

10524
20



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INCIDENCIA DEL
VIRUS EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS
EN LA REPUBLICA MEXICANA
POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE ELISA.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
**ESTRADA TREJO MARIA ANGELICA
SANTANA JAVANA ELVIA**

**ASESORES : BIOL. BALTASAR BRISEÑO GARCIA
Q.B.P. JUDITH MARTINEZ ZAMITIZ**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Unidad de la Administración Escolar
Departamento de Exámenes Profesionales
3-10 de mayo de 2003

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Estudio comparativo de la incidencia del virus Eosstein Barr
y Citomegalovirus en la República Mexicana por medio de la
Técnica de ELISA.

que presenta la pasante: María Angélica Estrada Trejo
con número de cuenta: 9754041-0 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a _____ de _____ de Mayo _____ de 2003

PRESIDENTE

N. en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza

VOCAL

C.B.P. Judith Domitila Martínez Zamitiz

SECRETARIO

M.V.Z. Mercedes Elvira Salgado Moreno

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Martha Patricia Campos Peón

SEGUNDO SUPLENTE

Dra. Susana E. Mendoza Elvira

B



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen Garcia Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Estudio comparativo de la incidencia del virus Epstein Barr
v Cytomegalovirus en la República Mexicana por medio de la
Técnica de ELISA.

que presenta La pasante: Elvia Santana Javana
con número de cuenta: 9755017-E para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 9 de Mayo de 2003

PRESIDENTE

M. en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza

VOCAL

Q.B.P. Judith Domitila Martínez Zamatis

SECRETARIO

M.V.Z. Mercedes Elvira Salgado Moreno

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Martha Patricia Campos Peón

SEGUNDO SUPLENTE

Dra. Susana E. Mendoza Elvira

C

AGRADECIMIENTOS

A DIOS.

*Por permitirme vivir cada día
y el haber culminado esta meta.*

A MIS PADRES.

*Por darme el don de vida, por su apoyo incondicional
y porque simplemente sin ellos este momento
nunca hubiese sido posible.*

A MIS HIJAS FABIOLA Y JOCELYN.

Por ser simplemente todo para mí.

A MI ESPOSO.

Por su apoyo y confianza en todo cuanto hago.

A MIS ASESORES.

*El Biól. Baltasar Briseño García
y la Q. B. P. Judith Martínez Zamitiz
por el tiempo dedicado a este trabajo.*

*A la UNAM y en especial a mis sinodales
que contribuyeron a enriquecer este
trabajo con sus sugerencias y observaciones.*

A MIS HERMANOS:

*Por que de alguna manera este trabajo
También es de ustedes.*

1

AGRADECIMIENTOS:

*A mis padres y hermanos por
haberme brindado su apoyo
no solo hoy sino durante toda mi vida.*

*A la profesora Judith y al Biólogo Baltasar Briseño
por su paciencia Y dedicación para apoyarnos a la
Realización de la tesis.*

*A doña Irene y al señor
Martín por todo el
Apoyo brindado durante
la tesis.*

*Para todas aquellas personas que con sus consejos
enriquecieron la lucha por lograr este objetivo.*

A TODAS ELLAS...

GRACIAS

Elvia

INDICE

	Pág
INDICE DE FIGURAS	i
INDICE DE GRAFICAS	ii
INDICE DE TABLAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	v
1.0.0 Introducción	6
1.1.0 Generalidades de la familia Herpetoviridae	7
1.2.0 Historia.	7
1.3.0 Morfología y clasificación.	7
1.4.0 Replicación.	10
1.5.0 Epstein Barr	12
1.5.1 Historia.	12
1.5.2 Morfología.	12
1.5.3 Transmisión.	13
1.5.4 Patología	13
1.5.5 Epidemiología	14
1.5.6 Clínica y principales Síndromes.	15
1.5.7 Diagnóstico y Serología.	16
1.6.0 Citomegalovirus.	19
1.6.1 Historia	19
1.6.2 Morfología.	19
1.6.3 Transmisión.	19
1.6.4 Patología.	20
1.6.5 Epidemiología.	21
1.6.6 Clínica y principales Síndromes.	21
1.6.7 Diagnóstico y Serología.	22

F

1.7.0 HIPÓTESIS	25
2.0.0 OBJETIVO GENERAL	26
2.1.0 OBJETIVO PARTICULAR	26
METODOLOGIA:	
3.0.0 MATERIAL Y METODOS	27
3.1.0 POBLACION	27
3.2.0 MATERIAL BIOLÓGICO	27
3.3.0 REACTIVOS	28-29
3.4.0 PROCEDIMIENTOS DE LAS TÉCNICAS	30-32
4.0.0 RESULTADOS	33-42
5.0.0 DISCUSIÓN	43-44
6.0.0 CONCLUSIONES	45
7.0.0 ANEXO	46-48
8.0.0 REFERENCIAS	49-51

INDICE DE FIGURAS

FIG.	Pág.
1.Eschema de la estructura general de los Herpesvirus	8
2.Representación esquemática de la replicación de los Herpesvirus.	10
3.Extendido de sangre periférica de un individuo sano.	18
4.Extendido de sangre periférica de un individuo con SMI.	18

INDICE DE GRAFICAS

GRÁFICA.	Pág.
1.Porcentaje de casos positivos y negativos reportados del Epstein Barr en los años 1999-2001	33
2.Porcentaje de casos positivos y negativos reportados del Citomegalovirus en los años 1999-2001	34
3.Incidencia del EBV y CMV en la República Mexicana	35
4.Sintomatología vs Grupos de edad EBV	36
5.Sintomatología vs Grupos de edad CMV	37
6.Sintomatología vs Síndrome EBV y CMV	38
7.Sintomatología vs Sexo EBV y CMV	39
8.Síndrome vs Sexo EBV y CMV	40
9.Grupos de edad vs Sexo EBV y CMV	41
10.Grupos de edad vs Síndrome EBV y CMV	42

INDICE DE TABLAS

TABLA	Pág.
1. Virus de la familia Herpesviridae que producen infecciones en el hombre.	9
2. Principales antígenos virales de utilidad diagnóstica del virus EBV.	16
3. Diferencias entre EBV y CMV.	23
4. Características de la infección por EBV y CMV.	24
5. Resultados positivos y negativos reportados en el INDRE en el diagnóstico de EBV en los años 99-01.	33
6. Resultados positivos y negativos reportados en el INDRE en el diagnóstico de CMV en los años 99-01.	34
7. Incidencia del VEB y CMV en los estados de la República Mexicana en los años 99-01.	35
8. Sintomatología vs Grupos de edad EBV.	36
9. Sintomatología vs Grupos de edad CMV.	37
10. Sintomatología vs Síndrome EBV y CMV.	38
11. Sintomatología vs Sexo EBV y CMV.	39
12. Síndrome vs Sexo EBV y CMV.	40
13. Grupos de edad vs Sexo EBV y CMV.	41
14. Grupos de edad vs Síndrome EBV y CMV.	42

LISTA DE ABREVIATURAS

CMV	Citomegalovirus
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EBV	Epstein-Barr virus
gp	glucoproteína
HRP	peroxidasa de rábano
IgM	Inmunoglobulina M
IgG	Inmunoglobulina G
Kbp	Kilopares de bases
NK	Natural Killers
nm	nanómetros
SMI	Síndrome de Mononucleosis Infecciosa
TMB	Tetrametilbencidina
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

RESUMEN.

Lo que dio origen al presente trabajo fue la inquietud del Biol. Baltasar Briseño por realizar un análisis de todas las muestras recibidas para el diagnóstico de los virus Epstein Barr y Citomegalovirus en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE) en los años de 1999 a 2001; el objetivo primordial fue cuantificar el total de muestras recibidas, de este total obtener las positivas a el diagnóstico de estos virus, para determinar así la incidencia de estos dos agentes en la República Mexicana en los tres años de estudio. Otro objetivo fue el agrupar el conjunto de síntomas, signos y datos de laboratorio más representativos en los pacientes, tomando como base para ello la historia clínica recibida en este Instituto.

En este estudio se analizaron 2885 muestras de casos presuntivos para la detección de EBV y CMV de enero de 1999 a diciembre de 2001 procedentes de los diferentes estados de la República Mexicana. El diagnóstico fue realizado a partir de la técnica de (ELISA), la determinación de anticuerpos IGM se realizó mediante un Kitt de la marca comercial Vironostika. Los resultados obtenidos en el laboratorio revelan que 138 muestras son positivas a CMV y 101 son positivas a EBV; de aquí se obtiene que el CMV es el virus que presenta una mayor incidencia en la República Mexicana en comparación al EBV. Por otra parte lo Estados con más casos positivos son: el Distrito Federal y el Estado de México. En cuanto a la incidencia de estos agentes entre los grupos de edades de estudio se obtuvo que el CMV se presenta con mayor frecuencia principalmente entre el grupo de recién nacidos, por lo que se deduce que la vía de transmisión es la vía congénita y perinatal, para el caso del Epstein Barr se obtiene un número considerable en niños cuyas edades abarcan de 1 a 14 años indicando que la vía de transmisión para este virus es la oral.

Por otro lado se agruparon los signos, sintomatología y datos de laboratorio más representativos en ambos virus encontrándose un cuadro clínico acompañado de complicaciones graves como son hepatomegalia, daño hepático y esplenomegalia, de ahí se agrupan los principales Síndromes en ambos virus arrojando los siguientes datos: el síndrome que es más frecuente en el CMV es el Síndrome Colestasico y para el caso del Epstein Barr el síndrome más frecuente es el Síndrome de Mononucleosis Infecciosa.

1.0.0 INTRODUCCIÓN

Los estudios epidemiológicos demuestran que todos los virus de la familia *Herpesviridae* son extraordinariamente ubicuos y están ampliamente extendidos en la población general. Una sustancial proporción de adultos presenta anticuerpos, reflejo de una primoinfección en una etapa previa de su vida y manifestación de la infección latente. Esto condicionará el diagnóstico serológico y la interpretación de los resultados de otras pruebas diagnósticas de laboratorio.

En contraste con la gran prevalencia en la población general, la mayor parte de las infecciones, sean del tipo que sean, son sintomáticas. Cuando lo son, oscilan clínicamente desde las benignas a las que cursan con grave compromiso de la salud o la vida del paciente. Serán estas últimas, y no las primeras, las que motivarán el interés principal del diagnóstico de laboratorio, teniendo en cuenta la inespecificidad de los signos y síntomas clínicos que se presentan. (26)

Dada la posible confusión que se genera entre el CMV y EBV, desde el punto de vista clínico, es esencial utilizar para su diagnóstico una prueba diagnóstica que tenga, en conjunto, una alta sensibilidad y especificidad. Un diagnóstico erróneo podría inducir a iniciar tratamientos inadecuados o, al menos, a prolongar la angustia del enfermo de forma innecesaria; o bien, puede retardar el tratamiento de la enfermedad tumoral (en el caso de EBV) por un tiempo inaceptable. Es, por tanto, muy importante disponer de técnicas rápidas, fiables y de realización prácticamente individualizada. (20)

En este trabajo se realizó el diagnóstico del VEB y CMV por medio de la técnica de ELISA con la marca comercial Vironostika; la cual presenta una alta sensibilidad y especificidad para ambos virus, siendo una técnica sencilla y confiable al diagnóstico de estos dos agentes virales.

1.1.0 GENERALIDADES DE LA FAMILIA HERPETOVIRIDAE.

1.2.0 HISTORIA

El término herpes proviene del griego "herpein" que significa serpentear. La epidemiología de las infecciones por virus de herpes desconcertó a los clínicos por muchos años y no fue hasta 1950 cuando Burnet y Budding demostraron que el virus de herpes simple podía permanecer en forma latente después de la primera infección y reactivarse por un estímulo. (25) Posteriormente en 1954 Weller aisló de un mismo paciente el virus de la varicela y el de zoster, este hallazgo sugirió que un solo virus generaba dos cuadros clínicos diferentes. La característica de permanecer persistentemente en el organismo y ser reactivados es una de las propiedades que comparten los virus pertenecientes a la familia de Herpesviridae. (32,33)

1.3.0 CLASIFICACION Y MORFOLOGIA.

Son virus de DNA, grandes y complejos (con genomas que superan las 235 kbp; su genoma es lineal, de doble hebra, y con diferente tamaño y orientación de los genes (formas isoméricas) lo cual es posible gracias a la presencia de repeticiones, directas o inversas, a un costado de los genes y que permiten la disposición circular y las recombinaciones intragénicas. Todos ellos están muy separados en términos de secuencia genética y proteínas pero son muy similares en términos de estructura y organización genómica. (33) La estructura de la partícula es compleja. El "core", con su nucleoproteína de forma tioridal envuelta por el DNA, está rodeado por la cápside icosaédrica 162 capsómeros; por fuera de ella aparecen proteínas globulares de origen viral denominadas tegumento y por fuera de esta encontramos la envoltura formada por numerosas glicoproteínas (gp) que son el medio de anclaje del virus a las células susceptibles. (25) (fig 1). El diámetro del virión es de 180 a 200 nm. El número de proteínas por virión varía, se estima que es de 30 a 35. Todos ellos están muy separados en términos de secuencia genética y proteínas pero son muy similares en términos de estructura y organización genómica. (25)

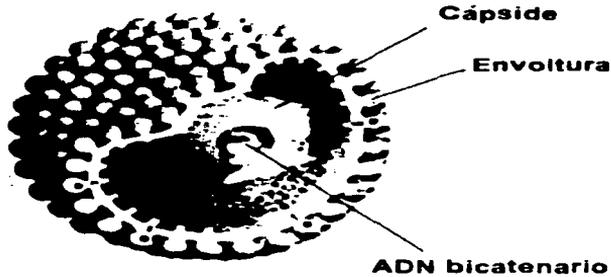


Figura 1: Esquema de la estructura general de los herpesvirus

A pesar de presentar diferencias, los virus de herpes comparten algunas de las propiedades biológicas, con base en dichas propiedades se han clasificado en tres subfamilias (Tabla 1). Las propiedades biológicas compartidas son:

- Todos codifican para enzimas involucradas en el metabolismo del ácido nucleico, síntesis de DNA y posiblemente procesamiento de proteínas. Sin embargo, la totalidad de las proteínas codificadas por cada virus varía.
- En el núcleo se sintetiza el DNA y se ensamblan las cápsides, la envoltura la adquieren las cápsides al atravesar la membrana nuclear.
- La infección productiva siempre conlleva a la destrucción de la célula infectada.
- Todos los virus de herpes establecen infecciones latentes en su hospedero natural. En la forma latente el genoma viral se encuentra en círculo cerrado y únicamente se expresa parte del mismo. (32,33)

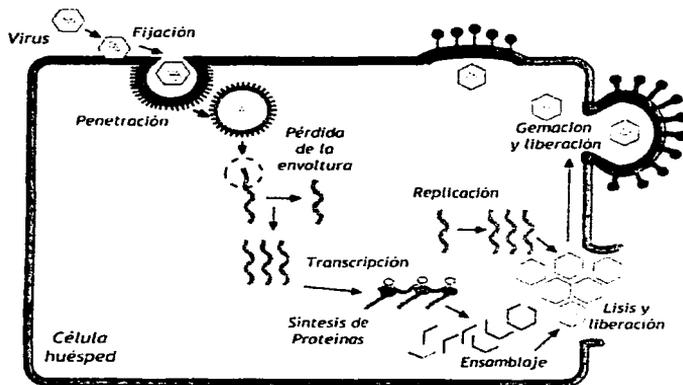
Los miembros de la familia de los Herpesvirdae que producen infecciones en el hombre se muestran en la siguiente tabla.

TABLA 1 VIRUS DE LA FAMILIA HERPESVIRIDAE QUE PRODUCEN INFECCIONES EN EL HOMBRE. (33)

SUBFAMILIA	ABREVIATURA EMPLEADA EN ESTE TRABAJO	CARACTERÍSTICAS
Subfamilia Alphaherpesviridae		Amplo rango de hospedero.
Virus herpes simple tipo 1 (Herpesvirus humano tipo 1)	VHS-1	ciclo de multiplicación corto, se diseminan rápidamente en cultivos celulares, destruyen
Virus herpes simple tipo 2 (Herpesvirus humano tipo 2)	VHS-2	rápidamente al hospedero y pierden la capacidad de permanecer en forma latente
Virus vancefa-zóster (Herpesvirus humano tipo 3)	VVZ	principalmente en células sensoriales pero no exclusivamente.
Subfamilia Betaherpesviridae		Su rango de hospedero es restringido, su ciclo de multiplicación es largo y en cultivos celulares se replica con
Citomegalovirus humano (Herpesvirus humano tipo 5)	CMV	baja eficiencia, las células infectadas presentan
Herpesvirus humano 6 (Herpesvirus humano tipo 6)	HVH-6	citomegalia (células alargadas), el virus puede permanecer en forma latente en glándulas secretoras, células
Herpesvirus humano 7 (Herpesvirus humano tipo 7)	HVH-7	linfocitares, de riñón y de otros tejidos.
Subfamilia Gammaherpesvirinae		Se caracteriza por su rango de hospedero restringido al huésped natural del virus. Los miembros de esta sub-familia son específicos por linfocitos T o B, en los linfocitos la infección es latente sin producir progenie infectiva, el VEB pertenece a esta sub-familia. (1)
Virus de Epstein-Barr (Herpesvirus humano tipo 4)	VEB	

1.4.0 REPLICACIÓN

Los mecanismos responsables de la replicación no son conocidos en su totalidad, pero se sabe que para que ésta última ocurra deben suceder varios pasos: en una fase inicial son transcritos los genes denominados inmediatos-tempranos, que generan péptidos reguladores de la replicación. En un paso subsiguiente vienen los genes tempranos, correspondientes a enzimas como timidina cinasas, polimerasas de ADN, ribonucleótido reductasas y exonucleasas. Por último, las proteínas estructurales del virión son el producto de los genes tardíos. (figura 2) (29,30)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIG 2. REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LA REPLICACIÓN DE LOS HERPESVIRUS. (29)

Como se menciona anteriormente la familia *Herpesviridae* comprende una serie de virus con DNA cuya característica biológica más notable es su capacidad de producir latencia. Tras la infección primaria, sintomática o no, el virus permanecerá latente en diversos tipos celulares o tejidos que les son propios a cada miembro de la familia. Desde aquí, y sin que se conozcan bien los mecanismos

íntimos y últimos que desencadenan el fenómeno, se van a producir reactivaciones con replicación y producción de nuevas partículas víricas. (29,3) Además de las infecciones primarias y las reactivaciones, en algunos herpesvirus se ha demostrado la posibilidad de que un individuo sea infectado por una cepa del mismo virus; distinta a la que alberga de forma latente. (26)

Es el fenómeno conocido como reinfección, cuya extensión o importancia clínica, no se conoce satisfactoriamente por el momento. En cualquiera de estas tres circunstancias es posible la aparición de síntomas clínicos relacionados con la infección. (26)

1.5.0 EPSTEIN BARR

1.5.1 HISTORIA

El VEB fue descubierto por Denis Burkitt en 1950. (1) Él identificó una forma de cáncer, previamente pasada por alto, que afectaba la mandíbula de los niños y adolescentes africanos, y él tuvo la crucial inspiración de que la distribución de este tumor tan común, parecía estar influenciado por factores climáticos, notablemente la temperatura y la altitud. Burkitt teorizó, que el tumor podía ser debido a un virus transmitido por mosquitos ó a un arbovirus. (32)

Este descubrimiento condujo a Tony Epstein, Yvonne Barr y Burt Achong a examinar las biopsias de tumores recién extirpados, buscando un virus. En 1964, con un microscopio de electrones, encontraron un virus parecido a las partículas de los herpesvirus, en un pequeño número de células biopsiadas, y así establecieron que de hecho éste era un virus nuevo. (12) El virus de Epstein-Barr fue así nominado como el primer candidato causal de un tumor humano. Fue el primer herpesvirus cuya secuencia se estudió completamente en 1984. (32)

1.5.2 MORFOLOGIA.

El VEB es distinto de los demás herpesvirus humanos. Su genoma de DNA contiene alrededor de 172 Kbp que codifica aproximadamente unas 100 proteínas. (12) La molécula de ADN se encuentra por ambos extremos con un número variable de repeticiones terminales, cada una de ellas de una longitud aproximada de 500 pb. La recombinación entre estas repeticiones terminales origina la formación de una molécula extracromosómica cerrada covalentemente o episoma, que es la estructura que el virus adopta en el núcleo de las células infectadas en forma latente. (27)

Con microscopio electrónico, los viriones tienen 180 a 200 nm de diámetro y se ven como nucleocápsides hexagonales redondeadas por una envoltura compleja. La nucleocápside tiene 100 nm de diámetro. Por medio de electroforesis en gel de acrilamida de preparados de VEB purificado se han identificado más de 30 polipéptidos con pesos moleculares de (2.8×10^4) a (2.9×10^5) . (4)

1.5.3 TRANSMISION.

El VEB es un agente ampliamente diseminado de baja contagiosidad y que muchos casos son contraídos por contacto íntimo entre personas susceptibles y eliminadores asintomáticos. (4) Los niños pueden adquirir el virus a una edad temprana al compartir vasos contaminados, y suelen presentar una forma subclínica de la infección. El intercambio de saliva entre adolescentes y adultos jóvenes suele ocurrir durante el beso, de ahí el sobrenombre de "enfermedad del beso". (19) La transmisión puede producirse por medio de las transfusiones y los trasplantes de médula ósea, pero es menos frecuente que en el caso del CMV. (12)

La forma de transmisión tradicionalmente aceptada sostiene que el VEB infecta las células epiteliales de la orofaringe las cuales constituyen el sitio primario de la adherencia viral (12) y posteriormente pasa a los linfocitos B del tejido linfoide adyacente. (27) Si la célula B infectada se trasplanta más allá de los mecanismos de control del paciente, tiene propiedades neoplásicas que originan linfocitos atípicos también denominados células de Downey. (19) El círculo se cierra cuando el virus se excreta en la saliva a través de la mucosa oral. (1, 22)

1.5.4 PATOLOGIA.

El virus es transmitido mediante saliva infectada y alcanza las células epiteliales de la orofaringe en donde se replica con producción de viriones y lisis celular. (1) Su célula blanco fundamental son las células B circulantes a las que infectada a su paso por la orofaringe (18) o el epitelio del espacio postnasal. El virus utiliza para contactar con la célula una de las proteínas de su envoltura, gp350, que se une al receptor celular CD21 (el mismo que tiene para el C3d del complemento). (11) La mayoría de los anticuerpos producidos durante la infección están dirigidos contra esta proteína y han existido ya intentos para desarrollar con ella una vacuna frente a esta infección. En la fase aguda solo un reducido número de células B permite la replicación viral con expresión de todos los antígenos virales, la formación de viriones y en último caso la lisis celular. La mayoría de ellas expresan solamente un número limitado de genes y no permiten en este momento la replicación viral (Infección latente). En algún momento de esta fase latente alguna de estas células puede entrar en actividad y permitir un ciclo completo replicativo. En la fase aguda las células infectadas son controladas por las NK y los linfocitos T que proliferan en gran cantidad, este aumento celular es el responsable del aumento de tamaño de los ganglios linfáticos, bazo e hígado que pueden verse en la fase aguda de la infección. En la fase de convalecencia y latencia son estos últimos el mecanismo más importante de vigilancia y control. (1)

MECANISMOS PATOGENICOS DEL VEB.

1. El virus establece una infección productiva en las células epiteliales de la nasofaringe.
2. El virus se comporta como un mitógeno para las células B, induciendo la producción de IgM.
3. Las células B infectadas activan las células T.
4. Se produce una infección latente de las células B capaz de causar recidivas.
5. El virus inmortaliza los linfocitos B e induce su proliferación, en ausencia de supresión por parte de las células T. (32,33)

1.5.5 EPIDEMIOLOGIA.

Es un virus de amplia distribución, estimándose que cerca del 90% de los adultos han sido infectados. Se piensa que el 70% de la población se infecta antes de los 30 años. Más del 90% de los individuos afectados continúan excretando el virus de manera intermitente durante toda la vida, aunque se encuentren completamente asintomático. (12)

La seroepidemiología ha demostrado que en los países poco desarrollados la infección asintomática en los primeros años de la vida es lo más frecuente mientras que, por el contrario, en los países con mejor nivel de vida muchos individuos se escapan de la infección primaria hasta la adolescencia. Cuando la primoinfección se retrasa el virus tiene tendencia a producir síntomas. (31)

El VEB está presente en todo el mundo, y de acuerdo con los datos de los exámenes seroepidemiológicos, es evidente que la infección por VEB durante la infancia es muy frecuente, en especial en grupos socioeconómicos bajos. En los grupos socioeconómicos menos favorecidos, el 80% de los niños de 5 años de edad son seropositivos, mientras que en los grupos socioeconómicos más altos sólo del 40 al 50% de los niños de 5 años de edad son seropositivos. La infección por VEB en niños pequeños suele ser asintomático o estar asociada con una afección febril indiferenciada o síntomas leves de las vías respiratorias superiores. Si la infección por VEB es adquirida por un adolescente o un adulto, lo cual ocurre en el 40 al 50 % de las personas que no sufrieron una exposición en la infancia, aparecen síntomas de SMI. La mononucleosis infecciosa no tiene ninguna tendencia estacional en la población general, si bien el inicio del otoño y el de la primavera son periodos de alta frecuencia. (10)

1.5.6 CLINICA Y PRINCIPALES SINDROMES EN LA REPUBLICA MEXICANA.

Este virus versátil produce enfermedades que van desde la infección aguda autolimitada hasta neoplasias malignas. (34)

El VEB produce el SMI que es el más conocido se caracteriza por un período prodromico de 3 a 5 días de síntomas inespecíficos que incluyen fiebre, astenia, malestar general, fatiga y anorexia. A éstos suele seguir una grave faringitis, linfadenopatía (23) que puede ser generalizada o localizarse en solo ganglios cervicales (1) y esplenomegalia. La queja principal de los pacientes se refiere a la fatiga. Cada caso puede tener muchas pero no necesariamente todas las características mencionadas. La gran mayoría de los pacientes con este Síndrome se recupera sin problemas. (10) Las complicaciones ocurren en forma ocasional pero incluso estas remiten por completo; algunas de ellas son complicaciones hematológicas (anemia hemolítica autoinmune y trombocitopenia), rotura esplénica (4), neurológicas (encefalitis y meningitis), hepáticas, cardíacas, pulmonares y morbilidad la cual es rara. (6)

Una gran parte de las personas con mononucleosis infecciosa inducida por EBV puede desarrollar una erupción cutánea si son tratadas con ampicilina o fármacos relacionados.

Cuando se producen síntomas durante la infancia es posible observar una variedad de trastornos, entre ellos otitis media, diarrea, infección de las vías aéreas altas y molestias abdominales. (12)

Se ha descrito recientemente un Síndrome de Fatiga Crónica, cuyo conjunto de signos y síntomas son fiebre, fatiga, cefalea, malestar general, mialgia, pérdida de memoria, problemas de sueño, cambios de humor, confusión y desorientación e incapacidad para concentrarse. (19)

Enfermedad linfoproliferativa inducida por el VEB en enfermos inmunodeprimidos, cada vez hay más pruebas de que algunos pacientes inmunodeprimidos, sobre todo los que presentan un déficit congénito de la función de los linfocitos T, pueden sufrir formas malignas de la infección por VEB, que conducen a la aparición de linfomas y de otros tumores invasivos. Así mismo, los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pueden padecer lesiones bucales inducidas por el VEB, que reciben el nombre de leucoplasia peluda. (19) En raras ocasiones, algunos enfermos con problemas de inmunodeficiencia han desarrollado un grave y a menudo fatal síndrome linfoproliferativo. (10)

El EBV se asocia con diversas enfermedades linfoproliferativas de los linfocitos B entre ellas el linfoma de Burkitt y los linfomas en los huéspedes inmunocomprometidos; además de asociarse también con el carcinoma nasofaríngeo. (11)

1.5.7 DIAGNOSTICO Y SEROLOGIA.

ASLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS:

Puede aislarse de saliva, sangre periférica o tejido linfoide por inmortalización de linfocitos humanos normales, obtenidos por lo común de sangre de cordón umbilical. Este análisis es laborioso y consume tiempo (seis a ocho semanas), requiere equipo especializado y rara vez se hace. También es posible cultivar linfocitos B "transformados de manera espontánea" de pacientes infectados por el virus. (11) Como quiera que no existe ningún sistema *in vitro* adecuado para el aislamiento y la identificación de los VEB (son difíciles, caros y prolongados), el diagnóstico habitual de la SMI se basa primariamente en datos clínicos, hematológicos y serológicos. (10)

La hibridación de ácido nucleico es el análisis más sensible para detectar el virus en muestras de los pacientes. Los antígenos virales pueden detectarse de manera directa en tejidos linfoides, carcinomas nasofaríngeos y en ocasiones, en células de sangre periférica. (11)

SEROLOGIA.

El procedimiento serológico más común para detectar anticuerpos anti-virus EBV (los cuales se muestran en la tabla 2) es la prueba de inmunofluorescencia indirecta usando frotis de células linfoides. También se utiliza ELISA. (12)

TABLA 2. PRINCIPALES ANTIGENOS VIRALES DE UTILIDAD DIAGNOSTICA. (18)

FASE DE REPLICACIÓN.	ANTIGENO.	COMENTARIOS.
Fase latente	EBNA (Antígeno nuclear del EB)	Grupo de neoantígenos en células infectadas; responsables de la inmortalización
	LDMA (Antígeno detectado en la membrana de los linfocitos).	Objetivo de la respuesta inmune de células T contra la célula infectada por EBV)
Fase de replicación temprana.	EA (Antígeno temprano): D (difuso); R (restringido; es decir, localizado)	Indica el comienzo de la replicación viral.
Estadio de replicación tardía.	VCA (antígeno de cápside viral)	Indica que se ha ensamblado la replicación viral.
	MA (Antígeno de membrana)	Responsable de la neutralización viral.

Para el diagnóstico serológico del VEB en este trabajo se usaron dos ensayos de inmunoenzimología (ELISA) de la marca Vironostica EBV VCA IgM e IgG para la determinación cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgM e IgG frente al antígeno de la capsida del virus Epstein Barr (EBV VCA IgM e IgG) en suero o plasma humano. Los cuales están indicados como ayuda en el diagnóstico de infección por VEB primaria o reactivada. (9)

La presencia de anticuerpos IgM VCA suele bastar para confirmar el diagnóstico de VEB. No obstante, debe realizarse una verificación clínica con información relevante adicional. (9)

Otros estudios realizados en la detección de una mononucleosis infecciosa provocada por el VEB suele basarse en la presencia de linfocitos atípicos y anticuerpos heterofílicos que es menos específica (IgM Prueba de Paul-Bunell). (22)

Los anticuerpos heterofílicos se producen por la activación inespecífica de células B, semejante a la producida por los mitógenos. Los anticuerpos heterofílicos son de clase IgM aparece en las primeras semanas de enfermedad después de aparecer los linfocitos atípicos, alcanza su título máximo en la segunda o tercer semana y puede persistir hasta cuatro meses. (4) Se ha demostrado la presencia de VEB negativa a la prueba de anticuerpo heterofílico en el 10-20% de adultos siendo el porcentaje aún mayor en niños (en los cuales en general es negativa) con infección aguda. (19)

El hemograma periférico muestra generalmente una linfocitosis absoluta con un 10 a un 20% de linfocitos atípicos. Al principio, la linfocitosis es el resultado de un aumento de los linfocitos B y T, pero más tarde existe predominio de los linfocitos T. El VEB parece infectar sólo los linfocitos B, mientras que los linfocitos atípicos son linfocitos T no infectados. (4) Es probable que los linfocitos atípicos constituyan el primer indicio evidente de la infección por VEB, aunque no son específicos de ésta. Aparecen cuando se inician los síntomas y desaparecen cuando remite la enfermedad. (34)

Las dos imágenes que se presentan a continuación, comparan extendidos de sangre periférica de un individuo sano (Figura 3) con el de un paciente con mononucleosis infecciosa causada por el virus Epstein-Barr (VEB) (Figura 4). Ambos extendidos se colorearon con la tinción de Giemsa. Los individuos tienen varios tipos de células de defensa, que incluyen los leucocitos polimorfonucleares y los linfocitos. En la segunda imagen del paciente infectado, se observan los linfocitos atípicos o células de Downey, que son los linfocitos B característicos infectados con VEB. Los linfocitos atípicos toman varias formas y una de las más comunes es prácticamente idéntica al blastocito. El núcleo puede ser ovalado o irregular (deformados), contener nucléolos y tener citoplasma espumoso (contornado oscuro). Estas células aparecen generalmente en la sangre periférica del segundo al duodécimo día de enfermedad, persisten de dos a ocho semanas y representan por lo

menos el 20% del total de leucocitos cuando la fiebre llega al máximo y el total de células mononucleares forma más del 50% de todas. (34)

LINFOCITOS ATÍPICOS.



FIG 3. EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA DE UN INDIVIDUO SANO.



FIG 4. EXTENSIÓN DE SANGRE PERIFÉRICA DE INDIVIDUO CON SMI

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.6.0 CITOMEGALOVIRUS.

1.6.1 HISTORIA

El CMV es un miembro de una familia de virus relacionados específicos para especies determinadas. (13) El CMV fue aislado por primera vez de ratones por Margaret Smith, quien posteriormente aisló el virus humano a partir de tejido de glándulas salivares de un lactante infectado. (14) Cultivados por primera vez en 1956, en los laboratorios de Rowe, Smith y Vélter, trabajando cada uno de ellos independientemente. (8) El Citomegalovirus recibió originalmente el nombre de virus de las glándulas salivales debido a que ataca frecuentemente a estas glándulas; más tarde se le cambió por el virus de inclusión citomegática, basándose en las características que adquiere la célula infectada y recientemente ha sido denominado como Citomegalovirus. (7)

1.6.2 MORFOLOGIA.

El Citomegalovirus es el miembro más grande de los herpesvirus humanos. Su genoma (PM 150 x 10, 240 Kbp) es de tamaño mucho mayor que el HSV. Solo se han caracterizado algunas de las numerosas proteínas codificadas por el virus. (14)

El diámetro del Citomegalovirus es de aproximadamente 200 nm, tiene doble cadena dentro de la cápside icosaédrica de 162 capsómeros, como envoltura tiene una membrana pleomorfa con proyecciones en la superficie (glicoproteínas). (13)

1.6.3 TRANSMISIÓN

El CMV se transmite de una persona a otra por diferentes rutas, requiriendo todas ellas contacto íntimo con el material portador del virus. (12)

El virus puede ser propagado de manera intermitente desde fango y en la orina por meses o años después de infección primaria. (12)

Este virus se asocia con leucocitos y puede transmitirse por medio de transfusiones sanguíneas (16, 17) o trasplante de órganos.

La transmisión venérea es sugerida firmemente por la existencia de grupos de casos relacionados epidemiológicamente. (15,17) El CMV puede transmitirse de la madre a hijo a través de las secreciones cervicales durante el parto. (24) o en la leche. (15)

1.6.4 PATOLOGIA.

MECANISMOS PATOGENICOS DEL CMV.

- 1) Diseminación intracelular en presencia de anticuerpos. El CMV es un virus asociado a las células, que infecta y se disemina de una a otra si esta se fusiona protegiéndose así de la inactivación mediada por anticuerpos.
- 2) Latencia: Tras la infección primaria el CMV permanece en estado de latencia en el lugar exacto donde se lleva a cabo esta latencia y los mecanismos a los que responde es a los leucocitos (Mononucleares). Contienen el virus latente y son los responsables de la transmisión durante las transfusiones de sangre o de leucocitos. Algunos órganos como el riñón y corazón también pueden albergar al virus si bien se desconoce células concretas.
- 3) Reactivación. La infección latente por CMV se reactiva en estados de inmunodepresión (empleo de corticoesteroides, infección por VIH y posiblemente por estimulación alógena) respuesta del huésped a células transfundidas o transplantadas. (8, 16)

Inducción de Inmunodepresión: La infección primaria por CMV, incluso en los casos asintomáticos, induce una fuerte inversión del cociente entre los linfocitos T cooperadores y supresores, debido sobre todo al incremento de la población de células supresoras, si bien también existe cierta reducción de la cifra de linfocitos T cooperadores. Al cabo de los meses, este cociente regresa a la normalidad o a un estado cercano al existente antes de la infección. La función linfocitaria también se altera durante la infección aguda, normalizándose durante la convalecencia. Al penetrar en el organismo, el CMV infecta a los leucocitos y a los linfocitos y se disemina por todo el cuerpo en el interior de las células, las cuales pueden infectarse por partículas libres o a través del contacto con otras células. El virus casi siempre se replica sin causar síntomas y establece una infección latente en el huésped, pudiendo activarse, replicarse y excretarse durante mucho tiempo sin causar sintomatología alguna. (21)

1.6.5 EPIDEMIOLOGIA

La infección por el CMV es endémica en todo el mundo con los mayores niveles de incidencia entre niños de tierna edad, particularmente los que viven en condiciones de hacinamiento. La infección puede ser congénita, pero suele ser adquirida en los periodos prenatal o postnatal. El predominio de excreción vírica por la orina, varía del 0,5 al 2% en el nacimiento al 10 al 56% a los seis meses de edad según la población estudiada. A un año de edad la presencia de la excreción vírica generalmente se estabiliza o disminuye, y menos del 1% de los adultos normales sanos excretan virus en la orina. No obstante la tasa de viruria aumenta durante el embarazo, de un 4 a un 13%. La tasa de positividad serológica que también refleja la exposición al CMV, aumenta latentemente durante infancia. Durante la adolescencia, la tasa de infección se incrementa significativamente y hasta el 35% de adultos presentan anticuerpos detectables a los 35 años de edad. La incidencia de la serología positiva varía ampliamente en dependencia del status socioeconómico y las condiciones de vida de la población examinada. (10)

Estudios realizados en México han demostrado que el 86% de mujeres embarazadas de 20 a 40 años son positivas para CMV. (14)

1.6.6 CLINICA Y PRINCIPALES SINDROMES EN LA REPUBLICA MEXICANA.

La infección primaria por CMV de niños mayores y adultos causa un Síndrome espontáneo de mononucleosis infecciosa. La enfermedad se caracteriza por malestar, mialgia, fiebre prolongada, anomalías de la función hepática y linfocitosis con un exceso de linfocitos atípicos en ausencia de una prueba heterófila negativa. Se estima que el CMV causa 20 a 50 % de los casos de mononucleosis negativa a heterófilo (no por virus Epstein-Barr). (2, 28)

La mononucleosis por CMV es una enfermedad leve y las complicaciones son raras. Es común que se acompañe de hepatitis subclínica. En niños más pequeños (7 años) es frecuente la hepatoesplenomegalia. (2)

En huéspedes con depresión inmunológica, tanto de la morbilidad como mortalidad están aumentadas en las infecciones por CMV primaria y recurrente. La neumonía es una complicación frecuente. En pacientes con SIDA a menudo se genera infección generalizada; gastroenteritis y coriorretinitis son problemas comunes. Con frecuencia el colon es el más afectado. (24)

En infecciones congénitas y perinatales puede causar muerte del feto en útero. La enfermedad por inclusión citomegálica en recién nacidos se caracteriza por afección al sistema nervioso central y reticuloendotelial. El índice de mortalidad se aproxima a 30%. Alrededor de 90% de lactantes con

enfermedad por inclusión citomegálica padecerán alteraciones significantes del sistema nervioso central en los dos años siguientes; pérdida grave de la agudeza auditiva, anomalías oculares y retraso mental son comunes. Más o menos 10% de lactantes con infección citomegálica congénita subclínica quedan sordos. (11)

1.6.6 DIAGNOSTICO Y SEROLOGIA.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS.

El mejor método para diagnosticar infección por CMV es por aislamiento del virus. Este puede recuperarse con más facilidad de enjuagues de garganta y de la orina. En ocasiones, otros líquidos corporales y también materiales de biopsia contienen CMV aislable. En los cultivos, se requieren en general una o dos semanas para que aparezcan cambios citológicos, que consisten en focos pequeños de células hinchadas, translúcidas, con inclusiones intranucleares grandes. La degeneración celular avanza con lentitud y el virus permanece en la célula. (13)

Los métodos de cultivo celular para aislamiento del virus son demasiado lentos para servir como guía del tratamiento, en particular en pacientes con supresión inmunológica. Los métodos de diagnóstico rápido que se han desarrollado incluyen observaciones de cuerpos de inclusión en tejido o en células descamadas que se encuentran en la orina, identificación directa del antígeno viral, visualización del virus por microscopía electrónica e hibridación del DNA. (3)

El aislamiento viral, acoplado a seroconversión, es la mejor indicación de infección primaria por CMV en huéspedes normales. (13)

SEROLOGIA.

Los anticuerpos pueden descubrirse por Nt, fijación del complemento, radioinmunoanálisis o inmunofluorescencia. Estas pruebas pueden ser útiles en la localización de lactantes infectados en forma congénita pero sin manifestación visible de la enfermedad. Las técnicas serológicas no pueden distinguir diferencias entre cepas en los aislados de muestras humanas. En este trabajo se realizó el diagnóstico por medio de la técnica de ELISA. (20)

En tabla N° 3 se muestran algunas de las diferencias más relevantes que existen en una infección causada por EBV y CMV.

TABLA 3
DIFERENCIAS ENTRE EL VEB Y CMV. (6)

	INFECCIONES POR EPSTEIN BARR	INFECCIONES POR CITOMEGALOVIRUS
Incidencia.	Mundial; más frecuente entre los adolescentes y adultos jóvenes en los países desarrollados; infección asintomática en niños	Mundial muchas infecciones asintomáticas; la infección congénita puede ser grave.
Agente Etiológico.	Virus Epstein Barr (VEB)	Citomegalovirus (CMV)
Reservorio.	Seres humanos y posiblemente primates	Seres humanos.
Transmisión.	Contacto directo con la saliva; a través de transfusiones sanguíneas.	Contacto directo con excreciones y secreciones; a través de transfusiones sanguíneas, leche materna y secreciones cervicales y por vía transplacentaria.
Periodo de incubación.	4-6 semanas.	Desconocido; 3-8 semanas después de la transusión; en el recién nacido, 3-12 semanas después del parto que produjo la infección.
Periodo de transmisibilidad.	Prolongado; la eliminación faríngea puede persistir durante años; 15-20% de los adultos son portadores.	Virus excretado en la saliva y orina durante meses o años
Sensibilidad y resistencia.	General: la infección confiere un alto grado de resistencia.	General: los fetos, los inmunodeprimidos y los pacientes con enfermedades crónicas tienen síntomas más graves.

En la tabla N° 4 se muestran algunas de las zonas corporales que son afectadas en una infección por EBV y CMV así mismo se hace una comparación sobre el daño causado en estas zonas por estos dos virus.

TABLA 4
CARACTERISTICAS DE LA INFECCIÓN POR EBV Y CMV. (6)

VALORACIÓN.	INFECCIÓN POR EPSTEIN BARR	INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS.
Garganta.	Amigdalitis exudativa dolorosa (blanca o gris verdosa), membrana pastosa maloliente; inflamación y el edema amigdalares pueden ser severos.	No hay afectación.
Cavidad bucal	Encías sangrantes, petequias en paladar.	No hay afectación.
Nódulos linfáticos.	Discreto agrandamiento y dolorimiento de los nódulos linfáticos axilares, submandibulares y cervicales.	No hay afectación.
Abdomen.	Esplenomegalia; hepatomegalia	Esplenomegalia; hepatomegalia
Respiratoria.	Síntomas de neumonía.	Tos y síntomas de neumonía.
Neurológica.	Meningitis o encefalitis.	Debilidad.
Congénitas.		Ictericia; erupción petequeal; hepatosplenomegalia; letargo; microcefalia; retraso mental; coriorretinitis; convulsiones.

1.7.0 HIPOTESIS.

- **Al realizar un adecuado diagnóstico de laboratorio entonces se puede detectar la presencia de anticuerpos contra VEB y CMV en muestras de suero.**
- **Al analizar las historias clínicas de los pacientes con diagnósticos positivos a EBV y CMV, entonces se pueden determinar los signos y síntomas más representativos de cada uno de estos virus.**

2.0.0 OBJETIVOS.

2.1.0 OBJETIVO GENERAL.

- Determinar la presencia de Anticuerpos, IgM e IgG contra VEB Y CMV en población abierta, utilizando el Método Inmunoenzimático (ELISA); de casos presuntivos en la República Mexicana.

2.2.0 OBJETIVOS PARTICULARES.

- Identificar los signos y síntomas que prevalecen en una infección por el VEB y CMV mediante un análisis de las historias clínicas de pacientes con una respuesta inmune positiva a este agente viral.
- Detectar los grupos de edad y sexo sobre los cuales tiene mayor incidencia el VEB y CMV mediante los datos reportados en las Historias Clínicas.

3.0.0 METODOLOGIA.

3.1.0 POBLACION. Población abierta de la República Mexicana, con un total de muestras para CMV de 2058 y para VEB 827.

3.2.0 MATERIAL BIOLÓGICO. Se utilizaron sólo muestras de suero para el diagnóstico serológico de las mismas.

3.2.1 TOMA Y MANEJO DE LA MUESTRA DE LA MUESTRA:

- Es necesario el ayuno del paciente.
- Suero o plasma (extraído con citrato, heparina, o EDTA como anticoagulantes).
- La sangre debe recogerse mediante venopunción normal y manipular con precauciones adecuadas según los procedimientos estándar de laboratorio.
- Las muestras no deben presentar contaminación microbiana. Las muestras frescas deben conservarse a 2-8 °C durante una semana. Un ciclo de congelación /descongelación de las muestras no afectará el resultado de la prueba.

3.3.0 REACTIVOS.

REACTIVOS QUÍMICOS:

Se realizó el diagnóstico del VEB y CMV en muestras de sueros, por medio del kiti Vironostika EBV (VCA) y Vironostika CMV esta técnica es un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM e IgG en suero.

COMPONENTES DE VIRONOSTIKA (ELISA) VEB.

	IGM	IGG
Placas de tiras microelisa	Recubiertas de IgM antihumano monoclonal de ratón	Recubiertas con antígeno de la cápside del virus VEB (péptido p18 VCA sintético).
Conjugado	p18 anti-VCA monoclonal (rata) conjugada con Peroxidasa de Rábano Picante (HRP).	Anti-IgG humana (de cabra) conjugada con Peroxidasa de Rábano Picante (HRP).
Calibrador I	Suero humano que contiene 5 UA IgM p18 anti-VCA/ml (nivel no reactivo) Conservado en Pro clin (TM) 300.	Suero humano que contiene 10 UA IgG p18 anti-VCA/ml (nivel no reactivo) Conservado en Pro clin (TM) 300.
Calibrador II	Suero humano que contiene 20 UA IgM p18 anti-VCA/ml (nivel de cutoff) Conservado en Pro clin (TM) 300.	Suero humano que contiene 20 UA IgG p18 anti-VCA/ml (nivel de cutoff) Conservado en Pro clin (TM) 300.
Calibrador III	Suero humano que contiene 80 UA IgM p18 anti-VCA/ml (nivel reactivo) Conservado en Pro clin (TM) 300.	Suero humano que contiene 110 UA IgG p18 anti-VCA/ml (nivel reactivo) Conservado en Pro clin (TM) 300.
Calibrador IV	Suero humano que contiene 140 UA IgM p18 anti-VCA/ml (nivel altamente reactivo). Conservado en Pro clin (TM) 300 *UA es una unidad arbitraria relacionada con una preparación de referencia.	Suero humano que contiene 170 UA IgG p18 anti-VCA/ml (nivel altamente reactivo) Conservado en Pro clin (TM) 300 *UA es una unidad arbitraria relacionada con una preparación de referencia.
Solucion TMB :	Tetrametilbencidina y peroxido en tampón citrato.	Tetrametilbencidina en ácido cítrico. Conservado en 1g/l de cloroacetamida.
Solucion de parada	Acido sulfúrico a concentración 0.5 mol/l	Acido sulfúrico a concentración 0.5 mol/l

Tampón fosfato concentrado.
 Solución de peróxido de hidrógeno.
 Hipoclorito de sodio (5%).

COMPONENTES DE VIRONOSTIKA (ELISA) CMV

	IGM	IGG
Placas de tiras microelisa	Recubiertas con IgM anti-humana (oveja)	Recubiertas con anti CMV monoclonal de ratón
Antígeno	Antígeno/conjugado Antígeno CMV y Anti-CMV (de oveja) marcado con HRP. liofilizados.	Antígeno CMV liofilizado
Conjugado		Liofilizado de inmunoglobulinas anti-humanas de oveja marcadas con HRP.
Control negativo	Suero humano no reactivo anti-CMV IgM. Conservado en 1 g/l de azida sódica.	Suero humano no reactivo anti-CMV. Conservado en 1g/l de azida sódica.
Control positivo	Suero humano reactivo a anti-CMV IgM. Conservado en 1 g/l de azida sódica.	Suero Humano reactivo a anti-CMV. Conservado en 1 gramo de azida sódica
Control fuertemente positivo	Suero humano reactivo a anti-CMV IgM. Conservado en 1 g/l de azida sódica.	Suero humano reactivo a anti-CMV. Conservado en 1 g/l de azida sódica.
Solución TMB :	Tetrametilbencidina en ácido cítrico. Conservado en 1g/l de cloroacetamida.	Tetrametilbencidina en ácido cítrico. Conservado en 1g/l de cloroacetamida.
Solución de parada	Acido sulfúrico a concentración 1 mol/l	Acido sulfúrico a concentración 1 mol/l

Tampón fosfato concentrado.
 Diluyente de muestra para concentrado.
 Solución de peróxido de urea. Conservado en 1g/l de 2-cloroacetamida.

3.4.0 PROCEDIMIENTOS DE LAS TÉCNICAS.

Procedimiento de la prueba Vironostika EBV VCA IgM.

1. Preparar el soporte con la cantidad necesaria de tiras microelisa
2. Pipetear en los pocillos correspondientes:
muestras diluidas.: 100µl de cada
calibradores I, II y IV 100µl de cada uno de ellos .
3. Incubar a 37±2°C durante 60 ±5 minutos.
4. Lavar y dejar en remojo cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato inmediatamente después de incubar.
5. Pipetear 100 µl de conjugado en cada pocillo
6. Incubar a 18-25°C ±2 C durante 30±2 minutos.
7. Lavar y dejar en remojo cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato diluido inmediatamente después de la incubación.
8. Pipetear 100µl de sustrato TMB en cada pocillo.
9. Incubar a 18-25° C durante 30 ±- 2 minutos.
10. Parar la reacción añadiendo 200µl de solución ácido sulfúrico a cada pocillo inmediatamente después de la incubación.
11. Leer la absorbancia de la solución de cada pocillo en el lector de ELISA a 450 nm al cabo de una hora de parar la reacción.

Procedimiento de la prueba Vironostika CMV

1. Preparar la placa con la cantidad necesaria de tiras microelisa
2. Pipetear 100µl de cada muestra y control diluido en los pocillos apropiados.
(Pipetear los controles después de las muestras).
3. Incubar a 37±2°C durante 60 ±5 minutos.
4. Lavar e inundar cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.
5. Pipetear 100 µl de antígeno/conjugado en cada pocillo.
6. Incubar a 37°C ±2 C durante 60±5 minutos.
7. Lavar e inundar cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.
8. Pipetear 100µl de sustrato TMB en cada pocillo.
9. Incubar a 18-25° C durante 30 ±- 2 minutos.
10. Parar la reacción añadiendo 100µl de solución ácido sulfúrico 1 mol/l inmediatamente después de la incubación.
11. Leer la absorbancia de la solución de cada pocillo en el lector de ELISA a 450 nm al cabo de una hora de parar la reacción.

Procedimiento de la prueba Vironostika VEB VCA IgG.

1. Preparar la placa con la cantidad necesaria de tiras microelisa.
2. Pipetear en los pocillos correspondientes muestras diluidas: 100µl de cada calibrador I un replicado de 100 µl calibrador II tres replicados de 100 µl calibrador IV un replicado de 100 µl
3. Incubar a 37 +/- C durante 60 +/- 5 minutos.
4. Lavar y dejar en remojo cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.
5. Pipetear 100 µl de conjugado encada pocillo.
6. Incubar a 37 +/-2 C durante 60+/- 2 minutos.
- 7.Lavar y dejar en remojo cada pocillo cuatro veces con tampon fosfato diluido, inmediatamente después de la incubación.
8. Pipetear 100 µl de sustrato TMB en cada pocillo.
9. Incubar a 18-25 °C durante 30 +/- 2 minutos.
10. Parar la reacción añadiendo a cada pocillo 200µl de solución de parada a cada pocillo inmediatamente después de la incubación (mantener la misma secuencia de pipeteado e intervalos de tiempo que en la adición del sustrato TMB)
14. Preparar el blanco al aire (sin soporte ni tiras adentro). Leer la absorbancia de la solución de cada pocillo a 450 nm y 620-700 nm al cabo de una hora.

Procedimiento de la prueba Vironostika anti-CMV II.

1. Preparar la placa con la cantidad necesaria de tiras microelisa .
2. Pipetear 100µl de atigeno en cada pocillo.
3. Incubar a 37 +/- C durante 60 +/- 5 minutos (iniciar incubación en los 5 minutos siguientes al pipeteado).
4. Lavar e inundar cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.
5. Pipetear 100 µl de cada muestra y controles diluido en los pocillos apropiados. (Pipetear los controles y calibradores después de las muestras).
Si se utiliza una tira, incluir un control negativo, un control positivo y un control fuertemente positivo.
Si se utiliza más de una tira, incluir dos o más controles negativos, dos o más controles positivos y dos o más controles fuertemente positivos en cada placa de tiras.
6. Incubar a 37 +/-2 C durante 60+/- 5 minutos.
(iniciar la incubación en los 5 minutos siguientes al pipeteo)

7. Lavar e inundar cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.

8. Pipetear 100 μ l de conjugado en cada pocillo.

(Finalizar el pipeteado en los 5 minutos después del lavado)

9. Incubar a 37 \pm 2 °C durante 60 \pm 5 minutos.

(Iniciar la incubación en los 5 minutos después del pipeteado)

10. Lavar e inundar cada pocillo cuatro veces con tampón fosfato, inmediatamente después de la incubación.

11. Pipetear 100 μ l de sustrato TMB en cada pocillo

12. Incubar a 18-25 °C durante 30 \pm 2 minutos.

13. Para la reacción añadiendo a cada pocillo 100 μ l ácido sulfúrico 1 mol/l (mantener el mismo orden de pipeteado e intervalos de tiempos utilizados para la adición de sustrato TMB).

14. Hacer el blanco al aire (sin placa) y leer la absorbancia de la solución de cada pocillo a 450 \pm nm y 620-700 nm como referencia (longitud de onda doble).

4.0.0 RESULTADOS

En la tabla N° 5 se muestran los resultados positivos y negativos del EBV reportados por el INDRE en los años de 1999, 2000 y 2001, así como también los porcentajes obtenidos durante estos tres años.

TABLA 5 RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS REPORTADOS EN EL INDRE EN ÉL DIAGNOSTICO DE VEB EN LOS AÑOS 99-01.

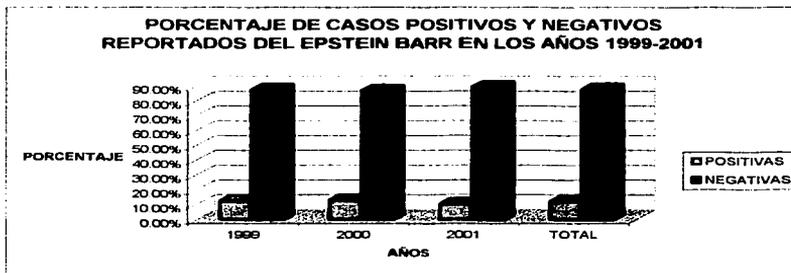
EPSTEIN BARR

AÑO	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%	TOTAL
1999	35	12.4	241	87.6	275
2000	44	13.2	289	86.8	333
2001	23*	10.5	196	89.5	219
TOTAL	101	12.2	726	87.8	827

*En el año 2001 se reportaron 23 casos positivos para el VEB pero sólo se consideraron 22 para redondear la cifra a 100 datos y realizar el análisis estadístico.

En la grafica N° 1 se muestran los porcentajes de los casos positivos y negativos del EBV reportados por el INDRE en los años 1999, 2000, 2001.

GRAFICA 1



**TEJIDOS CON
FALLA DE ORIGEN**

En la tabla N° 6 se muestran los resultados positivos y negativos del CMV reportados por el INDRÉ en los años de 1999, 2000 y 2001, así como también los porcentajes obtenidos durante estos tres años.

TABLA 6 RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS REPORTADOS EN EL INDRÉ EN ÉL DIAGNOSTICO CMV EN LOS AÑOS 99-01.

CITOMEGALOVIRUS

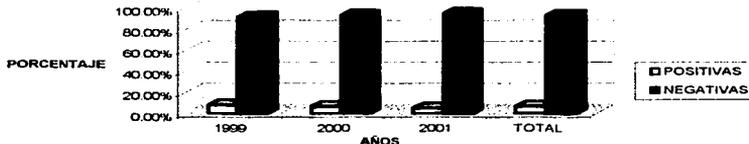
AÑO	POSITIVAS	%	NEGATIVAS	%	TOTAL
1999	57	8.26	633	91.73	690
2000	53	6.75	733	93.25	786
2001	28	4.81	554	95.18	582
TOTAL	138	6.70	1920	93.30	2058

*Se realizó un ajuste de 100 muestra reportados de CMV por medio de azar para considerar los tres años.

En la grafica N° 2 se muestran los porcentajes de los casos positivos y negativos del CMV reportados por el INDRÉ en los años 1999, 2000, 2001.

GRAFICA 2

PORCENTAJE DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS REPORTADOS DEL CITOMEGALOVIRUS EN LOS AÑOS 1999-2001



TESTIS CON FALLA DE ORIGEN

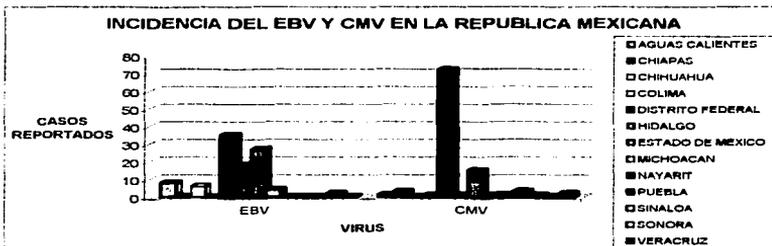
En la tabla N° 7 se muestran los diferentes estados de la República Mexicana de donde se enviaron las muestras cuyo resultado fue positivo para el EBV Y CMV, así como también se muestra la semejanza o diferencia de la incidencia de cada uno de los virus en estos estados.

TABLA 7 INCIDENCIA DEL VEB Y CMV EN LOS ESTADOS DE LA REPUBLICA MEXICANA EN LOS AÑOS 99-01

ESTADO	CASOS POSITIVOS CITOMEGALOVIRUS	CASOS POSITIVOS EPSTEIN BARR
AGUAS CALIENTES	1	8
CHIAPAS	3	0
CHIHUAHUA	0	6
COLIMA	1	0
DISTRITO FEDERAL	72	35
HIDALGO	1	18
ESTADO DE MÉXICO	15	27
MICHOACÁN	1	4
NAYARIT	1	0
PUEBLA	3	0
SINALOA	1	0
SONORA	0	2
VERACRUZ	2	0

En la grafica N° 3 se muestran los estados de la Republica Mexicana con mayor incidencia para el EBV y CMV.

GRAFICA 3



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En la tabla N° 8 se muestran las principales sintomatologías características del EBV y los grupos de edad donde se presenta esta sintomatología.

TABLA 8 SINTOMATOLOGIA VS GRUPOS DE EDAD.

EPSTEIN BARR

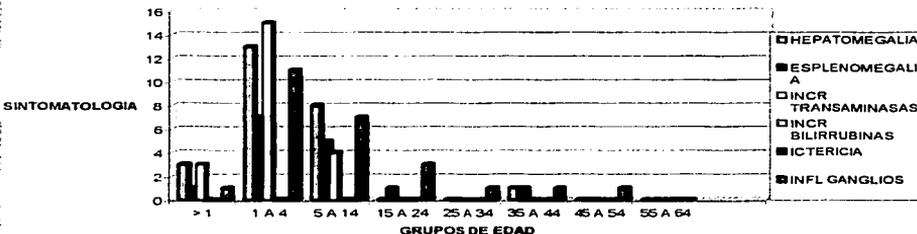
SINTOMATOLOGIA	>1	1-4	5-14	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64
HEPATOMEGALIA	3	13	8	0	0	1	0	0
ESPLENOMEGALIA	1	7	5	1	0	1	0	0
INCREMENTO TRANSAMINASAS	3	15	4	0	0	0	0	0
INCREMENTO BILIRRUBINAS	0	0	0	0	0	0	0	0
ICTERICIA	0	0	0	0	0	0	0	0
INFLAMACIÓN DE GANGLIOS	1	11	7	3	1	1	1	0

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

En la grafica N° 4 se observan los grupos de edad donde se presentan las principales sintomatologías características del EBV.

GRAFICA 4

SINTOMATOLOGIA VS GRUPOS DE EDAD



En la tabla N° 9 se muestran las principales sintomatologías características del CMV y los grupos de edad donde se presenta esta sintomatología.

TABLA 9 SINTOMATOLOGIA VS GRUPOS DE EDAD

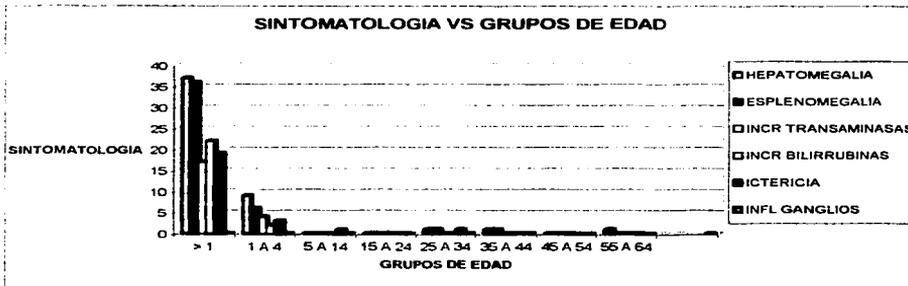
CITOMEGALOVIRUS								
	>1	1-4	5-14	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64
HEPATOMEGALIA	37	9	0	0	1	1	0	1
ESPLENOMEGALIA	36	6	0	0	1	1	0	1
INCREMENTO TRANSAMINASAS	17	4	0	0	0	0	0	0
INCREMENTO BILIRRUBINAS	22	2	0	0	0	0	0	0
ICTERICIA	19	3	1	0	1	0	0	1
INFLAMACIÓN DE GANGLIOS	0	0	0	0	0	0	0	0

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la grafica N° 5 se observan los principales grupos de edad donde se presentan las sintomatologías características del CMV.

GRAFICA 5

SINTOMATOLOGIA VS GRUPOS DE EDAD



En la tabla N° 10 se observan los diferentes síndromes de cada uno de los virus y se compara con la sintomatología predominante de estos virus.

TABLA 10 SINTOMATOLOGIA VS SÍNDROME

EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS

SINTOMATOLOGIA	SMI CMV	SCOL CMV	SDIG CMV	SFC EBV	SMI EBV
HEPATOMEGALIA	9	38	1	0	24
ESPLENOMEGALIA	10	33	1	0	14
INCREMENTO TRANSAMINASAS	1	20	0	0	23
INCREMENTO BILIRRUBINAS	0	24	0	0	0
ICTERICIA	6	16	0	0	0
INFLAMACIÓN DE GANGLIOS	0	0	0	0	25

SMI= SÍNDROME DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

SCOL= SÍNDROME COLESTÁSICO

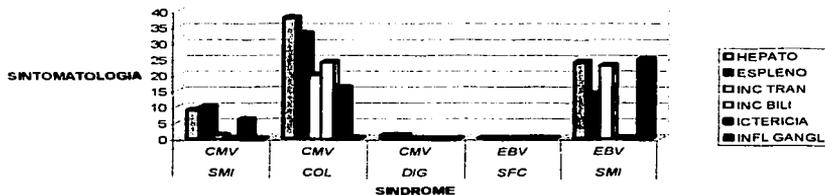
SFC= SÍNDROME DE LA FATIGA CRÓNICA

SDIG= SÍNDROME DIGESTIVO

En la gráfica N° 6 se observan los diferentes síndromes de cada uno de los virus y se compara con la sintomatología predominante en estos mismos.

GRAFICA 6

SINTOMATOLOGIA VS SÍNDROME



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

En la tabla N° 11 se presenta la sintomatología que más prevalece tanto en el sexo femenino como en el masculino.

TABLA 11 SINTOMATOLOGIA VS SEXO

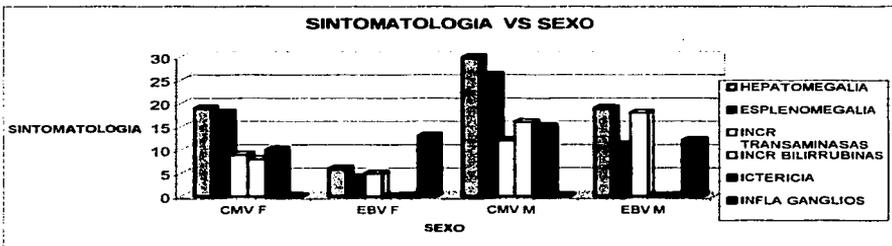
EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS

SINTOMATOLOGIA	FEMENINO CMV	FEMENINO EBV	MASCULINO CMV	MASCULINO EBV
HEPATOMEGALIA	19	6	30	19
ESPLENOMEGALIA	18	4	26	11
INCREMENTO TRANSAMINASAS	9	5	12	8
INCREMENTO BILIRRUBINAS	8	0	16	0
ICTERICIA	10	0	15	0
INFLAMACIÓN DE GANGLIOS	0	13	0	12

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En la grafica N° 7 se presentan la sintomatología presente tanto en el sexo femenino como en el masculino del EBV y CMV.

GRAFICA 7



En la tabla N° 12 se muestran los diferentes síndromes de los dos agentes virales y la prevalencia que estos tienen tanto en el sexo masculino como en el femenino.

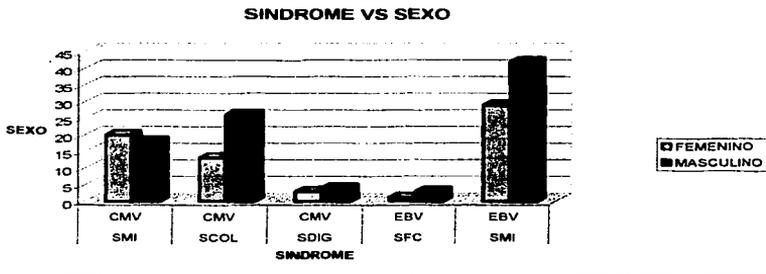
TABLA 12 SINDROME VS SEXO.

EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS

SEXO	SMI CMV	SCOL CMV	SDIG CMV	SFC EBV	SMI EBV
FEMENINO	20	13	3	1	29
MASCULINO	18	26	4	3	42

En la grafica N° 8 se muestran los diferentes síndromes de los dos agentes virales y la prevalencia que estos tienen tanto en el sexo masculino como en el femenino.

GRAFICA 8



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En la tabla N° 13 se muestra la incidencia que hay entre los grupos de edad y sexo.

TABLA 13 GRUPOS DE EDAD VS SEXO.

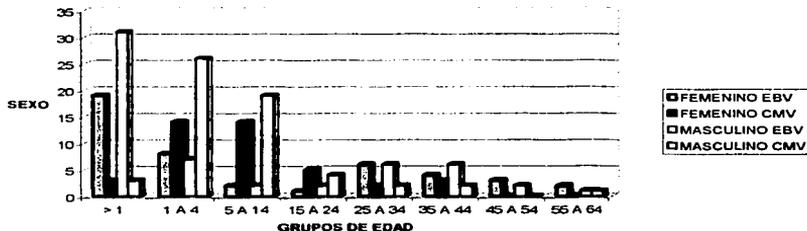
EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS

SEXO	>1	1-4	5-14	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64
FEMENINO EBV	19	8	2	1	6	4	3	2
FEMENINO CMV	3	14	14	5	2	3	0	0
MASCULINO EBV	31	7	2	2	6	6	2	1
MASCULINO CMV	3	26	19	4	2	2	0	1

En la grafica N° 9, se muestra la incidencia que hay entre los grupos de edad y sexo.

GRAFICA 9

GRUPOS DE EDAD VS SEXO



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En la tabla N° 14 se analiza la presencia de los diferentes síndromes de cada virus comparado con los grupos de edad para determinar la incidencia de cada uno de ellos en alguna edad específica.

TABLA 14 GRUPOS DE EDAD VS SÍNDROME.

EPSTEIN BARR Y CITOMEGALOVIRUS

SEXO	>1	1-4	5-14	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64
SMI CMV	1	7	3	1	16	5	3	2
SCOL CMV	33	6	0	0	0	0	0	0
SDIG CMV	0	0	0	1	3	3	0	0
SFC EBV	0	0	3	0	0	1	0	0
SMI EBV	5	35	19	6	2	3	1	0

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

En la grafica N° 10 se observa la incidencia de los síndromes de ambos virus con respecto a los grupos de edad.

GRAFICA 10

GRUPOS DE EDAD VS SINDROME



5.0.0 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en las (tablas N° 5 y 6 así como en las graficas N° 1 y 2) de casos positivos y negativos reportados en el INDRE en el diagnóstico de VEB y CMV en los años 1999 – 2001 muestran la incidencia de estos dos agentes en la República Mexicana.

Este análisis nos permitió observar que de Enero de 1999 a Diciembre del 2001 los resultados fueron que el CMV presentó una mayor incidencia con 138 muestras positivas y un total de 2058 casos presuntivos; por otro lado el EBV presenta 101 casos positivos y un total de 827 casos presuntivos. Es importante mencionar que en algunos casos el diagnóstico se realizaba para ambos virus dado a que el conjunto de síntomas y signos son muy parecidos en ambos.

En cuanto a la tabla N° 7 y grafica N° 3 se observa que los estados de la República Mexicana que reportaron más casos positivos tanto para el diagnóstico de EBV como de CMV son el D.F. y el Edo. de México en orden sucesivo; aquí es importante hacer hincapié en que estos resultados pueden estar influenciados de cierta forma por la cercanía geográfica que estos tienen con el Instituto.

En las tablas N° 8 y 9, así como las graficas N° 4 y 5 observamos que el cuadro clínico (aquí es importante mencionar que al inicio del trabajo se contaba con un mayor número de síntomas y signos pero dado a que los demás no contaban con una cifra significativa solo se presentan los más representativos) en ambos virus es muy similar hay hepatomegalia, esplenomegalia, aumento de transaminasas, las cuales ya son complicaciones graves; y estas están afectando principalmente a recién nacidos en el caso del CMV y a niños de 1 a 14 años para el EBV lo cual es interesante analizar dado a que en la bibliografía consultada señala que una infección por el EBV en niños es asintomática y en este trabajo los resultados nos indican todo lo contrario.

De acuerdo a los datos observados en la tabla N° 10 y grafica N° 6 podemos decir que el Síndrome que más presentó el CMV es el Síndrome Coléstatico (el cual se presenta principalmente en personas inmunodeprimidas) y el EBV presenta principalmente Síndrome de Mononucleosis Infecciosa.

Por otro lado tenemos que las tablas N° 11 y 12 así como las graficas N° 7 y 8 nos indican que tanto el EBV y CMV presentan mayores complicaciones en el sexo masculino, además de en que la tabla N° 13 y grafica 9 se observa que los grupos de edad (niños) que se ven más afectados pertenecen al sexo masculino (aunque aquí no es muy clara su tendencia).

Finalmente se menciona en la bibliografía que los casos de SMI causada por EBV ocurren de la adolescencia en adelante y en la tabla N° 14 y grafica 10 se muestra que esta sé esta manifestando pncipalmente en niños de 1 a 14 años. Por otro lado también se menciona que en personas mayores de 25 años, el agente etiológico más frecuente de Mononucleosis infecciosa es el CMV, lo cual se observa en la tabla N° 15 y grafica 11 ya que hay un incremento en el número de personas con Mononucleosis infecciosa por CMV a partir del grupo de 25 años en adelante.

6.0.0 CONCLUSIONES

Entre los principales síntomas y signos que prevalecen en una infección por EBV y CMV en la República Mexicana se presentan complicaciones graves como hepatomegalia y esplenomegalia.

Los grupos de edad y sexo más afectados por el EBV y CMV son los niños recién nacidos para el caso del CMV y los niños de 1-14 años para el caso del EBV; por otro lado se muestra cierta tendencia aunque no muy clara hacia el sexo masculino.

Finalmente la incidencia del CMV en la República Mexicana es mayor en comparación de la que presenta el EBV.

7.0.0 ANEXO

FUNDAMENTOS Y PROCEDIMIENTOS DE LAS PRUEBAS.

Vironostika EBV VCA IgM es un ELISA basado en el principio de la captura de anticuerpos. En concreto los pocillos se hallan recubiertos de anticuerpo monoclonal contra IgM humana (específicos de la cadena M) que constituye la fase sólida. Se añade la muestra del paciente a un pocillo y se incuba. Si la muestra contiene IgM queda capturado por el anticuerpo unido a la superficie.

El conjugado (p 18 anti-VCA monoclonal conjugado con peroxidasa de rábano picante) se diluye con el diluyente de conjugado (antígeno del péptido p 18 VCA), formándose los complejos antígeno-anticuerpo. A continuación se añade el conjugado diluido a los pocillos y se incuba. Los complejos se unen a cualquier IgM anti VCA del paciente capturado.

La peroxidasa de rábano picante de los complejos de unión reacciona con el sustrato TMB produciéndose la aparición de color. La absorbancia de la solución, medida a 450nm, es proporcional a la concentración de Antígeno de la Cápside del virus Epstein Barr en la solución de reacción.

Vironostika CMV es un ELISA basado en el principio del sándwich con captura de anticuerpos. Concretamente, los pocillos microelisa se hallan recubiertos de anticuerpo de oveja frente a IgM los cuales constituye la fase sólida. La muestra problema se añade a un pocillo y se incuba. Todos los anticuerpos IgM en la muestra se unirán al anticuerpo en fase sólida. Después de lavar, el antígeno CMV y el conjugado anti-CMV de oveja marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) se añade al pocillo y se incuban. El antígeno y el anticuerpo marcado se unirán al complejo anti-CMV IgM/anti-IgM en fase sólida que se haya formado anteriormente. Después de lavar e incubar con el sustrato tetrametilbencidina (TMB), se produce un color que es amarillo cuando la reacción es parada con ácido sulfúrico. Dentro de unos límites, la intensidad del color es proporcional a la concentración del anti-CMV IgM de la muestra. La concentración de anticuerpos relativa puede estimarse mediante la relación señal/cutoff.

Vironostika VEB VCA IgG es un ELISA basado en el principio del sándwich.

En concreto los pocillos se hallan recubiertos con un péptido sintético p 18 EBV VCA que constituye la fase sólida. Se añade la muestra del paciente a los pocillos y se incuba. Si la muestra contiene anticuerpos específicos frente a p 18 VEB VCA se forman complejos antígeno anticuerpo. A continuación se añade el conjugado (anti-IgG humana conjugada a peroxidasa del rábano picante y se incuba. Se une a los complejos antígeno-anticuerpo. La peroxidasa de rábano picante de los complejos de unión reacciona con el sustrato TMB produciéndose la aparición de color. La absorbancia de la solución, medida a 450 nm, es proporcional a la concentración de IgG frente al Antígeno de la Cápside del virus Epstein Barr en la solución de reacción.

Vironostika anti-CMV II es un ELISA basado en el principio de sándwich.

Concretamente los pocillos microelisa se hallan recubiertos con anti-CMV monoclonal de ratón que constituye la fase sólida. El antígeno CMV inactivado se añade a los pocillos y se formará una fase sólida anticuerpo/antígeno. Después de la adición de una muestra problema (o control) conteniendo anticuerpos anti_CMV, se formaran complejos inmunes entre estos anticuerpos y el anticuerpo-antígeno en fase sólida. Después de incubar, la muestra se aspira y los pocillos se lavan con tampón.

A continuación, se añaden las inmunoglobulinas anti-humanas de oveja marcadas con peroxidasa de rábano picante (HRP) que se ligan al complejo anticuerpo-antígeno durante la segunda incubación.

Después de lavar e incubar con el sustrato tetrametilbencidina (TMB), se produce un color que se vuelve amarillo cuando la reacción es parada con ácido sulfúrico. Dentro de unos límites, la intensidad de color es proporcional a la concentración de anti-CMV de la muestra problema. La concentración de anticuerpos puede calcularse mediante la relación absorbancia/cutoff.

EQUIPO:

- Baño María
- Centrifuga Refrigerada
- Balanza Granataria
- Lector de ELISA
- Vortex

MATERIAL

- Tubos de ensaye
- Pipeta graduada de 5 ml.
- Pipetas multicanal o de un solo canal de 10 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 200 μ l,1000 μ l con exactitud de +/-2%
- Puntas.
- Recipientes en forma de V
- Cronómetro
- Recipiente de desechos, biológicamente peligrosos, para los materiales potencialmente contaminados
- Guantes (desechables)
- Cubrebocas (desechables)

8.0.0 BIBLIOGRAFÍA

- 1.- AMDINDER RF, MANN RB. 1994. Detection and characterization of Epstein-Barr virus clinical specimens. *Am J Pathol*. 145:239-252.
- 2.- BADLEY AD, PATEL R, PORTELA DF et al. 1996. Prognostic significance and risk factors of untreated cytomegalovirus viremia in liver transplant recipients. *J Infect Dis*. 173: 446-449.
- 3.- BOLAND GJ, DE WEGER RA, TILANUS MG, VERVERS C, BOSBOOM-KALSBECK K, DE GAST GC. 1992. Detection of Cytomegalovirus (CMV) in granulocytes by polymerase chain reaction compared with the CMV antigen test. *J Clin Microbiol*. 30:1763-1767.
- 4.- BRAUDE ABRAHAM I. 1988. *Enfermedades Infecciosas*. Buenos Aires (Argentina). Editorial Panamericana, pp 840.
- 5.- CHOU S. 1990. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis* (suppl): 727.
- 6.- DEANNA GRIMES. 1994. *Enfermedades Infecciosas*. España. Mosby/ Doyra Libus, pp 118-119.
- 7.- DIETERICH DT, KOTLER DP, BUSCH DF. 1993. Ganglicidovir treatment of cytomegalovirus colitis in AIDS: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study. *J. Infect Dis* 167:278.
- 8.- FRANK FENNER, DAVID O. WHITE. 1981. *Virología Médica*. 2da edición. México D.F. Editorial La Prensa Médica Mexicana. pp 290-296.
- 9.- HENLEW. HENLE GE, HORWITZ CA. 1994. Epstein- Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis, *Human Pathology*, 5:551-565.
- 10.- HENRY BERNARD JOHN. 1997. *Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio*. México D.F. Masson- Salvat (Medicina), pp 250, 1272-1276
- 11.- JAWETZ, ERNESTS, JOSEPH L. MELNICK, EDWARD A. ADELBERG. 1992. *Microbiología Médica*, 14ava. Edición. México D.F. El Manual Moderno, p.p. 464-471.

- 12.- JOKLIK WOLFGAGG K., WILLETT HILDA P., AMOS D. BERNARD. 1998. *Microbiología*. 20ava edición. Buenos aires: Editorial medica Panamericana, pp 1278-1284.
- 13.- KONEMAN ELMER W. (et. al) . 1999. *Diagnóstico Microbiológico*. 5ta. Edición. Buenos Aires.: Editorial medica Panamericana, p.p. 1180-1182.
- 14.- KUMATE JESÚS, GUTIERREZ GONZALO. 1986. *Manual de infectología*. 11ava edición. México, D.F. Ed. Editor Francisco Mendez Cervantes, p.p. 326-336.
- 15.- MCKENZIE R. TRAVIS WD, DOLAN SA, et al. 1992. The cause of death in patients with human immunodeficiency virus infection: A clinical and pathologic study with emphasis on the role of pulmonary diseases. *Medicine* 70:326.
- 16.- MEYERS JD, FLOURNOY N, THOMAAS ED. 1982 Nonbacterial pneumonia after allogenic marrow transplantation: A review of the years' experience. *Rev Infect Dis* 4:1119.
- 17.- MEYERS JD, SPENCER HC, WATTS JC, et al. 1975. Cytomegalovirus pneumonia after human marrow transplantation. *Ann Inter Med* 82:181.
- 18.- MILLER G. 1990. Epstein Barr virus. En: Fields BN, Knipe DM (eds): *Virology*, 2ed. Nueva York, Raven Press, p.p. 55-57.
- 19.- MURRAY PATRICK R., W. LAWRENCE DREW. M.D. , PH. D GEORGE S. HOBAYASHI. 1999. *Microbiología Médica*. España. p.p. 523
- 20.- M. GILBERTO ANGEL. R. MAURICIO ANGEL. 1996. *Interpretación Clínica por el Laboratorio*. 5ta edición. Bogota Colombia. El manual *Moderno*, p.p. 590-592.
- 21.- NAVIA BA, CHO E, PETITO C, et al. 1986. The AIDS dementia complex II. *Neuropathology* Ann Neurol 19:525.
- 22.- NICOLL DIANA, STEPH J MC PHEE. 1990. *Manual de pruebas diagnósticas*. 3ra edición. México D.F. El Manual *Moderno*, p.p. 51-82.
- 23.- RICHTSMEIERS WJ, WITTELS EG, MAZUR EM. 1987. Epstein Barr/virus-associated malignancies. *Cnt Rev Clin Lab Sci*. 25: 105-136.
- 24.- WILEY CA, NELSON A. 1998. Role of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus in AIDS encephalitis. *Am J Pathol* 133:73.

- 25.- www.facmed.unam.mx/depyos/microbiología/libro/index.htm/
- 26.- José Luis Pérez Sáenz, María de Oña Navaro, Concepción Gimeno Cardona, Joaquín Mendoza Montero. Diagnóstico de Laboratorio de las infecciones por Herpesvirus. 1995. (pagina web)
- 27.- www.conganat.org/info_torsa/conf/cap2/gralidad.htm.
- 28.- www.methodisthealth.com/spanish/infect/mono.htm.
- 29.- www.iladiba.com.co/revista/1997/11/terap.asp-18K.
- 30.- www.danival.org/notasvir/virus/vir-160-virrepli-a.html
- 31.- www.fei.es/protocol/sero08.htm.
- 32.- www.terra.es/personalinnunz/herpesviruses1.html.
- 33.- www.terra.es/personalinnunz/herpesviruses2.html
- 34.- www.microbelibrary.org/images/tornaty/HTMLpages/EPSTEIN-Spanish.HTM