sean víctimas de infecciones oportunistas, por ejemplo por citomegalovirus.^{8,9,10}

CITOMEGALOVIRUS.

El citomegalovirus (CMV) humano forma parte de la familia Herpesviridae, es llamado así, por el gran tamaño de las inclusiones basófilas características que producen en el núcleo y citoplasma de las células de las glándulas salivales y de las vísceras infectadas, éstas células además se encuentran dilatadas, de ahí que a la infección también se le conoce como enfermedad de las inclusiones citomegálicas.^{10,11,12,13,14}

Normalmente, el huésped adquiere una infección latente. El CMV pueden transmitirse al feto durante el embarazo o al niño durante el nacimiento. El niño infectado en forma congénita es generalmente portador del virus durante muchos meses, abarcando las consecuencias patológicas desde una enfermedad inadvertida hasta grave daño al sistema nervioso central.^{12,13} La infección primaria en el adulto puede ser asintomática o puede producir varios síndromes como mononucleosis por CMV, hepatitis o neumonitis. En el paciente bajo inmunosupresión, las consecuencias clínicas de infección primaria o de la reactivación de un virus latente constituye amenaza para la vida.^{10,13}

La infección activa por CMV se puede comprobar solo a partir de pruebas serológicas y se debe confirmar por aislamiento del virus.^{10,12,13,15}

CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS DEL VIRUS.

Las partículas virales del CMV son morfológicamente indistinguibles de los demás miembros de la familia, las cuales consisten en un centro que contiene ácido desoxirribonucleico de doble cadena una cápside icosaédrica y una envoltura circundante. El CMV es inactivado por numerosos tratamientos físicos y químicos, incluyendo calor (56°C durante 30 min), pH ácido, éter y ciclos de congelación y descongelación. En fibroblastos humanos infectados, las partículas virales se sintetizan en el núcleo. La envoltura del virus deriva de la membrana nuclear interna. El ciclo del crecimiento del virus es más lento y el virus infectante está más asociado a las células que el Herpes simple.^{10,12,13}

PATOGENESIS.

Las infecciones por CMV pueden clasificarse en adquiridas antes del nacimiento (congénitas), en el momento del parto (perinatales) y después del nacimiento (posnatales).^{11,13}

Las infecciones por CMV se han detectado en el 0.5 a 2.5% de recién nacidos en los E.U.A. y es la causa identificada más común de infección congénita. Menos del 5% de los niños infectados presentan síntomas durante el período neonatal. Los lactantes sintomáticos pueden morir de complicaciones en los primeros meses de vida, más comúnmente sobreviven pero con daños neurológicos.^{10,12,16}

Los recién nacidos también pueden adquirir la infección en el momento del parto por contacto con el virus en el canal natal. Estos niños comienzan a excretar virus entre las 3 y las 12 semanas de edad, pero siguen siendo asintomáticos. Hasta ahora parece ser que estos niños infectados perinatalmente no presentan secuelas tardías de la infección.^{10,11,12,13,14}

Casi todas las infecciones posnatales se adquieren presumiblemente por estrecho contacto con individuos que están desprendiendo virus. Como se ha detectado CMV en varios líquidos corporales, como saliva, orina, leche de mama, secreciones cervicales y semen, la transmisión puede hacerse probablemente en varias formas, incluso por vía venérea. La excreción prolongada de virus después de infección por CMV congénita o adquirida contribuye probablemente a la facilidad de la transmisión del virus. Además puede transmitirse CMV como resultado de ciertos procedimientos médicos, particularmente transfusión sanguínea y trasplante de órganos.^{17,18,19,20,21,22,23,24,25,26}

La gran mayoría de los niños y adultos que adquieren infección por CMV

posnatalmente siguen siendo asintomáticos. Se han descrito trombocitopenia y hepatoesplenomegalia en recién nacidos prematuros de alto riesgo infectados a consecuencia de trastornos de sangre. Una enfermedad tipo mononucleosis con fiebre, letargo y linfocitosis atípica puede producirse principalmente en adultos jóvenes.^{10,11,12,13,27,28,29}

DIAGNOSTICO

El CMV puede aislarse de diversos líquidos corporales, pero la orina y los lavados de garganta son los más útiles para fines diagnósticos. En la evaluación de los pacientes inmunosuprimidos, los cultivos recubiertos con buffer son útiles porque en algunos casos la detección de CMV en leucocitos es mejor indicador de infección sintomática por CMV que la excreción de virus en orina o garganta. Las muestras de biopsia y autopsia también pueden procesarse para aislamiento del virus.^{10,13} Como las preparaciones de CMV pierden títulos cuando se someten a congelación y descongelación, las muestras deben conservarse a 4 °C hasta que puedan usarse para inocular cultivos, preferiblemente pocas horas después de su recolección. Si es necesario guardarlas congeladas, un volumen igual de sorbitol 70% agregado a la muestra ayuda a preservar la infectividad vírica. Los fibroblastos humanos favorecen más el crecimiento de CMV y por eso se usan con fines diagnóstico.^{10,12,13,14}

DIAGNOSTICO SEROLOGICO.

Entre los métodos inmunológicos que permiten la detección de anticuerpos contra CMV en el suero de los pacientes se encuentran el inmunoensayo

enzimático (ELISA), radioinmunoensayo (RIA), inmunofluorescencia, fijación del complemento y neutralización. La ELISA y el RIA son los métodos más sensibles.^{30,31,32,33,34,35,36,37,38,39}

Las muestras individuales de suero son útiles para los estudios seroepidemiológicos, pero tienen poco valor para el diagnóstico de infección reciente por CMV; en lo posible deben obtenerse sueros apareados a un intervalo de dos semanas, por lo menos, o muestras seriadas.^{13,30,31} Si se sospecha infección congénita, deben entregarse sueros de madre e hijo. Si el suero inicial es negativo para anticuerpos contra CMV y si el segundo suero es positivo, es posible hacer diagnóstico de infección primaria. Si un suero de la primera etapa de la enfermedad contiene anticuerpos contra CMV y una segunda muestra tomada varias semanas después muestra un aumento cuádruple o mayor del título, puede hacerse un diagnóstico de infección reciente debida a reactivación o reinfección. Los descensos cuádruples del título se observan raras veces lo bastante temprano para que puedan ser útiles en el diagnóstico de laboratorio, pues los niveles de anticuerpos tienden a declinar lentamente durante varios meses después de la infección. Si los sueros agudos y convalescentes son positivos para anticuerpos contra CMV, pero el título de anticuerpos no cambió, puede hacerse un diagnóstico de infección por CMV en algún momento anterior. Si los títulos de los sueros positivos son altos y si el primer ejemplar se obtuvo en una etapa posterior de la enfermedad, los resultados pueden indicar infección activa y deben obtenerse muestras apropiadas para aislamiento del virus.^{10,11,13}

En lo posible, los diagnósticos serológicos de infección por CMV deben confirmarse con el aislamiento de virus, particularmente debido a que las

fluctuaciones cuádruples de títulos de anticuerpos fijadores de complemento se han observado en algunos individuos seropositivos aparentemente sanos.^{10,13}

EPIDEMIOLOGIA.

El CMV se encuentra distribuido mundialmente. Existen reportes de prevalencia de anticuerpos en varias partes del mundo con porcentajes del 30 al 100% de la población, aunque generalmente sin síntomas clínicos.⁴⁰

Los mecanismos más frecuentes de transmisión del virus son; el transplacentario y las transfusiones sanguíneas, además de transmisión entre individuos a través de secreciones respiratorias, de la orina y por contacto sexual.^{10,13,40}

INFECCION EN INMUNOSUPRIMIDOS.

EL CMV infecta tanto a personas sanas como a Inmunosuprimidos. La patogénesis de la infección en el huésped Inmunosuprimido es compleja, la infección puede ocurrir después de la exposición al virus en productos sanguíneos o de otras fuentes. El virus puede ser transmitido en el aloinjerto de órganos (por ejemplo, riñón, corazón o médula ósea) o ser reactivado a partir de un estado latente dentro del paciente.³

La infección se presenta en pacientes con leucemia o linfoma, tumores sólidos, hipogammaglobulemia, anemia crónica o insuficiencia renal, así como después de un tratamiento Inmunosupresor o citotóxico para otras enfermedades o para un trasplante de órgano.^{2,3}

La neumonía por CMV puede ocurrir en cualquier paciente inmunosuprimido,

aunque ha sido más prominente después del trasplante alogénico de médula para la leucemia, ocurriendo en cerca de 20% de esos pacientes.^{1,2,3}

FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.

La infección por Citomegalovirus (CMV), particularmente cuando se asocia con neumonía, es la causa más importante de morbilidad y mortalidad después del trasplante de médula ósea.²⁴ Estudios seroepidemiológicos de infección por CMV, muestran valores altos de prevalencia de anticuerpos contra el virus en los países del Tercer Mundo; sin embargo se observan variaciones significativas en la prevalencia de la infección en diferentes regiones dentro de un mismo país. Así también, la prevalencia de anticuerpos varía proporcionalmente con la edad de los individuos e inversamente conforme al nivel socioeconómico.⁴¹

Las infecciones por CMV son extensas y generalmente asintomáticas, pero la frecuencia y el espectro de la enfermedad en recién nacidos y en individuos inmunosuprimidos establecen a este virus como un patógeno importante en humanos. La infección por CMV, puede deberse a infección primaria, reactivación de virus latente o reinfección por virus exógeno.²³ Las infecciones por CMV son frecuentes y ocasionalmente severas en niños o adultos con defectos en su inmunidad celular, congénitos o adquiridos; esto incluye a los pacientes con cáncer, particularmente leucemia y linfoma, y a los receptores de trasplantes de órganos.²⁷ La transmisión de infección por CMV a través de la transfusión de productos sanguíneos se ha incrementado en los últimos años.^{23,27}

El riesgo de adquirir la infección por CMV después de trasplante de médula ósea aumenta en receptores seronegativos que recibieron la médula ósea de un donador seropositivo.^{42,43} Es recomendable suministrar productos sanguíneos seronegativos a CMV, a pacientes inmunosuprimidos y también seronegativos al

virus, a fin de reducir el riesgo de una posible infección.⁴⁴

En el Instituto Nacional de Cancerología es necesario conocer los datos de prevalencia de seropositividad a CMV en sus pacientes, principalmente en los que padecen algún tipo de neoplasia hematológica, debido a que las infecciones oportunistas (por ejemplo por CMV) son frecuentes y pueden ser graves en estos pacientes. Además, algunos de ellos son candidatos a trasplante de médula ósea, y en estos casos es necesario conocer la seropositividad o seronegatividad al virus tanto del receptor como del donador, para tomar las medidas preventivas adecuadas y efectuar trasplantes de médula ósea con éxito.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

No existen en México estudios que determinen la prevalencia de seropositividad a Citomegalovirus (CMV) en población abierta. En otros países se cuenta con información al respecto, pero los valores obtenidos corresponden solamente a sus poblaciones.

Resulta entonces necesario contar con los datos de prevalencia de seropositividad a CMV en la población mexicana. Sobre todo en algunos grupos humanos donde las infecciones por CMV son de importancia; por ejemplo, en pacientes con defectos congénitos o adquiridos de inmunidad celular (enfermos con cáncer, especialmente, leucemias y linfomas).

Las infecciones oportunistas (como la de CMV) son frecuentes en pacientes que padecen neoplasias hematológicas. Por ello, para el INCan resulta necesario contar con datos que determinen la prevalencia de seropositividad a CMV en sus pacientes. Algunos de ellos son candidatos a trasplante de médula ósea por lo que será necesario tomar las medidas preventivas adecuadas para efectuar dichos trasplantes con éxito. Por ende, en estos casos, es necesario conocer la seropositividad o seronegatividad al CMV tanto del receptor como del donador.

OBJETIVOS

1.- Comparar la prevalencia de seropositividad a CMV en individuos inmunosuprimidos con respecto a individuos sanos.

2.- Establecer la prevalencia de seropositividad a CMV en:

***pacientes que presenten alguna neoplasia hematológica, de nuevo ingreso al servicio de Hematología del INCAn.**

***pacientes que presenten alguna neoplasia hematológica, que recibieron atención médica en el servicio de Hematología del INCAn.**

***pacientes que ingresaron a otros servicio del INCAn.**

***donadores de sangre.**

3.- Relacionar factores demográficos (nivel socio-económico, hacinamiento, edad, sexo) y de diagnóstico, con la prevalencia de seropositividad a CMV.

HIPOTESIS DE TRABAJO.

La infección por Citomegalovirus (CMV), se favorece en individuos con malas condiciones de higiene y que viven en hacinamiento, también en personas con inmunidad deficiente y en aquellos que han recibido transfusiones sanguíneas. Al aumentar la edad del individuo aumentan sus posibilidades de exposición a CMV y por lo tanto de la infección.

Los pacientes del servicio de Hematología del Instituto Nacional de Cancerología (INCan) son individuos que se encuentran inmunosuprimidos, que a través de su tratamiento han recibido transfusiones sanguíneas y muchos de ellos son de nivel socio-económico bajo. Por estas razones, se establece la hipótesis que la prevalencia de seropositividad a CMV debe ser alta en el grupo de individuos que recibieron atención médica en el servicio de Hematología del INCan, así como en el grupo de pacientes de nuevo ingreso a otros servicios. Debido a que los donadores de sangre son personas sanas y jóvenes, la prevalencia de seropositividad a CMV, debe ser menor en comparación con los otros grupos del estudio.

MATERIAL BIOLÓGICO

Se obtuvo una muestra de suero a 220 individuos (116 hombres y 104 mujeres); las cuales fueron colectadas durante el periodo de noviembre de 1990 a abril de 1991. La población de estudio estuvo formada tanto por donadores de sangre como por pacientes con algún tipo de cáncer, agrupados de la siguiente manera:

A) 120 pacientes que recibieron atención médica en el servicio de Hematología en el INCAN, divididos en dos grupos;

- * 20 pacientes de nuevo ingreso al servicio,
- * 100 pacientes que ya recibían atención médica;

B) dos grupos testigos,

- * 50 donadores que acudieron al Banco de Sangre del INCAN;
- * 50 pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCAN.

MATERIAL

- 1.- Tubos de ensayo de 75 mm X 12mm.
- 2.- Placas de reacción (20 cavidades por placa).
- 3.- Folios adhesivos.
- 4.- Gradillas.
- 5.- Puntas para micropipeta de 1 a 20 μ l.
- 6.- Puntas para micropipeta de 100 a 1000 μ l.
- 7.- Puntas para micropipeta de 20 a 200 μ l.
- 8.- Fórceps no metálico.
- 9.- Matraz erlen meyer de 50 ml.
- 10.- Gasa.

EQUIPO:

- 1.- Baño María.
- 2.- Sistema para administrar la solución de lavado (bomba de distribución Gorman-Rupp, # de lista 8962-02)
- 3.- Sistema de aspiración para el lavado de esferas. (Pentawash II).
- 4.- Bomba de vacío Gast.
- 5.- Trampa para retener el aspirado.
- 6.- Espectrofotómetro. (Quantum II de Abbott).
- 7.- Pipeta automática Gilson de 1 a 20 μ l.
- 8.- Pipeta automática Gilson de 20 a 200 μ l.
- 9.- Pipeta automática Gilson de 100 a 1000 μ l.

REACTIVOS:

Equipo comercial (kit). Inmunoensayo enzimático para la detección de anticuerpos contra el Citomegalovirus (CMV). en suero, plasma o sangre humana. (ABOTT CMV TOTAL AB EIA); conteniendo los siguientes reactivos por cada kit de 100 pruebas:

- 1.- 100 esferas recubiertas de antígeno CMV.
- 2.- Un frasco (20 ml) de conjugado enzimático CMV Total AB EIA. Anticuerpo contra la inmunoglobulina humana (cabra); peroxidasa (rábano). Concentración mínima: 20 ng/ml en estabilizadores de proteína con agentes antimicrobianos.
- 3.- Un frasco (6 ml) de control positivo CMV total AB EIA. Suero humano en estabilizadores de proteínas con agentes antimicrobianos.

- 4.- Un frasco (10 ml) de control negativo CMV total AB EIA. Suero humano en estabilizadores de proteínas con agentes antimicrobianos.
- 5.- Un frasco (20 ml) de tampón de dilución de muestras CMV total AB EIA. Suero de ternera tamponado, con agentes antimicrobianos.
- 6.- Una botella con tabletas (20) de OPD (o-fenilendiamina 2 HCl); 12.8 mg OPD en cada tableta.
- 7.- Una botella con diluyente (110 ml) para OPD (o-fenilendiamina 2 HCl). Tampón de citratos-fosfatos que contiene 0.02% de peróxido de hidrógeno.
- 8.- Una botella con ácido sulfúrico 1N (110ml).

METODOLOGIA.

Para determinar la prevalencia de seropositividad a CMV en pacientes con neoplasias hematológicas del INCan, se analizaron 220 muestras de suero de igual número de individuos, las cuales fueron colectadas durante el periodo de noviembre de 1990 a abril de 1991; se almacenaron a -20°C hasta ser analizadas utilizando la técnica del inmunoensayo enzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos totales contra CMV.

TECNICA: ELISA

Para la detección de anticuerpos contra el Citomegalovirus (CMV) en suero humano, se utilizó el método inmunoensayo enzimático (ELISA), utilizando equipos comerciales (kits), de los laboratorios Abbott.

- 1.- Pipetear 200 μl de cada control en las cavidades apropiadas de la placa de reacción (3 controles negativos; 2 controles positivos).
- 2.- Pipetear 10 μl de la muestra a analizar en la cavidad apropiada de la placa de reacción.
- 3.- Agregar 200 μl de tampón de dilución de muestra a las cavidades que contengan la muestra a analizar. No se agrega el tampón de dilución de muestras dentro de las cavidades que contengan los controles.
- 4.- Golpear ligeramente las placas.
- 5.- Agregar una esfera recubierta con el antígeno de CMV a cada cavidad que contenga un control o una muestra a analizar.

- 6.- Cubrir con un folio adhesivo; golpear las placas ligeramente.
- 7.- Incubar 60 +/- 5 minutos en baño María a 40^o +/- 2^oC.
- 8.- Quitar el folio adhesivo; lavar cada esfera 3 veces con agua destilada o desionizada.
- 9.- Agregar 200 µl de conjugado enzimático a cada cavidad de reacción.
- 10.- Cubrir con un nuevo folio adhesivo; golpear ligeramente las placas.
- 11.- Incubar 30 +/- 2 minutos en baño María a 40^o +/- 2^oC.
- 12.- Durante los últimos 5 a 10 minutos de la incubación preparar la solución de sustrato de OPD (una tableta de o-fenilendiamina 2 HCl en 5 ml de tampón de citratos-fosfatos que contiene 0.02% de peróxido de hidrógeno, por cada 14 pruebas a realizar).
- 13.- Quitar el folio adhesivo; lavar cada esfera 3 veces con agua destilada o desionizada.
- 14.- Transferir inmediatamente las esferas a los tubos de ensayo.
- 15.- Agregar 300 µl de solución de sustrato de OPD a cada tubo de ensayo y a un tubo vacío (blanco de sustrato).
- 16.- Colocar los tubos de ensayo en oscuridad e incubar 30 +/-2 minutos a temperatura ambiente.
- 17.- Agregar 1 ml de ácido sulfúrico 1N a cada tubo de ensayo.
- 18.- Ajustar el cero del espectrofotómetro con el blanco de sustrato a 492 nm.
- 19.- Determinar la absorción de los controles y de las muestras a analizar a 492 nm.
- 20.- Calcular el promedio de las lecturas de los controles negativos (N) (deberá ser menor o igual a 0.080).

- 21.- Calcular el promedio de las lecturas de los controles positivos (P).
- 22.- Calcular el valor de la resta del promedio de los controles positivos menos el promedio de los controles negativos (P-N), el cual deberá ser igual o mayor que 0.600.
- 23.- Calcular el valor límite agregando el factor 0.075 al promedio de las lecturas de los controles negativos.
- 24.- Las muestras analizadas con valores de absorción iguales o mayores que el valor límite son reactivas por el ensayo y pueden considerarse positivas para el anticuerpo CMV. Las muestras analizadas con valores de absorción menores que el valor límite no son reactivas y pueden considerarse negativas para el anticuerpo CMV. Las muestras analizadas con valores de absorción dentro del 10% por debajo del valor límite deberán considerarse sospechosas para la presencia de anticuerpos CMV y deberán reanalizarse para confirmar los resultados iniciales.

Con los resultados de seropositividad a CMV, se obtuvieron datos de prevalencia para los grupos estudiados. También se analizaron los resultados de seropositividad a CMV en todos los individuos estudiados, considerando como variables; edad, sexo, nivel socio-económico, hacinamiento y diagnóstico; para buscar alguna asociación de estos factores con la prevalencia de seropositividad a CMV.

Diferencias entre los grupos de estudio fueron evaluadas a través de tablas de contingencia con prueba de χ^2 . Valores de p iguales o menores a 0.05 fueron considerados estadísticamente significativos.

REACCION:

1.- Esfera recubierta con antígeno de CMV



2.- Añadir suero

Anticuerpos contra CMV presentes, se unen al antígeno adherido a la esfera.

Incubar

Lavar

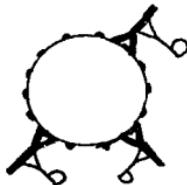


3.- Añadir conjugado enzimático (inmunoglobulina anti-humana, marcada con la enzima peroxidasa HRPO)

El conjugado enzimático se une al complejo antígeno-anticuerpo adherido a la esfera

Incubar

Lavar



4.- Agregar sustrato (solución de o-fenilendiamina conteniendo peróxido de hidrógeno)

Incubar

Aparece un color amarillo-naranja con una intensidad proporcional a la cantidad de anticuerpo contra CMV unido a la esfera.



5.- La reacción enzimática es detenida por la adición de ácido. La intensidad de color es determinada a través del espectrofotómetro.

RESULTADOS

Se analizaron 220 muestras de suero por el método de ELISA para la detección de anticuerpos totales contra el CMV. La población estudiada estuvo formada por los siguientes grupos: a) 20 pacientes de primer ingreso al servicio de Hematología del INCan, b) 100 pacientes de la consulta externa del mismo servicio, c) 50 pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCan y d) 50 donadores de sangre.

De acuerdo al sexo, se encontró aproximadamente el mismo número de hombres que de mujeres en los dos grupos de pacientes del servicio de Hematología, en tanto que hubo más mujeres en el grupo de nuevos ingresos a otros servicios y más hombres en el grupo de donadores. (Cuadro 1).

El rango de edad en la población estudiada, fue de 16-91 con una media de 44 años. El promedio más bajo fue para el grupo de donadores con 31 años, mientras que el más alto fue para los pacientes de la consulta externa del servicio de Hematología con 52 años. (Cuadro 2).

El resultado de las pruebas de ELISA, realizadas a cada muestra de suero, es cualitativo y clasifica al suero como negativo o positivo. Con los resultados se determinó la seroprevalencia a CMV a cada uno de los grupos: a) pacientes de primer ingreso al servicio de Hematología del INCan, b) pacientes de la consulta externa del mismo servicio, c) pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCan y d) donadores de sangre. La seroprevalencia fue de 85, 95, 94 y 88 % respectivamente (Cuadro 3). Los resultados fueron evaluados a través de tablas de contingencia con prueba de χ^2 y no fueron estadísticamente significativos. (Tabla 1).

La seroprevalencia de CMV fue muy alta en ambos sexos 96% mujeres y 89% hombres (Fig. 1). Los resultados también fueron evaluados a través de tablas de contingencia con prueba de χ^2 y no fueron estadísticamente significativos (Tabla 2).

Se dividió a los pacientes en tres grupos de edad; el primero de 16-25 años, el segundo de 26-45 años y el tercero mayores de 45 años, las seroprevalencias fueron 65.1, 97.4 y 100% (Fig. 2). En el análisis estadístico los resultados fueron significativos ($p < 0.0001$, Tabla 3). También se subdividió la población de estudio de acuerdo al rango de edad y al grupo de pacientes (del servicio de Hematología, de otros servicios y los donadores de sangre) (Fig. 2.1). Sin embargo el análisis estadístico de los resultados fue igualmente significativo para cada una de las subdivisiones (Tablas 3.1,3.2,3.3).

También se agrupó la población de estudio de acuerdo a su nivel socio-económico, para lo cual se dividieron a los pacientes en tres niveles: bajo, medio y alto (de acuerdo a las clasificaciones del estudio socio-económico que realiza el departamento de Trabajo Social del INCan a los pacientes), encontrando seroprevalencia mayor al 90 % en todos los niveles (Fig.3). Estos resultados no mostraron diferencia significativa. (Tabla 4).

En cuanto al hacinamiento de la población, tres grupos se dividieron de acuerdo al número de personas con las que cohabitaba el paciente; el primero de 1-3, el segundo de 4-6, el tercero de 7 o más personas. En todos los grupos la seroprevalencia fue mayor del 90% (Fig. 4); y no hubo diferencia estadísticamente significativa. (Tabla 5).

La población considerada, al analizar la presencia de anticuerpos totales

contra el CMV, de acuerdo al hacinamiento y al nivel socioeconómico del paciente fue de 170 porque no se incluyó el grupo de donadores de sangre por no contar con estos datos.

De acuerdo al diagnóstico, la población estudiada se dividió en seis grupos: 1) donadores de sangre, 2) leucemia, 3) linfoma no Hodgkin (LNH), 4) enfermedad de Hodgkin (E.H.), 5) mieloma múltiple, 6) otros tumores. La seroprevalencia fue mayor de 85 % en todos los grupos (Fig. 5). Los resultados no mostraron diferencia estadísticamente significativa (Tabla 6).

CUADRO 1. DISTRIBUCION DE LOS PACIENTES DE ACUERDO AL SEXO EN LOS GRUPOS.

GRUPO	Número de Casos	SEXO			
		Femenino		Masculino	
		# casos	(%)	# casos	(%)
Pacientes de ingreso al servicio de Hematología del INCan.	20	12	(60)	8	(40)
Pacientes de consulta externa del servicio de Hematología del INCan.	100	49	(49)	51	(51)
Pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCan.	50	37	(74)	13	(26)
Donadores de sangre	50	6	(12)	44	(88)
TOTAL	220	104	(47)	116	(53)

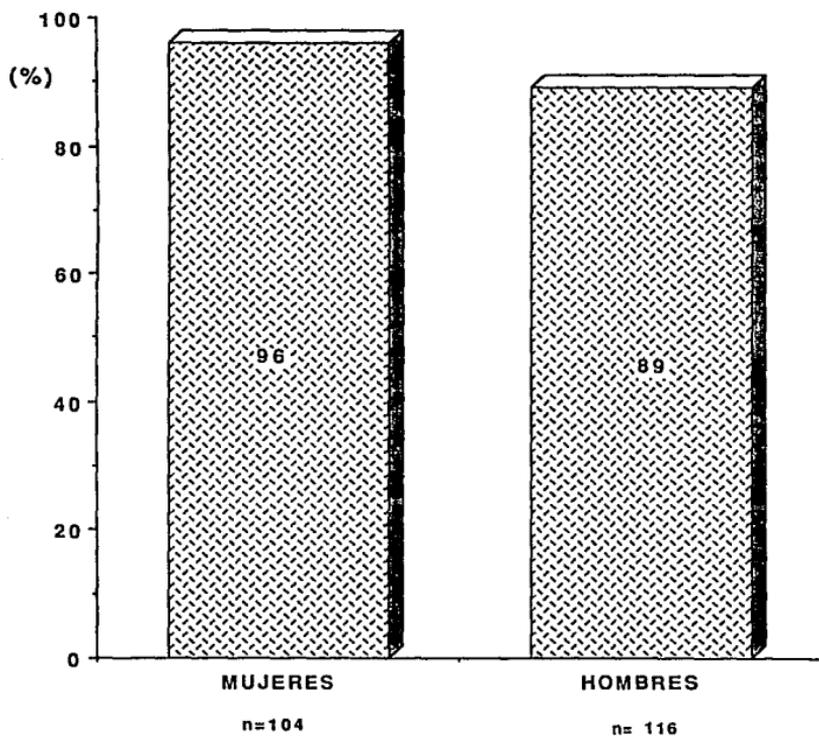
CUADRO 2. PROMEDIO DE EDAD EN LOS GRUPOS

GRUPO	Núm. Casos	EDAD promedio	(años) (mínimo máximo)	
Pacientes de ingreso al servicio de Hematología del INCan.	20	52	(18	91)
Pacientes de consulta externa del servicio de Hematología del INCan.	100	47	(16	85)
Pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCan.	50	49	(19	86)
Donadores de sangre	50	31	(19	49)
TOTAL	220	44	(16	91)

CUADRO 3. PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD A CMV POR GRUPO

GRUPO	# de Casos Total	# de Casos Positivos	(%)
Pacientes de ingreso al servicio de Hematología del INCan.	20	17	85
Pacientes de consulta externa del servicio de Hematología del INCan.	100	95	95
Pacientes de nuevo ingreso a otros servicios del INCan.	50	47	94
Donadores de sangre	50	44	88
TOTAL	220	203	92

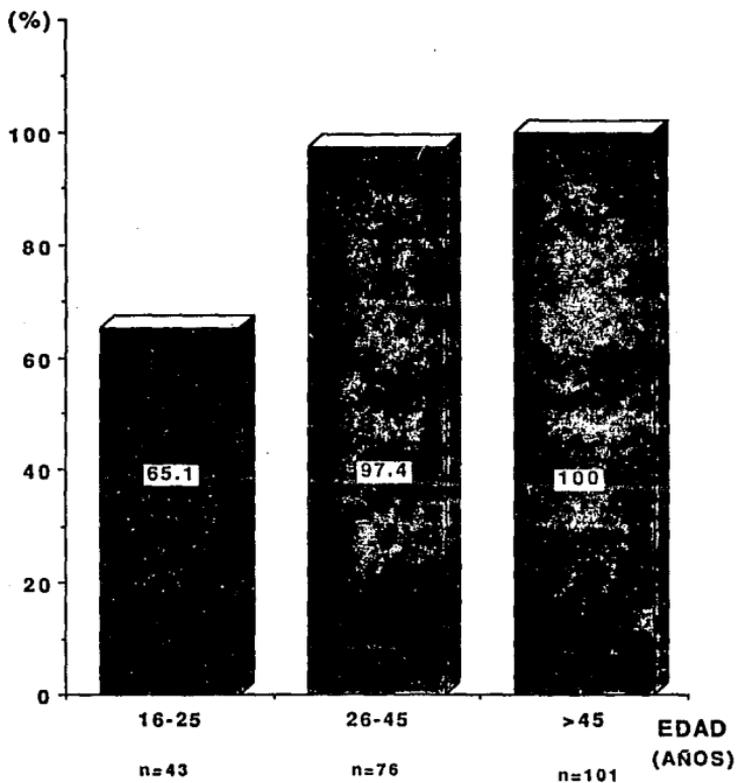
**FIG.1 PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
A CMV POR SEXO**



TOTAL DE MUESTRAS 220

SEXO

**FIG.2 PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
A CMV POR GRUPO DE EDAD**



TOTAL DE MUESTRAS 220

**Fig2.1PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
A CMV POR GRUPO DE EDAD**

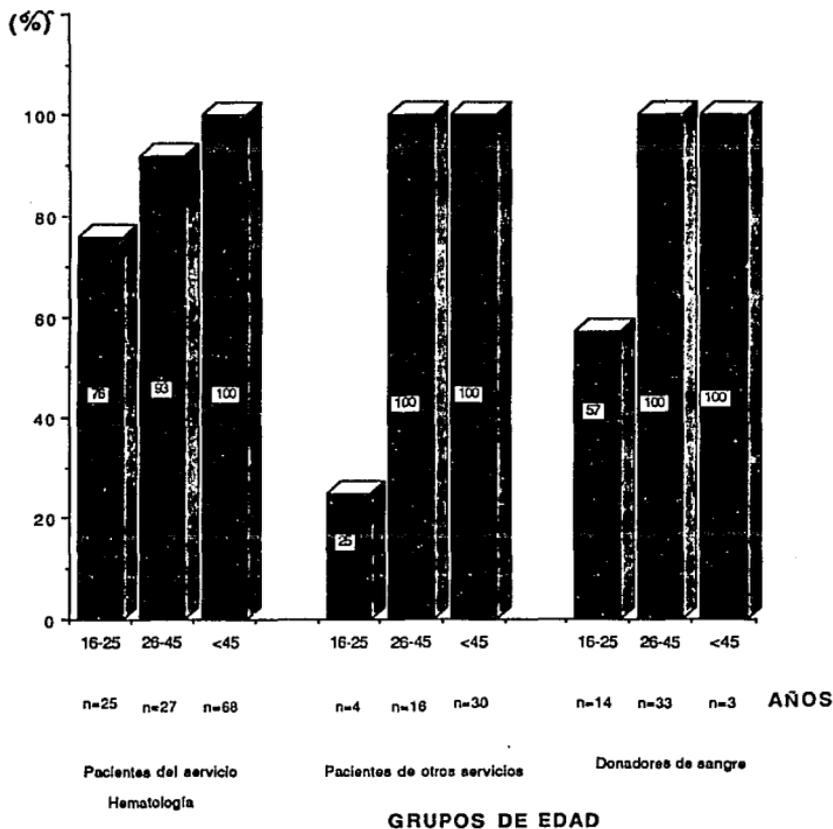
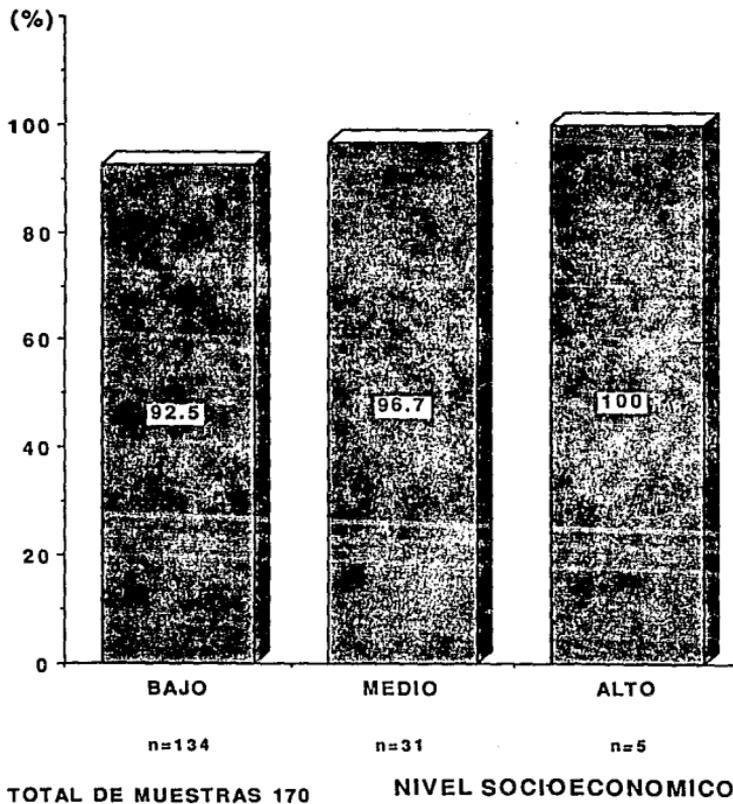
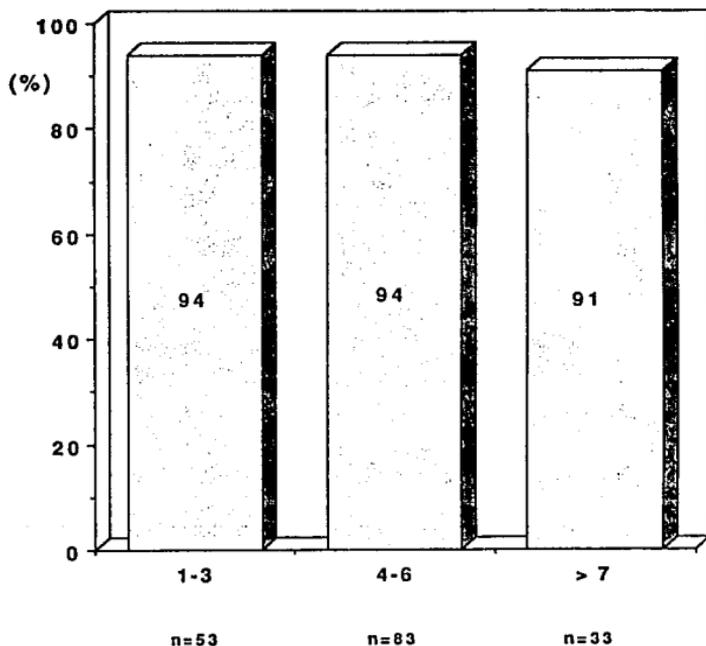


FIG.3 PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD A CMV POR NIVEL SOCIOECONOMICO



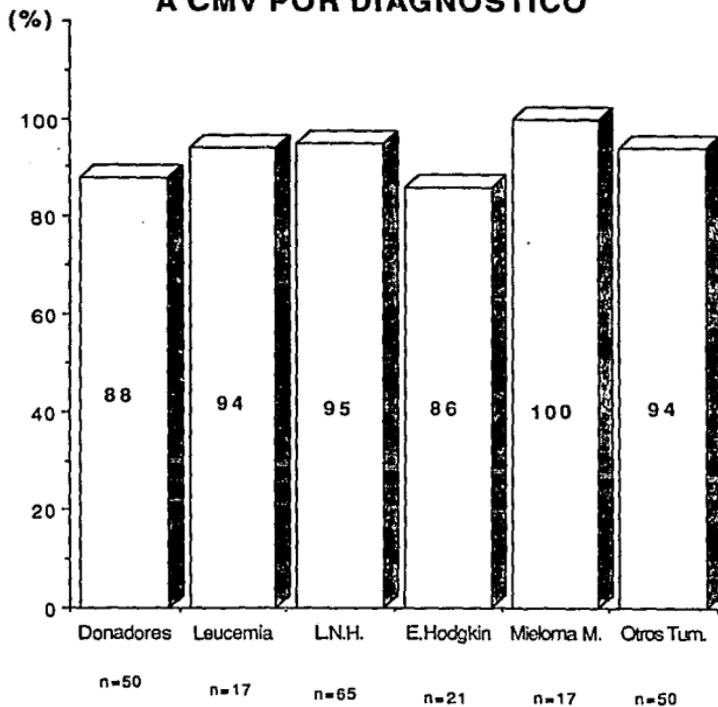
**FIG.4 PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
A CMV POR HACINAMIENTO**



TOTAL DE MUESTRAS =170

**No. PERSONAS CON
LAS QUE COHABITA**

**FIG.5 PREVALENCIA DE SEROPOSITIVIDAD
A CMV POR DIAGNOSTICO**



TOTAL DE MUESTRAS 220

DIAGNOSTICO

TABLAS DE CONTINGENCIA.

TABLA 1. CMV CUALITATIVO X GRUPO

	GRUPO				TOTALES
	I	II	III	IV	
NEGATIVO	3	5	3	6	17
POSITIVO	17	95	47	44	203
TOTALES	20	100	50	50	220

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 4.02$$

$$p = 0.26$$

$p < 0.05$ es significativa.

GRUPO

- I Pacientes de nuevo ingreso al servicio de linfomas y leucemias.
- II Pacientes de consulta externa del servicio de linfomas y leucemias.
- III Pacientes de nuevo ingreso a otros servicios.
- IV Donadores de sangre.

TABLA 2. CMV CUALITATIVO X SEXO

	MUJERES	HOMBRES	TOTALES
NEGATIVO	4	13	17
POSITIVO	100	103	203
TOTALES	104	116	220

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 3.19$$

$$p = 0.074$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 3. CMV CUALITATIVO X EDAD

	AÑOS			TOTALES
	16-25	26-45	>45	
NEGATIVO	15	2	0	17
POSITIVO	28	74	101	203
TOTALES	43	76	101	220

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 55.69$$

$$p < 0.0001$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 3.1 CMV CUALITATIVO X EDAD. (Pacientes del servicio de Hematología del INCan).

	AOS			TOTALES
	16-25	26-45	>45	
NEGATIVO	6	2	0	8
POSITIVO	19	25	68	112
TOTALES	25	27	68	120

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 16.95$$

$$p < 0.0001$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 3.2 CMV CUALITATIVO X EDAD. (Pacientes de ingreso a otros servicios del INCan)

	AOS			TOTALES
	16-25	26-45	>45	
NEGATIVO	3	0	0	3
POSITIVO	1	16	30	47
TOTALES	4	16	30	50

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 36.70$$

$$p < 0.0001$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 3.3 CMV CUALITATIVO X EDAD. (Donadores de sangre)

	AÑOS			TOTALES
	16-25	26-45	>45	
NEGATIVO	6	0	0	6
POSITIVO	8	33	3	44
TOTALES	14	33	3	50

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 17.50$$

$$p = 0.0001$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 4. CMV CUALITATIVO X NIVEL SOCIOECONOMICO

	BAJO	MEDIO	ALTO	TOTALES
NEGATIVO	10	1	0	11
POSITIVO	124	30	5	159
TOTALES	134	31	5	170

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 4.17$$

$$p = 0.41$$

p < 0.05 es significativa.

TABLA 5. CMV CUALITATIVO X HACINAMIENTO

	# PERSONAS				TOTALES
	1-3	4-6	7-9	10-12	
NEGATIVO	3	5	3	0	11
POSITIVO	50	78	27	4	159
TOTALES	53	83	30	4	170

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 1.27$$

$$p = 0.737$$

$p < 0.05$ es significativa.

TABLA 6. CMV CUALITATIVO X DIAGNOSTICO

	DIAGNOSTICO						TOTAL
	1	2	3	4	5	6	
NEGATIVO	6	1	4	3	0	3	17
POSITIVO	44	16	61	18	17	47	203
TOTALES	50	17	65	21	17	50	220

SUMARIO DE ESTADISTICAS

$$\chi^2 = 5.28$$

$$p = 0.625$$

$p < 0.05$ es significativa.

DIAGNOSTICO:

DONADORES	1
LEUCEMIAS	2
LINFOMAS NO HODGKIN	3
ENFERMEDAD DE HODGKIN	4
MIELOMA MULTIPLE	5
OTROS TUMORES	6

DISCUSION

Para determinar la prevalencia de anticuerpos contra CMV en una población determinada, es suficiente con realizarle el análisis a una muestra única de suero de cada uno de los individuos que conforman a la población estudiada.¹³ Por lo que en el presente trabajo se siguió este procedimiento.

De las técnicas inmunológicas que existen en la actualidad, para realizar la detección de anticuerpos contra CMV en suero, las que presentan mayor sensibilidad son el radioinmunoanálisis (RIA) y el inmunoensayo enzimático (ELISA).^{30,31,37} La técnica de ELISA presenta la ventaja adicional de que no se maneja radiactividad en su realización; además existen equipos comerciales (kits) que facilitan la realización del análisis. Por estas razones se eligió la técnica de ELISA para la realización del presente trabajo, utilizando un equipo comercial que permite detectar la presencia de anticuerpos totales contra el CMV en el suero humano. Los resultados se obtienen a través las lecturas de la absorbancia de cada muestra analizada y de los controles.

Los resultados de seropositividad a CMV, fueron muy altos en los cuatro grupos estudiados (donadores de sangre, pacientes de nuevo ingreso al servicio de Hematología, pacientes que ya recibían atención médica en el mismo servicio y pacientes de nuevo ingreso a otros servicio) y no hubo una diferencia estadísticamente significativa. Lo cual permite sugerir que no existe un factor que se relacione con el incremento de la seroprevalencia a CMV en individuos inmunosuprimidos que padezcan alguna neoplasia hematológica, u otro tipo de cáncer, con respecto de las personas sanas. Además el observar que tampoco

hubo diferencia significativa de la seropositividad a CMV en aquellos pacientes de nuevo ingreso al servicio de leucemias y linfomas y los que ya recibían atención médica en el mismo servicio, indica que tampoco se observó que el recibir tratamiento (medicamentos inmunosupresores, transfusiones sanguíneas, etc) se asocie con el incremento de la seroprevalencia al CMV.

De los factores demográficos estudiados, (sexo, edad, nivel socioeconómico, hacinamiento) y de diagnóstico, el único que presento diferencia estadísticamente significativa fue la edad, observando que a mayor edad de la población de estudio, mayor la seroprevalencia a CMV, alcanzando el 100% después de los 45 años. Esta relación ha sido también observada por varios autores.^{23,30,34} Para obtener mayor información sobre una posible relación de la edad con la seroprevalencia a CMV, se dividió la población de estudio por rango de edad y por grupo (pacientes del servicio de hematología, pacientes de otros servicios y donadores de sangre), con el propósito de observar si algún grupo influía de manera significativa en los resultados de la seroprevalencia. Sin embargo en los tres grupos se observaron valores similares entre sí y por lo tanto también con el resultado global, lo que nos indica que realmente puede existir un factor que asocia a la edad con la prevalencia de anticuerpos contra CMV.

Para el nivel socio-económico y el hacinamiento, no se consideraron al grupo de donadores de sangre por no conocer sus datos al respecto; por lo que el número de pacientes fue de 170 en ambos casos. No se encontró una relación entre el nivel socio-económico y la prevalencia de anticuerpos contra el CMV, (mayor seroprevalencia en el nivel bajo y menor en alto) como ha sido observado por otros autores.^{23,30,34} Esto se debió posiblemente a que la población estudiada

pertenece en su mayoría al nivel bajo, y solamente se tuvieron 5 casos de pacientes de nivel alto.

Finalmente, sería recomendable utilizar en análisis posteriores, los aparatos que permiten obtener un valor cuantitativo para la presencia de anticuerpos contra CMV en suero humano utilizando la técnica de ELISA, a fin de complementar y enriquecer la información. Además en los pacientes inmunosuprimidos sería conveniente realizar análisis periódicos con el propósito de observar posibles aumentos o disminuciones en los valores de anticuerpos contra CMV a fin de detectar posibles infecciones recientes, debidas a reactivación del virus o reinfección; así como también, como vigilancia en pacientes post-transplantados de médula ósea.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

CONCLUSIONES

- No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de anticuerpos a CMV entre los grupos estudiados; lo cual sugiere que no existe un factor que se relacione con el incremento de la seroprevalencia en individuos inmunosuprimidos, que padezcan alguna neoplasia hematológica u otro tipo de cáncer, con respecto de las personas sanas. Además, en pacientes con neoplasias hematológicas el tratamiento recibido aparentemente tampoco incrementa la seroprevalencia a CMV.

- La prevalencia de la seropositividad a CMV es muy alta en nuestra población y parece mayor a lo observado en países desarrollados.

- Parece ser que la edad es el único factor que asociado a la presencia de anticuerpos contra CMV, observándose que a mayor edad, se incrementa la seropositividad a CMV. (por debajo de los 25 años el porcentaje de individuos seronegativos es de 34.1 y después, de la quinta década de la vida todos son seropositivos).

- Los resultados obtenidos señalan la importancia del tratamiento y vigilancia del paciente transplantado para prevenir complicaciones graves como la neumonitis intersticial por CMV post-transplante de médula ósea

BIBLIOGRAFIA

- 1 Robbins SL, Angell LH, Patología básica, 2a. ed., Interamericana, México, D.F., 1984:739.
- 2 Petersderf GR, Adams DR, Braunwald E, Isselbacher JK, Martin JB, Wilson JD., Principios de Medicina Interna Harrison, 6a. ed. McGraw-Hill Vol I, México ,D.F., 1986:1750.
- 3 Wyngaarden JB, Smith LB, Cecil Tratado de medicina interna, 16, ed., Vol I, Interamericana, México, D.F., 1985:1191.
- 4 Bernard J, Diagnostico y tratamiento clínicos por el laboratorio, Todd-Sanford-Davidsohn. V-I, 8a. ed., Salvat, México, D.F., 1991:969
- 5 Hamilton HK, Rose MB, Diagnostico clínico, Interamericana, México, D.F., 1987:1189
- 6 Registro nacional del cáncer, Dirección General de Epidemiología 1987: 50
- 7 Linch MJ, Raphael SS, Meller LD, Spare PD, Inwood MJ, Metodos de laboratorio, 2a. ed. Interamericana, México, D.F., 1985:1522
- 8 Stites DP, Stobo JD, Fudenberg HH, Wells JV, Inmunología básica y clínica, 5a. ed, El manual moderno. México, D.F., 1985:842
- 9 Noel R, Friedman H. El laboratorio en inmunología clínica, 2a. ed. Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1984:624
- 10 Jawetz E, Melnick JL, Adelberg E, Microbiología Médica, 11a. ed, El manual moderno México, D.F., 1985:588
- 11 Evans AS, Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control, 2a. ed., Plenum Medical Book Company, N.Y., USA, 1982:850
- 12 Fenner F, Duhre DO, Virología Médica 2a. ed., La prensa médica mexicana, México, D.F., 1984:454
- 13 Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Truant JP, Microbiología clínica, 3a. ed., Editorial médica panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1982, pp. 945-954.
- 14 Specter S, Lancz G. Clinical Virology Manual, ed., Elsevier, N.Y., USA,

1986:540.

- 15 Marsano L, Perrillo RP, Flyne MW, et al. Comparison of culture and serology for the diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney and liver transplant recipients. *J Infect Dis* 1990;161:454-461.
- 16 Forman SJ, Zaia JA, Wright C, Gallagher MT, Blume KG. Increased leu-7-positive T lymphocytes during cytomegalovirus infection following allogeneic bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Transplantation* 1986; 41:268-271.
- 17 Adler SP, McVoy MM. Cytomegalovirus infections in seropositive patients after transfusion. *Transfusion* 1989; 29:667-671.
- 18 Chou S. Neutralizing antibody responses to reinfecting strains of cytomegalovirus in transplant recipients. *J Infect Dis* 1989; 160:16-21.
- 19 Chou S. Reactivation and recombination of multiple cytomegalovirus strains from individual organ donors. *J Infect Dis* 1989; 160:11-15.
- 20 Grundy JE, Super M, Griffiths PD. Reinfection of a seropositive allograft recipient by cytomegalovirus from donor kidney. *Lancet* 1986; January 18:159-160.
- 21 Hillyer CD, Snyderman DR, Berkman EM. The risk of cytomegalovirus infection in solid organ and bone marrow transplant recipient: transfusion of blood products. *Transfusion* 1990; 30:659-666.
- 22 Jackson B, Kline W. Conversion from seropositive to seronegative for cytomegalovirus antibody in plateletapheresis donors. *Transfusion* 1986; 26:491-492.
- 23 Lönnqvist B, Ringden o, Ljungman P, Wahren B, Gahrton G. Reduced risk of recurrent leukaemia in bone marrow transplant recipients after cytomegalovirus infection. *Br J Haematol* 1986;63:671-679.
- 24 Meyers JD, Flournoy N, Thomas D. Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis* 1986; 153:478-488.
- 25 Sererat MN, Schifano JV, Lau P, et al. Evaluation of cytomegalovirus (CMV) antibody screening test for blood donors. *Brief Scientific Reports* 1986; 86:523-526.

- 26 Wilhelm JA, Matter L, Schopfer K. The risk of transmitting cytomegalovirus to patients receiving blood transfusions. *J Infect Dis* 1986; 154:169-171.
- 27 Tegtmeler E, Transfusion-transmitted cytomegalovirus infections: significance and control. *Vox Sang* 1986;51 suppl 1:22-30.
- 28 Vaudry WL, Desai S, Roberts S, Præiksaitis JK. Increased prevalence of CMV seropositivity in pediatric oncology patients. *Transfusion* 1990; 30:573-574.
- 29 Wielaard F, Scherders J, Dageinckx C, Hooijmans A, Smit-Siebinga CT, Welle F. Development of CMV antibody tests and their clinical evaluation. *Vox Sang* 1986; 51 suppl 1:31-34.
- 30 Booth JC, Kangro KM, Liu KM, Mohandes LE, Tryhorn YS. Discordant results obtained on testing sera from immunocompromised patients for cytomegalovirus IgG by enzyme-linked immunosorbent assay and radioimmunoassay. *J Virol Methods* 1989; 26:77-89.
- 31 Feng CS, Williams IB, Gohd RS, Causey AP. A comparison of four commercial test kits for detection of cytomegalovirus antibodies in blood donors. *Transfusion* 1986; 26:203-204.
- 32 Grint PC, Ronalds CJ, Kangro H, Campbell A, Ward F, Hardiman AE, Heath RB. Screening test for antibodies to cytomegalovirus: an evaluation of five commercial products. *J Clin Pathol* 1985; 38:1059-1064.
- 33 Landini MP, Rossier E., Schmitz H. Antibodies to human cytomegalovirus structural polypeptides during primary infection. *J Virol Methods* 1988; 22:309-317.
- 34 Larocco M, Mortenson J, Davis BG, Moore DG. Reactivity of serologic tests for the detection of antibody specific to cytomegalovirus. *Brief Scientific Reports* 1986; 86:354-356.
- 35 Mc Voy MA, Adler SP. Immunologic evidence form frequent age-related cytomegalovirus reactivation in seropositive immunocompetent individual. *J Infect Dis* 1989; 160:1-10.
- 36 Ndumbe PM, Levinsky RJ. Immunological cross-reactivities among three herpesviruses. *JIM* 1985; 83:337-342.

- 37 Ramskill S, Senior P, Barlow P, Adtovey L. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for cytomegalovirus antibody in donor plasma. *J Clin Pathol* 1988; 41:1233-1235.
- 38 Reyes P, May R, Demmler GJ. Seridiagnóstico de citomegalovirus por la prueba de inmunofluorescencia anticomplementaria. *Infectología* 1988; 8:613-618.
- 39 Taswell HF, Reisner RK, Raba DE, Shelley CD, Smith TF. Comparison of three methods for detecting antibody to CMV. *Transfusion* 1986; 26:285-289.
- 40 White NH, Yow MD, Demmler GJ, et al. Prevalence of cytomegalovirus antibody in subjects between the ages of 6 and 22 years. *J Infect Dis* 1989; 159:1013-1017.
- 41 Paulin T, Ringden O, Lönnqvist B, Wahren B, Nilsson B. The importance of pre bone marrow transplantation serology in determining subsequent cytomegalovirus infection. *Scand J Infect Dis* 1986;18:199-209.
- 42 Meyers JD, Ljungman P, Fisher LD. Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia. *J Infect Dis* 1990; 162:373-380.
- 43 Wreghitt TG, Gray JJ. Prognostic value of cytomegalovirus IgM antibody in transplant recipients. *Lancet* 1986; may 17:1157-1158.
- 44 Wimperis JZ, Berry NJ, Brenner MK, et al. Production of anti-cytomegalovirus antibody following T-cell depleted bone marrow transplant. *Br J Haematol* 1986; 63:659-664.