



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

IMPORTANCIA DE LA INFECCIÓN POR
CITOMEGALOVIRUS EN DONANTES DE SANGRE

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICO-BIOLÓGICA

PRESENTA:

SONIA JIMÉNEZ ZARAGOZA

CD.MX.



2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profesor: Rodolfo Pastelín Palacios

VOCAL: Profesor: Abel Gutiérrez Ramos

SECRETARIO: Profesor: Julio Cesar Martínez Álvarez

1er. SUPLENTE: Profesor: Atziri Corona Romero

2do. SUPLENTE: Profesor: Hugo Antonio Hernández Pérez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

CMN 20 DE NOVIEMBRE DEL ISSSTE.

ASESOR DEL TEMA:

Rodolfo Pastelín Palacios _____

SUPERVISOR TÉCNICO:

José Gutiérrez Salinas _____

SUSTENTANTE:

Sonia Jiménez Zaragoza _____

AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias:

A DIOS porque sin su ayuda no hubiera podido llegar hasta aquí haciendo realidad uno de mis más grandes anhelos.

A MIS PADRES por sus consejos que me impulsaron y motivaron para estudiar, por el apoyo incondicional que me brindaron en el transcurso de mi vida y por la herencia más valiosa que pudiera recibir.

A MIS HIJAS Y ESPOSO por su paciencia, comprensión y tolerancia durante el tiempo que dediqué a este proyecto y que les resté atención y cariño.

A MIS ASESORES por haber aceptado colaborar conmigo y hacer posible la culminación de mi carrera profesional.

A la química ANA MARIA GONZÁLEZ, al doctor FERNANDO RODRÍGUEZ y al químico GUILLERMO GARCÍA; admiro su profesionalismo y calidad humana.

ABREVIACIONES

AABB	Asociación Americana de Bancos de Sangre
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AL	Aglutinación en Latex
AMP	Adenosin Monofosfato
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
CLIA	Quimioluminiscencia
CMH	Complejo Principal Histocompatibilidad
CMV	Citomegalovirus
CUCI	Colitis Ulcerativa Crónica Idiopática
ECMV	Enfermedad por Citomegalovirus
ELISA	Ensayo por Inmuno Absorción Ligado a Enzimas
FNT	Factor de Necrosis Tumoral
gB	Glicoproteína B
gH	Glicoproteína H
HLA	Antígeno Leucocitario Humano
HSC	Células Madre Hematopoyéticas
HSCT	Trasplante de Células Madre Hematopoyéticas
HTLV 1/2	Virus Linfotrópicos-T Humanos Tipo 1 y 2
IC	Inmunocromatografía
IFN γ	Interferon gamma
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M

IL	Interleucina
ITT	Infección Transmitida por Transfusión
LBA	Líquido Broncoalveolar
MHC	Major Histocompatibility Complex (en inglés)
NAT	Prueba de Ácidos Nucleicos
NK	Natural Killer (en inglés). Célula Asesina
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
RFNH	Reacciones Febriles No Hemolíticas
RPR	Reagina Plasmática Rápida
SARS	Síndrome Respiratorio Agudo Grave
SIDA	Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SV	Shell Vial
TARGA	Terapia Antirretroviral de Gran Actividad
TLRs	Toll-like Reseptors
TOS	Trasplante de Órganos Sólidos
TPH	Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos
TT-CMV	Citomegalovirus Transmitido por Transfusión
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VDRL	Venereal Research Disease Laboratory (en inglés)
VEB	Virus de Epstein Barr
vECJ	Variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
VHA	Virus de la Hepatitis A
VHB	Virus de la Hepatitis B

VHC	Virus de la Hepatitis C
VHD	Virus de la Hepatitis D
VHE	Virus de la Hepatitis E
VI H	Virus de la Inmunodeficiencia Humana

INDICE

	Página
Resumen	1
Capítulo	
• Introducción	3
• Problemas postransfusionales: Transfusión sanguínea y enfermedades emergentes	4
• Infecciones virales	8
• NOM-253 SSA-1 2012 Pruebas obligatorias	9
• Citomegalovirus	15
• Historia del CMV	16
• Características biológicas del CMV	18
o Estructura	18
o Antigenicidad	19
o Vía de entrada	20
o Desarrollo en el organismo	21
o Latencia	22
o Reactivación	22
• Patología	23
o Mononucleosis infecciosa	23
o Infección congénita	23
o Infección en inmunodeprimidos	24
o Infección en trasplante de órgano solido	25
o Infección en trasplantados de precursores hematopoyético.....	26
o Infección en pacientes con el virus de la VIH.....	26
• Prevención y tratamiento de la enfermedad por CMV	27
• Respuesta inmune	28
• Diagnóstico de la infección	31
o Detección de citomegalia	31
o Cultivo	32
o Prueba de antigenemia	33
o Diagnóstico serológico	34
o Diagnóstico molecular	38

- CMV en hospederos inmunocompetentes41
- Leucorreducción en concentrados eritrocitarios.....44
- Actualización en la prevención de la infección por CMV
transmitidas por transfusión48
- Conclusiones57
- Bibliografía59

RESUMEN

La transfusión sanguínea se ha convertido para millones de personas en una alternativa terapéutica de más rápido y eficiente impacto cuando está correctamente indicado y administrado; sin embargo también se relaciona con reacciones inmunológicas, infecciones severas, reacciones hemolíticas, manifestaciones de intoxicación o reacción adversa a los componentes químicos incluidos en las bolsas para preservación de eritrocitos, etc.

En este trabajo nos centraremos en la transmisión de enfermedades infecciosas a través de la transfusión y particularmente de un agente patógeno cuya prevalencia es de 90-100 % en países subdesarrollados como el nuestro y del 40 al 85 % en países desarrollados. Este agente es el citomegalovirus (CMV) que pertenece a la familia Herpes viridae y que permanece latente sin ocasionar enfermedad, pero puede sufrir reactivación en pacientes inmunodeprimidos, como los que se someten a un trasplante de médula ósea, órganos sólidos, seropositivos al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), los que reciben quimioterapia o en infecciones congénitas, principalmente.

Su transmisión ocurre por el contacto de saliva, orina, secreciones vaginales, semen, leche materna, transfusión sanguínea, trasplante de órganos, progenitores hematopoyéticos y transmisión vertical de madre a hijo.

La infección por CMV genera anticuerpos específicos IgM al comienzo y posteriormente IgG. El diagnóstico se efectúa por aislamiento del virus, o por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) del DNA viral en orina, sangre o líquido cefalorraquídeo.

El objetivo de esta investigación es saber cuál es el mejor método de prevención contra la infección del CMV ya que es un agente patógeno que no está como una prueba serológica obligatoria en los bancos de sangre por lo que las medidas para garantizar la seguridad sanguínea se basan en la utilización de donantes voluntarios habituales, la selección cuidadosa del donante mediante el examen físico y el interrogatorio médico, la autoexclusión, la detección de marcadores serológicos de infecciones y la introducción de ensayos para la detección de ácidos nucleicos.

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos principales de la transfusión sanguínea es mantener la adecuada oxigenación de los tejidos en el receptor para aumentar su supervivencia ante un evento patológico determinado. Así, la transfusión sanguínea es un recurso terapéutico muy usado en personas que padecen algún tipo de anemia, cirugías mayores, en niños prematuros, etc.^(1,2) Sin embargo, a pesar de sus ventajas y potencial terapéutico, la transfusión de componentes sanguíneos no está exenta de riesgos y peligros para el receptor. La transfusión de paquetes globulares se asocia con reacciones inmunológicas, infecciones severas, reacciones hemolíticas, manifestaciones de intoxicación o reacción adversa a los componentes químicos incluidos en las bolsas para preservación de eritrocitos; sobrecarga circulatoria, hiperkalemia, sobrecarga de sodio, entre otras.^(1,2)

En medicina transfusional se produjeron cambios espectaculares en todos sus procesos, desde la selección de donantes hasta la utilización de componentes sanguíneos y hemoderivados. Condicionados fundamentalmente porque la transmisión de infecciones a través de la transfusión de sangre y sus componentes es una de las complicaciones más temidas de este importante procedimiento terapéutico. Constituye el elemento terapéutico de más rápido y eficiente impacto cuando está correctamente indicado y administrado. Las situaciones médicas de emergencia, como las provocadas por accidentes y actos de violencia, las asociadas a cirugía mayor, enfermedades no transmisibles, trastornos hematológicos como la hemofilia, la leucemia y la anemia aplásica y las complicaciones de embarazo y parto, requieren el uso de algún componente o derivado sanguíneo.⁽⁴⁻⁸⁾

Un paquete globular puede contener elementos tóxicos o dañinos para el receptor que pueden provenir directamente del donador, como los virus que, por su naturaleza, pueden provocar infecciones asintomáticas en el sujeto donante. Por ello el control bacteriológico y viral de los donantes es muy importante para evitar una infección transmitida a través de una transfusión sanguínea.⁽⁹⁾

PROBLEMAS POSTRANSFUSIONALES

Transfusión sanguínea y enfermedades emergentes.

La transmisión de enfermedades infecciosas a través de la transfusión sanguínea ha sido siempre uno de los principales focos de observación en la seguridad de los bancos de sangre de todo el mundo. La movilidad humana y el contacto de éste con otras especies (zoonosis) son factores determinantes para que sea apremiante la necesidad de diagnosticar lo más rápido posible la existencia de un patógeno potencialmente infeccioso para establecer medidas de contingencia y evitar una afectación a la salud global de los individuos y su dispersión. En esta época, la posibilidad de contraer una infección transmitida por una transfusión sanguínea (ITT) es realmente baja porque en la actualidad los bancos de sangre disponen de una serie de pruebas que identifican a una gran variedad de microorganismos con alto potencial de provocar una infección que ponga en peligro la vida del sujeto receptor.⁽¹⁰⁻¹⁴⁾

En los últimos 20 años mejoró notablemente el manejo de la sangre y sus derivados en los bancos de sangre. Los cuestionarios previos a la donación y la detección e inactivación de patógenos han hecho que la transfusión sanguínea sea cada vez más segura. Sin embargo, el riesgo

de transmitir un patógeno conocido, como los virus del SIDA o de la **hepatitis B o C, aún persiste debido a la "ventana de tiempo" que existe** entre la adquisición de la infección y la detección del patógeno de manera directa o a través de la detección de anticuerpos generados por la existencia del patógeno en el humano. Lo anterior es de primordial importancia en las enfermedades emergentes porque su existencia es una amenaza constante en los bancos de sangre en el mundo. Estos patógenos emergentes conllevan serios riesgos para la salud porque muchos de ellos pueden tener gran resistencia a la inactivación y un **largo periodo de incubación que les permita "escapar" a los sistemas de** detección de rutina.⁽¹²⁻¹⁶⁾

Un agente patógeno emergente puede ser un riesgo en el proceso de transfusión cuando existe un periodo asintomático en el que ese agente está en la sangre, pero no es detectado y no hay síntomas aparentes. Este periodo de incubación puede ser prolongado, como ocurre con el virus de la hepatitis y los retrovirus, o ser corto como en el caso de los virus del dengue o del oeste del Nilo.^(10,16,17,18)

Los datos actuales sugieren que es muy improbable que las manifestaciones tempranas de una enfermedad infecciosa emergente en una región determinada se detecten en los potenciales donadores de sangre; sin embargo, la detección oportuna del patógeno puede reconocerse en los bancos de sangre que existen en la región al concentrar una gran cantidad de población sana a la que se le realizan estudios rutinarios previos a la donación; sobre todo si el personal que atiende ese banco de sangre se ha sensibilizado al respecto.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

La incidencia de patógenos nuevos o emergentes es una amenaza constante para los bancos de sangre y esa amenaza se ha incrementado en los últimos tiempos. Estos patógenos emergentes tienen

características que los convierten en un serio riesgo para la salud del receptor porque pueden ser sumamente resistentes a la inactivación y tener un periodo prolongado de incubación dentro del huésped, porque son más difíciles de detectar.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

Un hecho clave para disminuir el riesgo es definir el potencial de transmisión de un agente patógeno por transfusión. Al respecto, deben considerarse algunos factores, por ejemplo: a) la frecuencia de infecciones que los receptores de la transfusión llegan a padecer, b) que la infección se manifieste como enfermedad, c) considerar el probable aumento de los casos infectados y el tiempo que lleve en detectarlos, d) estimar la severidad de la enfermedad resultante junto con las medidas de contención que pueden establecerse en la población.^(19,20)

La seguridad de los productos de la sangre depende primordialmente de la calidad en la selección de los donantes de sangre y de la realización confiable de ensayos de laboratorio en busca de enfermedades. Los métodos universalmente utilizados en la pesquisa de las infecciones en la sangre donada se basan en la detección de anticuerpos y antígenos de los microorganismos que deben investigarse a través de los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA); adicionalmente se han incorporado los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) que parten de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Independientemente de garantizar esos procedimientos, la transmisión de enfermedades infecciosas a través de la transfusión de sangre y componentes sanguíneos puede ocurrir por cuatro razones: La primera y principal es la colecta de la donación de sangre durante el periodo de ventana, definido como el lapso durante el cual el donante está infectado por un virus, no tiene signos ni síntomas, y los resultados de las estudios serológicas son negativos (cuadro 1).^(5,6,21) La segunda es la existencia

de donantes asintomáticos portadores crónicos de una infección transmisible con resultados persistentemente negativos en las pruebas de laboratorio. La tercera está dada por infecciones con mutantes o cepas no detectables con las pruebas de rutina. Y la cuarta, los errores técnicos en los laboratorios.⁽²¹⁾

En correspondencia con lo anterior, se conoce que el riesgo de contaminación por la transfusión de una unidad de sangre es de 1 en 132,000 para el VIH, 1 en 43,000 para la hepatitis B y 1 en 19,000 para el hepatitis C. Para los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de la hepatitis B (VHB), por lo menos el 90% del riesgo es atribuible al periodo de ventana; mientras que el virus para la hepatitis C (VHC) es de 73 a 88%.^(7,21)

	<u>ELISA</u>	<u>PCR</u>
<u>VIH</u>	22	13
<u>Hepatitis B</u>	45	39
<u>Hepatitis C</u>	70	10

Cuadro 1. Periodo de ventana (expresado en días)

Fuente ABC de la Medicina Transfusional Guías Clínicas. Cuba 2006

INFECCIONES VIRALES

La infección transmitida por transfusión (ITT) es producida por la transmisión directa de un agente infeccioso específico o sus productos tóxicos desde la unidad de sangre al huésped susceptible. Puede ser

endógena, por portarla el donante; o exógena, por contaminación en el procesamiento.⁽⁴⁾

Estas enfermedades son causadas por diferentes agentes biológicos y pueden cursar a lo largo de diversas etapas, desde la infección inaparente a la enfermedad grave o muerte. Hay que tener en cuenta que los términos de infección y enfermedad no son equivalentes. El primero se refiere a la entrada y el desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el huésped. El desarrollo de la enfermedad depende de diversos factores que afectan a todos los estadios de la cadena de infección.^(4,5,8)

Para que un agente infeccioso transmisible por transfusión represente un peligro para la salud pública ha de reunir ciertas características biológicas:⁽²²⁻²⁶⁾

- Debe estar presente en la sangre y transmitirse por vía parenteral de un modo eficaz.
- Debe poseer otros mecanismos de transmisión diferentes de la transfusión, que le permitan alcanzar una proporción epidémica en la población de donantes. Éstos no deben coincidir, en cuanto a los factores de riesgo epidemiológico, con los de las enfermedades infecciosas para los que se escruta a los donantes.
- Existencia de un periodo de infección asintomático.
- El agente biológico debe permanecer viable en las condiciones de conservación de los componentes sanguíneos.
- El agente biológico debe causar una enfermedad definida.

Dentro de los agentes biológicos relacionados con las infecciones transmitidas por transfusión y que poseen al menos alguna de las características anteriormente expuesta, se encuentran:^(4,23)

- Virus: Virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis D (VHD), virus de la hepatitis E (VHE), virus de inmunodeficiencia humana (VIH 1 Y 2), HTLV I/II, citomegalovirus, Epstein Barr (VEB), parvovirus B19, SARS, TTV, virus de oeste del Nilo.
- Parásitos: *Plasmodium*, *Tripanosoma cruzi*, *Babesia microfti*, *Leishmania*, *Toxoplasma gondii*.
- Bacterias: *Staphylococcus aureus*, *B difteroides*, *micrococos*, *Pseudomonas aeruginosa*, acromobacterias, coliformes, *Salmonella*, *Yersinia enterolítica*, *Serratia marsenses*, *Treponema pallidum*, *Brucella*, *Borrelia burgdorferi*.
- Otros: Priones.

A continuación se describen las pruebas obligatorias y sugeridas por la norma que rige a los bancos de sangre NOM-253 SSA-1 2012 indicadas en el capítulo 9.

9.4 Pruebas para la detección de agentes infecciosos transmisibles por transfusión

9.4.1 Con las muestras sanguíneas tomadas en cada donación de sangre y componentes sanguíneos, se deberán efectuar las pruebas para la detección de agentes transmisibles por transfusión invariablemente antes del uso terapéutico. Estas pruebas deberán realizarse en toda donación independientemente de que antes de efectuar las pruebas se hubiese dado destino final al producto sanguíneo de que se trate.

9.4.2 Las pruebas para la detección de los agentes infecciosos transmisibles por transfusión deberán incluir obligatoriamente la detección de los siguientes:

- a) *Treponema pallidum*;
- b) Virus B de la hepatitis;
- c) Virus C de la hepatitis;
- d) Virus de la inmunodeficiencia humana tipos 1 y 2, y
- e) *Trypanosoma cruzi*;

SÍFILIS

9.4.9 Detección de *Treponema pallidum*.

9.4.9.1 Tamizaje. Se deberá realizar mediante cualquiera de las pruebas siguientes:

a) Identificación de reaginas mediante una prueba de aglutinación de partículas, entre las siguientes:

- VDRL, o

- RPR, o

b) Identificación de anticuerpos específicos mediante pruebas **treponémicas con especificidad $\geq 98.50\%$, tales como:**

- Inmuncromatografía;

- Ensayo inmunoenzimático, u

- Otras con sensibilidad y especificidad igual o mayor.

*

9.4.9.2 Confirmatoria. Se deberán emplear pruebas treponémicas que tengan especificidad 99%, entre otras, cualquiera de las siguientes:

- a) Hemaglutinación contra *Treponema*;
- b) Anticuerpos fluorescentes contra el *Treponema*;
- c) Inmunofluorescencia indirecta;
- d) Inmovilización del treponema, u
- e) Otras con especificidad igual o mayor.

HEPATITIS B

9.4.10 Detección del Virus B de la hepatitis.

9.4.10.1 Tamizaje. Se deberá realizar mediante pruebas de detección del antígeno de superficie del virus B de la hepatitis, con pruebas que tengan una sensibilidad $\geq 99.5\%$ y especificidad $\geq 99.0\%$, tales como:

- a) Ensayo inmunoenzimático;
- b) Inmunoensayo por quimioluminiscencia, y
- c) Otras con sensibilidad y especificidad igual o mayor.

*

9.4.10.2 Confirmatoria. Se deberán realizar mediante la detección de antígenos con una prueba de neutralización con anticuerpos con especificidad ≥ 99.5 %.

HEPATITIS C

9.4.11 Detección del virus C de la hepatitis.

9.4.11.1 Tamizaje. Se deberá realizar mediante pruebas de detección de anticuerpos contra el virus o detección simultánea de antígenos virales y anticuerpos contra el virus que tengan una sensibilidad $\geq 99.5\%$ y especificidad ≥ 99 %, entre las siguientes:

- a) Ensayo inmunoenzimático;
- b) Inmunoensayo por quimioluminiscencia, y
- c) Otras con sensibilidad y especificidad igual o mayor.

*

9.4.11.2 Confirmatoria. Se deberá realizar mediante la prueba de "inmunoblot" recombinante u otras con sensibilidad y especificidad igual o mayor.

VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA, TIPOS 1 Y 2

9.4.12 Detección del virus de la inmunodeficiencia humana, tipos 1 y 2.

9.4.12.1 Tamizaje. Se deberá realizar mediante pruebas de marcadores de infección del virus que tengan una sensibilidad ≥ 99.5 % y una especificidad ≥ 99 %, entre las siguientes:

- a) Ensayo inmunoenzimático combinado para la determinación de antígenos y anticuerpos virales;
- b) Ensayo inmunoenzimático;
- c) Inmunoensayo por quimioluminiscencia, y
- d) Otras que tengan sensibilidad y especificidad igual o mayor.

*

9.4.12.2 Confirmatoria. La confirmación se deberá realizar mediante una prueba de detección de anticuerpos contra el VIH tipos 1 y 2, entre cualquiera de las siguientes:

- Inmunolectrotransferencia (*Western blot*);
- Inmunofluorescencia;
- Inmunoensayo recombinante, u
- Otras metodologías más avanzadas.

ENFERMEDAD DE CHAGAS

9.4.14 Detección del *Trypanosoma cruzi*.

9.4.14.1 Tamizaje. Se deberá realizar mediante pruebas de detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* que tengan una sensibilidad y especificidad ≥ 95 %, entre las siguientes:

- a) Ensayo inmunoenzimático;
- b) Aglutinación directa;
- c) Tira reactiva, y
- d) Otras con especificidad y sensibilidad igual o mayor.

9.4.14.2 Prueba suplementaria. Se deberá emplear una prueba de detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*, que tenga un formato distinto a la prueba empleada para el tamizaje y que tenga una especificidad superior.

*El control de calidad de la prueba de tamizaje efectuado en cada corrida, se demuestra cuando la prueba tiene una sensibilidad suficiente para detectar un control positivo débil.

Las pruebas se validarán a través de los controles y especificaciones que señale el fabricante.

9.4.3 Cuando por la situación epidemiológica de la región geográfica donde se encuentra el establecimiento o de la de procedencia del donante, sus antecedentes personales o sus factores de riesgo para adquirir infecciones, o bien, por las características de los futuros receptores y su susceptibilidad a adquirir o desarrollar enfermedad, el banco de sangre deberá efectuar y documentar pruebas adicionales para la detección de los agentes infecciosos transmisibles por transfusión. Las pruebas adicionales podrán incluir la detección de los agentes siguientes:

- a) *Brucella*;
- b) *Plasmodium*;

- c) Citomegalovirus;
- d) Toxoplasma;
- e) Retrovirus HTLV tipos I y II, y
- f) Otros agentes.

CITOMEGALOVIRUS

El citomegalovirus (CMV) es un virus que pertenece a la familia Herpesviridae que infecta al ser humano y que, al igual que los otros miembros de esta familia de virus, una vez adquirida la infección, éste permanece en forma latente dentro del organismo, lo que puede dar lugar a periodos de reactivación, sobre todo en sujetos inmunocomprometidos.^(10,11,28) De acuerdo con las encuestas epidemiológicas, en Estados Unidos se ha estimado que 70 por ciento de la población adulta tiene anticuerpos clase IgG contra citomegalovirus lo que significa un contacto previo con el virus. En países latinoamericanos se ha reportado de 65 a 90% de positividad de IgG para citomegalovirus en personas que superan los 16 años de edad.^(10;11,28) Se piensa que la distribución tan heterogénea del virus en el organismo contribuye de alguna forma a que en los períodos de reactivación de la infección, cuando existe alguna situación que comprometa al sistema inmunitario del individuo, pueda haber complicaciones: encefalitis, miocarditis, hepatitis o neumonía fulminante; sin embargo, en la población general una infección primaria o reactivación de la misma puede ser asintomática.^(10,11,28,29) Puesto que una infección por

citomegalovirus puede ser asintomática en personas inmunocompetentes, la posibilidad de infectar a otro sujeto mediante el intercambio de secreciones o la transfusión de componentes sanguíneos es muy alta.

HISTORIA

En 1904, patólogos alemanes describieron en las vísceras de un paciente sifilítico y en las parótidas de un niño, la presencia de células grandes con inclusiones intranucleares prominentes, creyéndose que eran producidas por protozoarios, probablemente amebas.

En 1921 Good Pasture y Talbot acuñaron el término citomegalia a estas células, en las que no pudieron definir parásito alguno y más bien notaron que eran similares a las observadas en la piel de pacientes con varicela. En 1926 Cole *et al* demostraron que una suspensión de tejido de glándulas salivares de cobayo mantenían la infectividad aún después de pasar por un filtro Berkerfeld N, el cual se consideraba en esa época que era capaz de retener a los agentes infecciosos conocidos, por lo que se postuló la etiología viral de la citomegalia. Por más de 50 años, la citomegalia fue diagnosticada generalmente post mortem hasta que en 1952 se demostraron estas células en el sedimento urinario de niños antes de fallecer por una infección diseminada grave.⁽³⁰⁻³²⁾

En 1955 el Dr. Thomas Weller trabajaba en el aislamiento en cultivo de tejidos de *Toxoplasma gondii* y le fue enviada una biopsia de hígado de un niño con una posible toxoplasmosis congénita para su estudio, con la sorpresa de que a los 20 días de incubación observaron células grandes con núcleos refráctiles que al teñirse demostraron ser cuerpos de inclusión intranucleares, cambios que no eran producidos por el *T. gondii* en cultivos tisulares.

Estudios posteriores de su grupo llevaron a la identificación del citomegalovirus (CMV), nombre dado por el Dr. Weller a estos virus.^(30,31) El Dr. Weller recibió el premio Nobel de Medicina en 1954 por su trabajo en el aislamiento del virus de la polio en cultivos de tejidos.⁽³¹⁾

Rowe *et al*⁽³³⁾ en 1956 desarrollaron una prueba serológica y demostraron la alta distribución de CMV en las poblaciones. En 1962 Weller *et al* ⁽³⁴⁾ publicaron los hallazgos virológicos y clínicos de los primeros 17 niños con infección congénita por CMV. Desde entonces esta patología ha sido ampliamente estudiada dado su enorme impacto en la salud pública.

Entre 1964 y 1966 ⁽³⁵⁾ se describieron por primera vez infecciones por CMV en pacientes con trasplante renal. En 1965 investigadores escandinavos reportaron el síndrome de mononucleosis por CMV en personas inmunocompetentes⁽³⁶⁾ y en 1970 se describió CMV asociado a transfusiones sanguíneas en cirugía cardíaca fenómeno observado desde 1966.⁽³⁷⁾

En los últimos 20 años el aumento en la cantidad de trasplantes de órganos sólidos así como el de células madre hematopoyéticas con la inmunosupresión asociada, ha producido un incremento en las infecciones CMV de tal forma que por esto y todas las otras razones anteriores, la comprensión de este virus y las patologías que produce alcanza enorme importancia médica.⁽³⁸⁾

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DEL CITOMEGALOVIRUS

ESTRUCTURA

El citomegalovirus es el herpesvirus humano (beta), perteneciente a la familia Herpesviridae, subfamilia Betaherpesvirus, género Citomegalovirus, especie herpesvirus humano 5 (<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>). Son virus ADN con un tamaño entre 200 y 300 nm, es el virus patógeno humano conocido de mayor tamaño.⁽⁴¹⁾ El virión maduro consiste de una nucleocápside de 64nm que contiene el genoma de ADN lineal de doble filamento de 235 Kb con aproximadamente 165 genes, dividido en dos segmentos separados por regiones repetidas únicas denominados UL y US (unique long y unique short, único largo y único corto) totalmente secuenciadas.^(41,42)

El genoma codifica aproximadamente de 165 a 180 proteínas (dependiendo de la cepa) y está rodeado de una cápside icosaédrica de 162 capsómeros. La nucleocápside está inmersa en un tegumento de aproximadamente 27 fosfoproteínas estructurales moduladoras de la respuesta inmune, codificadas por el virus.⁽⁴¹⁾ Posee una membrana fosfolipídica con al menos 30-40 proteínas virales y del hospedero, así como varias glicoproteínas del virus con actividad fundamental en la adhesión y entrada a la célula ^(41,42).

Estructuralmente es el herpes virus más complejo lo que se refleja en la gran cantidad de proteínas codificadas por el genoma viral.⁽⁴¹⁾

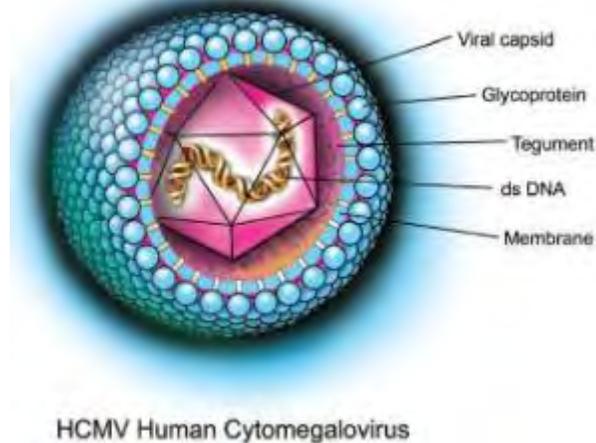


Figura 1. Estructura del Citomegalovirus

<https://cytomegalovirusproject.wikispaces.com>

ANTIGENICIDAD

Varios genes de CMV codifican para proteínas que afectan las funciones del sistema inmune, mecanismos que han evolucionado para evadir dicha respuesta. Algunas proteínas impiden la expresión normal de moléculas de CMH clase I y II, otras son homólogas de citoquinas inmunosupresoras como la IL10, algunas sirven como receptores celulares para CMV, y otras inhiben la respuesta de las células T entre muchas otras funciones modificadas por este virus.⁽⁴²⁾

La glicoproteína B (gB) codificada por el gen UL55, es un componente multifuncional de la membrana^(43,44), y es responsable por la entrada del virión a la célula por su interacción con el sulfato de heparán, de la diseminación entre células de la formación de sincicios y es blanco para

los anticuerpos neutralizantes que bloquea la adhesión a la membrana celular y la fusión, entre otras funciones.⁽⁴³⁾

Con base en variaciones en la secuencia de este gen, el CMV humano se puede clasificar en cuatro genotipos (gB1-4) aparentemente con diferentes funciones en cuanto a patogénesis, tropismo celular y severidad de la enfermedad.⁽⁴⁴⁾ Varios estudios han determinado la importancia clínica de esta proteína y de sus genotipos, sin embargo los resultados no han sido concluyentes.^(44, 45)

Algunos genes importantes clínicamente son el UL54 que codifica para una polimerasa, la cual sirve como blanco de los antivirales; el gene UL97 codifica para una proteína que fosforila el ganciclovir, paso básico para la inhibición de la polimerasa por este medicamento antiviral.⁽³⁸⁾

El gen UL83 codifica para la fosfoproteína 65 (pp65), que en la prueba de antigenemia es detectada en los leucocitos por anticuerpos monoclonales.⁽⁴¹⁾

VÍA DE ENTRADA

La transmisión natural del CMV se lleva a cabo por el contacto con saliva, orina, secreciones vaginales, semen o leche materna proveniente de personas infectadas ⁽⁴⁶⁾.

Los principales diseminadores de la infección son los niños recién nacidos así como los que se encuentran en guarderías o escuelas antes de los 3 años de edad, quienes infectan a otros niños y a los adultos que entran en contacto con ellos (personal de salud, maestros, cuidadores, padres de familia). La transmisión sexual es posible, la transmisión vertical de la madre al producto también es frecuente⁽⁴⁶⁾. Las transfusiones de sangre y sus componentes y el trasplante de

órganos provenientes de donadores seropositivos, son mecanismos importantes en la transmisión horizontal del CMV⁽³¹⁾.

DESARROLLO EN EL ORGANISMO

Una vez que ingresa por endocitosis a las células permisivas el virus libera el ADN en el citoplasma y se disparan en serie eventos complejos en cascada. El ADN ahora circular así como otros componentes del virus son transportados al núcleo a través de microtúbulos citoplasmáticos^(38,41) donde se llevará a cabo la transcripción y la replicación; ésta se realiza en las primeras 24 horas y se ha dividido en tres fases, la fase inmediata, la fase temprana y la fase tardía basados en la aparición de diferentes proteínas específicas.⁽⁴²⁾ La fase inmediata ocurre en las primeras 2 a 4 horas post infección y se caracteriza por la producción de proteínas reguladoras de la infección así como productoras de alteraciones en el ciclo celular;⁽⁴¹⁾ además algunas proteínas producidas durante esta fase alteran tanto la síntesis de interferón como la presentación del complejo principal de histocompatibilidad (CMH) clase I en la superficie celular.⁽⁴⁷⁾ La fase temprana ocurre después y se producen proteínas que son indispensables para la iniciación de la replicación del ADN y la síntesis de proteínas estructurales.⁽⁴¹⁾ Durante la fase tardía se sintetizan proteínas estructurales para el virión y para su liberación de la célula por exocitosis.^(41,42)

LATENCIA

CMV al igual que otros herpesvirus, logra entrar en una fase de latencia en el núcleo celular como un episoma circular ⁽⁴²⁾ expresando sólo unos pocos genes, evadiendo así exitosamente los mecanismos de defensa

del organismo, pero manteniendo la capacidad de reemerger y producir infecciones líticas.

La permisividad para la replicación viral es célula específica; por ejemplo, los macrófagos y las células dendríticas inmaduras son sensibles no así los monocitos. En general la permisividad celular a la infección por CMV es dependiente del estado de la diferenciación celular, así como de la represión de los promotores de la proteína muy temprana. Posterior a la infección de células permisivas, se produce una cascada ordenada de expresión de genes. Los muy tempranos son los primeros en ser transcritos y estas proteínas autorregulan a los genes promotores de entrada del virus, paso básico en la cascada citada. El estudio de los inhibidores de estos promotores de la infección viral, tendrá gran importancia desde el punto de vista de la inhibición de la replicación viral así como de la latencia celular de estos virus.^(41,42,47)

REACTIVACIÓN

Un paso fundamental en la patogénesis de estas infecciones es la reactivación a partir de la latencia.⁽⁴⁸⁾ El proceso de reactivación del citomegalovirus es muy complejo y poco entendido; sin embargo, en este proceso se lleva a cabo la activación de la síntesis de las proteínas virales que inician el ciclo vital del virus. Las catecolaminas, (hormonas del estrés) y las prostaglandinas, incrementan las concentraciones de AMP cíclico que también disparan el proceso de replicación viral. De esta manera, la inflamación, el estrés y la infección pueden reactivar infecciones latentes. El significado clínico de esta reactivación dependerá del estado inmune del individuo.^(42,48)

PATOLOGÍA

MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

Aunque generalmente la infección primaria por CMV suele ser asintomática, sobre todo en el período perinatal, la mononucleosis es el principal síndrome asociado a esta, constituyendo el 50% de las mononucleosis con prueba negativa a anticuerpos heterófilos frente a virus de Epstein Barr (VEB) y el 8% del total de mononucleosis.

Característicamente, la mononucleosis por CMV cursa con menor grado de tonsilitis, linfadenopatía y faringitis que la producida por VEB.⁽³²⁾ Los signos y síntomas que se dan en la mayoría de los pacientes son fiebre, elevación discreta de transaminasas y linfocitosis con linfocitos atípicos.

El síndrome postransfusional por CMV es un caso especial de mononucleosis adquirida por transfusiones.

INFECCIÓN CONGÉNITA

CMV es la causa más frecuente de infección congénita en los países desarrollados, con una prevalencia en torno al 0,6%.⁽⁴⁹⁾ La inmunidad natural materna proporciona una protección del 69% frente a infección congénita. De los niños infectados congénitamente, aproximadamente solo un 10% presentará una infección sintomática.

Las manifestaciones clínicas van desde crecimiento retardado intrauterino, hepatoesplenomegalia, coriorretinitis, trombocitopenia, encefalitis y microcefalia. La presencia de calcificaciones periventriculares es un hallazgo típico de las pruebas de imagen en los casos graves.^(32,49) Algunos están tan gravemente afectados al nacimiento que mueren durante la infancia (0,5%). Los supervivientes que presentan microcefalia o alteraciones del sistema nervioso central tienen un elevado riesgo de desarrollar graves secuelas

neurológicas, déficits cognitivos y motores, y afectación visual y auditiva.

Los recién nacidos asintomáticos tienen mejor pronóstico, y la mortalidad es prácticamente nula, aunque también pueden desarrollar secuelas a largo plazo. Alrededor de un 13% tendrá afectación de la función auditiva, aunque esta fuese normal en el momento del nacimiento. Esta es la secuela más frecuente en infección congénita y se estima que es la causa principal de sordera no hereditaria.⁽⁴⁹⁾

La infección perinatal suele ocurrir por reactivación o reinfección de la madre, por lo que el recién nacido tiene anticuerpos maternos y, por tanto, son generalmente asintomáticos. Sin embargo, los prematuros de muy bajo peso (< 1.500 g) tienen mayor riesgo de enfermedad, que suele cursar como hepatitis, neutropenia, trombocitopenia o un cuadro séptico con hemocultivos negativos.⁽⁵²⁾

INFECCIÓN EN INMUNODEPRIMIDOS

En este grupo de pacientes se pueden dar tanto infecciones primarias como recurrencias. La gravedad de la infección por CMV en inmunodeprimidos está directamente relacionada con el grado de inmunosupresión.

Los pacientes con recuento muy bajo de linfocitos CD4+ presentarán cuadros más graves. Lo más frecuente es que se presente solo con fiebre, que se resolverá en pocos días. Cuando esta va acompañada de leucopenia y viremia se le conoce como síndrome por CMV.

El espectro de patologías graves por CMV varía en función del tipo de paciente. Así, la neumonitis se da principalmente en TPH, la retinitis y encefalopatía en pacientes VIH y la fiebre con o sin hepatitis en TOS.^(50,51)

INFECCIÓN EN TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO.

El estatus serológico antes del trasplante permite identificar a la población con mayor riesgo de desarrollar enfermedad por CMV.

La situación de mayor riesgo se produce en los receptores de TOS seronegativos (R-) en los que se trasplanta un órgano de un donante seropositivo (D+) para CMV (R-/D+). En un receptor seropositivo (R+) para CMV se puede reactivar la infección previa o bien reinfectarse con CMV del donante seropositivo (D+), aunque el riesgo de desarrollo de enfermedad es menor que en el R-.⁽⁵⁰⁻⁵²⁾

CMV es la causa más frecuente de enfermedad viral en TOS durante los 6 primeros meses postrasplante, período en el que se alcanza la máxima incidencia. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son fiebre, malestar, artralgias, leucopenia y exantema macular. Algunos pacientes desarrollan enfermedades graves como neumonitis, úlceras gastrointestinales e insuficiencia hepática.^(50,51)

Al igual que en los pacientes con TPH, CMV es una causa importante de morbimortalidad en estos pacientes.

INFECCIÓN EN TRASPLANTADOS DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

Tanto en TOS como en TPH, la infección suele darse por reactivación del virus del propio receptor. Si el donante es D+ hay menor riesgo de desarrollo de enfermedad, ya que este transfiere inmunidad al receptor de médula ósea con depleción de células T. Posiblemente, en el proceso de depleción se eliminan las células específicas frente a CMV y se dejen intactas otras células del sistema inmune, siendo capaces de funcionar en el receptor y confiriéndole inmunidad frente a CMV.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la neumonitis, seguida de la enfermedad gastrointestinal y, en mucha menor medida, se han descrito casos de hepatitis, encefalitis y retinitis.⁽⁵⁰⁾

INFECCIÓN EN PACIENTES CON EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.

CMV puede estimular la replicación del VIH cuando este está en forma de provirus y CMV no se está replicando. Ambos virus frecuentemente infectan el mismo órgano e incluso la misma célula. La clínica más frecuente en este grupo de pacientes es la retinitis, seguida de esofagitis, colitis y un cuadro conjunto de retinitis y esofagitis.

Cargas virales elevadas de CMV se correlacionan con una progresión más rápida de infección VIH a sida o de sida a muerte. La viremia CMV positiva ha demostrado ser un factor predictor del riesgo de retinitis, y una viremia positiva con recuentos bajos de linfocitos CD4+ se asocia a mayor mortalidad, independientemente de la carga viral de VIH.^(50,51,54,55)

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD POR CITOMEGALOVIRUS

Revisiones recientes se han centrado en el manejo de la infección por CMV en cuanto a profilaxis y tratamiento.⁽⁵⁶⁻⁵⁹⁾

Con respecto a la infección congénita, la terapia antiviral con ganciclovir se ha visto que es efectiva en niños con infección sintomática para reducir el riesgo de secuelas a largo plazo.⁽⁴⁹⁾

No hay suficiente evidencia para recomendar una medida particular en la mujer embarazada para prevenir la transmisión de CMV al feto ni las secuelas de la infección congénita. La educación y el cambio de hábitos (mayor higiene de manos) pueden reducir el número de mujeres con infección por CMV durante el embarazo.⁽⁶⁰⁾ Los estudios recientes se centran en la inmunización pasiva de la embarazada con inmunoglobulinas⁽⁶¹⁾ y el tratamiento antiviral con valaciclovir⁽⁶²⁾ para reducir el riesgo de infección congénita.

Hay 2 estrategias básicas para prevenir la enfermedad por CMV en el paciente trasplantado: la profilaxis universal y la terapia anticipada con monitorización de la viremia de CMV en el receptor. La profilaxis universal con ganciclovir, valganciclovir o aciclovir en TOS reduce el riesgo de enfermedad y mortalidad por CMV.⁽⁶³⁾ La terapia anticipada reduce significativamente el riesgo de ECMV cuando se compara con placebo o tratamiento de la enfermedad sintomática. Sin embargo, no hay diferencias significativas en cuanto al riesgo de enfermedad por CMV ni mortalidad global cuando se comparan las estrategias de profilaxis universal y terapia anticipada. Solo se han observado diferencias en la leucopenia, que es mucho menos frecuente con la terapia anticipada.⁽⁶⁴⁾

Recientemente se han publicado ensayos clínicos con vacunas de subunidades proteicas del virus así como vacunas de ADN (que expresan diferentes péptidos virales) frente a CMV, con eficacia variable y parcial, en diferentes grupos de población, sujetos sanos seronegativos, candidatos a TOS, receptores de TPH y mujeres jóvenes en edad gestacional.⁽⁶⁵⁾

RESPUESTA INMUNE

La infección por CMV en los humanos es controlada por los mecanismos de defensa innatos y adquiridos, de tal forma que se podría hablar de un agente oportunista ya que en caso de inmadurez del sistema inmune (feto y neonato), inmunodeficiencia (SIDA) inmunosupresión (trasplantados) aparece con mayor frecuencia y severidad.

La inmunidad innata juega un papel importante en la defensa contra estas infecciones, así como la inmunidad adaptativa. La estimulación de **“Toll-like receptors” (TLRs)** por CMV activa señales celulares de transducción para la secreción de citoquinas reclutadoras de células inflamatorias así como de moléculas que activan a células de la inmunidad adaptativa.⁽⁴³⁾

La respuesta inmune al CMV en personas sanas es potente debido a que es un potente inmunógeno; es decir, es capaz de inducir una fuerte respuesta inmune. Los anticuerpos neutralizantes son dirigidos principalmente contra la gB y la gH, importantes en la adhesión y penetración celular del CMV. La respuesta inmune primaria es fundamentalmente de clase IgM y en las reactivaciones, de clase IgG.⁽⁴³⁾

La inmunidad innata no previene las reinfecciones, pero sí tiene un papel importante en limitar la infección aguda tanto en individuos inmunocompetentes como inmunocomprometidos.^(38,41)

Después de infectar células epiteliales y endoteliales, se disemina a otras células y tejidos a través de las células de la estirpe mieloide (macrófagos, dendríticas, células Langerhans), estructuras en donde se ha demostrado su posterior latencia.⁽⁴⁸⁾

Las potentes funciones inmunomoduladoras del virus permiten su escape del sistema inmune y facilitan la latencia en las células.^(42,43,48)

Tanto la función NK como la producción de anticuerpos específicos son importantes para el control de la infección por CMV,⁽⁴³⁾ no obstante las funciones de la inmunidad celular son más determinantes al observarse que las infecciones por CMV son más severas y frecuentes en individuos

con alteraciones en la inmunidad mediada por células (VIH/SIDA, trasplantados) a pesar de una respuesta normal de anticuerpos.⁽⁴²⁾

La respuesta inmune celular en CMV está mediada por CMH clase II asociada a linfocitos T CD4+ y por CMH clase I asociados a linfocitos T CD8+, en respuesta a antígenos presentes principalmente en el tegumento viral.⁽⁴¹⁾

Los mecanismos de escape del CMV de la respuesta inmune del hospedero han sido muy estudiados, por su importancia en la patogénesis y en el desarrollo de vacunas; dentro de los cuales se pueden describir:

- Falla en la expresión de antígenos virales en la superficie de células epiteliales, endoteliales y presentadoras de antígenos (periodo de latencia).
- Inhibición de la expresión de CMH clase I y II mediado por proteínas codificadas por genes US2, US3, US11 entre otros.
- Producción de análogos estructurales de CMH I y II que impiden el reconocimiento de células infectadas por el sistema inmune
- Rupturas en la red de microtúbulos de los macrófagos que promueven la latencia viral.
- Producción de proteínas homólogas a receptores para quimioquinas, con lo que se induce el secuestro de RANTES, MCP-1, MIP entre otras proteínas, por las células infectadas, de tal forma que el secuestro de estas sustancias inhibe el reclutamiento de leucocitos, así como las funciones efectoras de linfocitos T CD8+.

- La expresión de la proteína US28, receptor homólogo de quimioquinas promueve la migración de músculo liso, responsable de la aceleración de la enfermedad vascular, la arterioesclerosis y la enfermedad injerto vs hospedero crónica. Asimismo, la fractalquina responsable de la fusión de células infectadas, utiliza este receptor; CMV también puede emplear esta sustancia como correceptor y finalmente, proteínas virales bloquean la apoptosis mediada por FNT.⁽⁴³⁾

No obstante diversas funciones de la respuesta inmune logran sobrepasar estas barreras impuestas por el virus, por lo que normalmente hay un control de la infección bastante efectivo. Anticuerpos contra gB neutralizan la infección de nuevas células y estudios en ratones y humanos han demostrado el papel protector de los anticuerpos anti gB en la infección transplacentaria.⁽⁶⁶⁾ Una respuesta inmune fuerte contra un amplio repertorio de antígenos virales mediada tanto por linfocitos T CD8+ citotóxicos como por linfocitos T CD4+ es crucial en la defensa contra la infección por este virus. Estudios en algunos pacientes trasplantados, demostraron que la transferencia experimental de linfocitos T CD8 específicos bajó la carga viral y mejoró la evolución clínica.^(67,68)

Así, la agresión celular y tisular de CMV en el ser humano se produce por al menos tres mecanismos: lisis celular, alteraciones en el funcionamiento celular y mecanismos inmunopatogénicos.

DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN POR CMV

DETECCIÓN DE CITOMEGALIA

Los primeros estudios sobre la infección por CMV se basaron en la detección de las células infectadas características, en orina y en diversos tejidos.^(30,31) Se ha demostrado que únicamente entre 30 y 40 % de las muestras provenientes de pacientes con infecciones activas por CMV analizadas en el laboratorio presentan estos cambios (células grandes, núcleos hipercromáticos, membrana nuclear gruesa, inclusiones granulares intranucleares)⁽⁴¹⁾ por lo que en la actualidad no se debe utilizar como único método diagnóstico.

CULTIVO

CMV replica eficientemente en fibroblastos humanos. Las líneas celulares más frecuentemente usadas son fibroblastos de pulmón embrionario como MRC-5. El tiempo que tarda en aparecer el efecto citopático en fibroblastos se correlaciona con la carga viral en la muestra. En cualquier caso, el crecimiento en cultivo tradicional en tubo es lento y se requieren al menos 21 días para dar un resultado negativo.⁽⁶⁹⁾

La mejor alternativa para la propagación del virus en cultivo celular es el empleo de la técnica de *shell-vial* (SV), que permite un diagnóstico en

18-48 h. La muestra se inoculara por centrifugación sobre una monocapa de línea celular MRC-5 crecida en un cubreobjetos circular que se deposita en un tubo de fondo plano. Tras incubación durante 18-48 h se extrae el cubreobjetos y se realiza una inmunofluorescencia sobre la monocapa con anticuerpos monoclonales frente al antígeno de fase inmediata precoz *p72*.⁽⁷⁰⁾

La línea celular MRC-5 es una línea diploide; por tanto, no se puede mantener mediante pases de forma indefinida. Comercialmente se presenta en suspensión, habitualmente la forma adquirida por los laboratorios de virología clínica con experiencia en cultivos celulares, ya

que obliga a realizar estudios de viabilidad celular y concentración para su propagación en monocapa. Otra forma comercial, más comúnmente distribuida a todo tipo de laboratorio, aunque más cara, son los tubos preparados de SV para inoculación directa de la muestra.

La detección de antígeno precoz de CMV mediante SV se aplica a todo tipo de muestras. La detección en orina del recién nacido, en las primeras 2 semanas de vida, es útil para el diagnóstico de infección congénita. Un cultivo de orina positivo para CMV tomado después de los 21 días de vida no se puede asegurar que sea infección congénita, ya que la adquisición ha podido ser perinatal.

Por otra parte, un resultado positivo de SV en sangre de pacientes trasplantados tiene un elevado valor predictivo positivo de ECMV; ^(70,71) asimismo se considera el mejor procedimiento para el diagnóstico de ECMV con afectación orgánica en pacientes inmunodeprimidos utilizando la muestra adecuada (lavado broncoalveolar en neumonitis, biopsia de colon en colitis, etc.).

PRUEBA DE ANTIGENEMIA

La prueba de antigenemia se basa en el empleo de anticuerpos monoclonales para detectar la proteína viral del tegumento *pp65*, producto del gen *UL83*, que es el antígeno viral mayoritario presente en leucocitos de sangre periférica durante la infección por CMV. ^(69,72)

En esta técnica se separa la capa leucocitaria de sangre completa anticoagulada.

Un número determinado de leucocitos (habitualmente 100.000) se deposita sobre un portaobjetos con ayuda de citocentrífuga y se tiñen con anticuerpos monoclonales murinos frente a la proteína *pp65*. Se han utilizado técnicas inmunoenzimáticas o de inmunofluorescencia para detectar antígeno *pp65* en leucocitos de sangre periférica.

La presencia de al menos un núcleo positivo en la prueba de antigenemia es indicativa de infección. Para la sospecha de ECMV, en el TOS de R+ se toma el recuento umbral de 10 células positivas/100.000 leucocitos, y en TPH y TOS de R- se considera un riesgo elevado de ECMV a partir de 1 célula/100.000.⁽⁷³⁾ Estos criterios son la base para el control de la infección mediante terapia anticipada.

A pesar de ser una técnica relativamente sencilla y muy estandarizada para el seguimiento y manejo de la infección por CMV en trasplantados, la labilidad de la muestra de sangre, que debe ser procesada en pocas horas, la deficiente interpretación de esta en pacientes neutropénicos, y la mayor sencillez y grado de automatización de las técnicas moleculares cuantitativas recientes, que además no están sujetas a los inconvenientes de la antigenemia, han obligado a muchos laboratorios a sustituir las clásicas pruebas de antigenemia por la ADNemia para el control de la infección por CMV en el paciente trasplantado.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Detección de respuesta inmune humoral. Las técnicas serológicas para detección de anticuerpos específicos IgG e IgM frente a CMV son útiles fundamentalmente para: diagnóstico de infección primaria sintomática (mononucleosis, hepatitis) y determinación del estatus serológico de donantes y receptores de órganos.

La demostración de anticuerpos tipo IgM específicos o de seroconversión de anticuerpos IgG es el método tradicional para detectar infección primaria.^(50,74,75) Sin embargo, la determinación de IgM en muchas ocasiones da lugar a falsos resultados positivos, no permite demostrar infección recurrente y sus valores permanecen detectables durante meses. Por ello puede ser útil para diagnóstico de infección primaria sintomática en niños, pero se desaconseja en la mujer embarazada, en

la cual la mejor opción es determinar la seroconversión de anticuerpos IgG.⁽⁷⁴⁾

Ante un resultado positivo de IgM e IgG en el suero de una mujer embarazada sería necesario llevar a cabo pruebas de avidéz para diagnosticar infección primaria. Durante las primeras semanas de la infección primaria, los anticuerpos IgG muestran muy baja avidéz por el antígeno, pero conforme van madurando, la avidéz aumenta progresivamente.⁽⁷⁶⁾ El menor o mayor grado de avidéz de los anticuerpos IgG se determina con la muestra de suero tratada y no tratada con urea entre 5-8M, desnaturalizante que es capaz de disociar los complejos antígeno anticuerpo. El porcentaje del cociente entre la medida de la muestra tratada y la de la muestra no tratada determina la avidéz de los anticuerpos. Un porcentaje de avidéz bajo (< 35%) indica infección reciente y porcentajes > 65% son indicativos de infección pasada o de meses.⁽⁷⁴⁾

En los últimos años, la determinación de la avidéz de la IgG sérica ha mejorado el diagnóstico de las infecciones agudas, ya que ésta aumenta con el tiempo, después de una infección aguda, de tal forma que baja avidéz de IgG e IgM positiva indicaría, con alto valor predictivo, una infección aguda. Esto es de mucha utilidad en las infecciones durante el embarazo y en pacientes inmunocompetentes.^(77,78,79)

Cuadro 1 : Diagnóstico de laboratorio en infecciones por CMV

Condición clínica	Protocolo a utilizar	Interpretación
Recién nacido	Aislamiento viral en orina y saliva	Primera semana estudios epidemiológicos
Recién nacido	Carga viral en plasma	CMV congénito
Infecciones en personas inmunocompetentes	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%)= infección aguda
Embarazadas	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%)= infección aguda Riesgo de transmisión al producto
Trasplantado donador	IgG sérica	Seroprevalencia Clasificación de riesgo de transmisión al receptor
Trasplantado receptor	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si infección aguda, carga viral
Trasplantado post trasplante	Carga viral cada dos semanas	Si > 28 copias/ml riesgo alto de enfermedad por CMV, dar tratamiento antiviral
VIH/SIDA	IgG sérica IgM sérica Avidez de IgG si IgM+	Si IgM+ y baja avidéz IgG (<60%)= infección aguda Evaluación clínica y carga viral

VIH/SIDA CD4+ <100células	IgG sérica	Si+ evaluación clínica y carga viral
---------------------------	------------	--------------------------------------

Recientemente se ha desarrollado la detección de anticuerpos específicos contra diversas proteínas virales (gB, gH, p52, pp150) cuyo análisis ha permitido el diagnóstico temporal de las infecciones (agudas vs crónicas), no obstante son técnicas aún no disponibles para uso rutinario.⁽⁴¹⁾

Hay diversas técnicas serológicas para CMV: reacción de fijación de complemento, aglutinación con partículas de látex (AL), ELISA, inmunofluorescencia indirecta, inmunocromatografía (IC), fluorescencia anticomplemento, quimioluminiscencia (CLIA) e inmunoblot.⁽⁵⁰⁾

Como técnicas manuales, las más sencillas son la AL y la IC. Son técnicas muy empleadas en la cartera de servicios de urgencias en el laboratorio de hospitales de tercer nivel para serología del donante de órganos. Por otra parte, la automatización de muchas de estas técnicas, como ELISA y CLIA, permite trabajar con gran volumen de muestras, ya que requieren un tiempo de procesamiento mínimo.

Determinación de la respuesta inmune celular. La medida de la respuesta inmune celular frente a CMV permite determinar la capacidad del paciente trasplantado de responder a la reactivación de CMV en el período postrasplante. Sin embargo, la falta de evaluaciones de estos métodos hace difícil su estandarización. Hay diferentes métodos de medida y cuantificación de linfocitos CD8+ y CD4+ que reconocen epítopos específicos de CMV: tinción de tetrámeros o citocinas intracelulares, citometría de flujo, ELISPOT y QuantiFERON-CMV. De todos ellos, probablemente el último sea el método recomendado frente a los demás por diversos motivos: aprobado en Europa, sencillez, mínima manipulación, estandarización, disponibilidad comercial.^(58,80-82)

El ensayo QuantiFERON-CMV mide los valores de IFN- γ producidos por los linfocitos T CD8+ cuando se estimulan in vitro con antígenos de CMV.⁽⁸²⁾

QuantiFERON-CMV presenta la desventaja de que solo evalúa la inmunidad mediada por linfocitos T CD8+ y no CD4+. Según los resultados publicados recientemente de un estudio de cohortes prospectivo en pacientes TOS de alto riesgo para el desarrollo de ECMV tardía (D+/R-), el ensayo QuantiFERON-CMV permitiría identificar a los que tienen bajo (QuantiFERON-CMV positivos), medio (QuantiFERON-CMV negativos) o alto (QuantiFERON-CMV indeterminados) riesgo de desarrollar EMCV. Podría plantearse retirar el antiviral profiláctico en los pacientes con resultado positivo de QuantiFERON-CMV. Los pacientes con resultados negativos e indeterminados se podrían beneficiar de una profilaxis más prolongada o una vigilancia más estrecha. Se necesitan más estudios para determinar su utilidad en TPH.⁽⁸²⁾

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

El ADN de CMV tiene algunas regiones homólogas al ADN humano que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar técnicas diagnósticas de laboratorio como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o sondas de hibridación⁽⁵⁰⁾. Hoy día, la PCR es la técnica molecular más empleada para la cuantificación de ADN de CMV en muestras clínicas. Concretamente, la PCR en tiempo real es el método de elección para llevar a cabo este propósito.⁽⁸³⁾ Actualmente hay métodos moleculares completamente automatizados para determinación de carga viral de CMV.

El empleo de plasma en lugar de sangre completa ha sido recomendado por su mayor correlación con replicación activa de CMV, ya que la detección de ADN de CMV en sangre completa puede reflejar solamente

la presencia del virus en los linfocitos donde CMV permanece en estado de latencia tras la infección primaria.⁽⁸⁴⁾ Igualmente, como reflejo de replicación activa y diseminación del virus, algunos trabajos han planteado la controversia entre detección de ADN o detección de ARNm, que supone un paso más en la expresión genómica del virus y solo está presente cuando el virus se está replicando.^(85,86)

Para el diagnóstico prenatal de infección congénita, el método de elección es la PCR cuantitativa en líquido amniótico. La amniocentesis no debe practicarse antes de la semana 21 de gestación, por riesgo de falsos negativos. Está recomendada su realización si se ha producido primoinfección durante el embarazo (seroconversión, IgM, IgG, baja avidéz) o si se observan anomalías ecográficas, independientemente de si la madre ha tenido o no una infección primaria durante el embarazo, ya que CMV puede transmitirse congénitamente durante reactivación o reinfección. La presencia de ADN de CMV en líquido amniótico confirma la infección intraútero, mientras que una carga viral elevada, >105 copias/ml en líquido amniótico, indica alto riesgo de desarrollar infección sintomática.^(50,76)

En el recién nacido, la presencia de ADN de CMV en muestras de orina, tomadas en las 2 primeras semanas de vida, confirma el diagnóstico de infección congénita. La detección de ADN de CMV en sangre, saliva o líquido cefalorraquídeo también es diagnóstica de infección congénita, pero la sensibilidad es menor que en la orina. También es útil para el diagnóstico retrospectivo de infección congénita a partir de la sangre seca obtenida para la detección precoz de metabolopatías (prueba del talón) que se realiza a todos los neonatos.^(76,87)

A pesar de que son muchos los trabajos que han intentado establecer un punto de corte de la carga viral que sea pronóstico del riesgo de ECMV en el período postrasplante para instaurar terapia anticipada, hay gran

variabilidad de resultados entre técnicas y/o laboratorios. En muchos casos se recomienda, más que un valor absoluto, determinar la variación durante la monitorización.⁽⁵⁹⁾ La experiencia y observación clínica junto con un adecuado algoritmo de seguimiento acordado entre virólogos y médicos han permitido, en muchos hospitales, establecer puntos de corte de ADNemia para la instauración de terapia antiviral anticipada.

Recientemente se ha sugerido que la cuantificación de ADN CMV en LBA puede predecir la neumonía por CMV. Aunque se ha visto que pacientes con carga viral elevada en LBA se correlacionan con enfermedad respiratoria, no hay resultados concluyentes.^(83,88,89) Por la posibilidad de contaminación con la saliva, vía de excreción principal de CMV, la carga viral en LBA debe ser mayor que la determinada en lavados faríngeos para demostrar replicación local del CMV en el tracto respiratorio inferior que permita adscribirle un papel etiológico en la neumonía.⁽⁸⁹⁾

En pacientes VIH que inician tratamiento con TARGA (terapia antirretroviral de gran actividad) y linfocitos CD4 < 50/MI, la detección, tanto cualitativa como cuantitativa, de ADN CMV ha demostrado ser uno de los mejores predictores de riesgo de retinitis,⁽⁵⁵⁾ recomendándose su determinación cada 2 meses con esta finalidad.

CMV EN HOSPEDEROS INMUNOCOMPETENTES

Desde 1970 se estableció la importancia del CMV como causa del síndrome de mononucleosis-anticuerpos heterófilos negativo en personas inmunocompetentes. Las principales manifestaciones de esta entidad son fiebre alta, prolongada, adenomegalias principalmente

cervicales, faringitis, esplenomegalia y hepatitis, así como leucocitosis y linfocitos atípicos. La edad de presentación es fundamentalmente en jóvenes, no obstante puede ser observado en algunos pacientes mayores de 50 años. Es más frecuente en hombres que en mujeres y llama la atención la duración del cuadro clínico, que en algunas ocasiones puede ser mayor a 20 semanas. La hepatitis con predominio de colestasis es un hallazgo común.

CUADRO 3. CMV en pacientes inmunocompetentes

Cuadro clínico y Exámenes de laboratorio	Boza R ⁽³¹⁾ 1991 N=45	Wreghitt et al ⁽⁴²⁾ 2003	Muckarski et al ⁽¹⁰⁾ 2007
--	--	--	---

	(%)	N=124 (%)	N=45 (%)
Fiebre	82	36	95
Linfadenopatías	42	24	6-56
Hepatomegalia	4	-	0-53
Esplenomegalia	28	3	33-53
Mialgias, artralgias	38	36	-
Ictericia	29	24	-
Alteraciones pruebas función hepática	63	69	78-100
Edad	15-63 años media 25 años	20-59 años (90%)	-
Duración de síntomas	15-360 días media 50 días	8-150 días media 60 días	-

En los años 60 también se describió el síndrome post perfusión en pacientes sometidos a cirugía cardíaca, el cual consiste de fiebre alta, malestar general, hepatitis y linfocitosis entre 8 a 15 días posteriores al procedimiento. Se ha demostrado su relación con infección activa por CMV, contenido en los leucocitos de la sangre transfundida, por lo que desde hace muchos años se ha utilizado la filtración de la sangre con el fin de remover los leucocitos (leucoreducción) de los glóbulos rojos y las plaquetas con el fin de prevenir, entre otras cosas, la transmisión de CMV.

En muchos países, los sistemas de salud exigen este procedimiento principalmente en caso de transfusiones sanguíneas en trasplante de

órganos y células madre hematopoyéticas, con el fin de disminuir, la morbi-mortalidad relacionada a ese recurso terapéutico. ⁽³⁷⁾

En los últimos años se han referido cuadros clínicos diversos asociados a este virus en personas previamente sanas, tales como enfermedad diseminada,⁽⁹⁰⁾ miocarditis,⁽⁹¹⁾ parálisis facial periférica aguda,⁽⁹²⁾ ruptura espontánea del bazo,⁽⁹³⁾ pancitopenia severa,⁽⁹⁴⁾ uveítis anterior,⁽⁹⁵⁾ trombosis venosa profunda,⁽⁹⁶⁾ entre otros. Asimismo, se ha relacionado con CUCI, como infección oportunista y como posible causa etiológica, lo que ha aumentado el espectro clínico de esta patología. ⁽⁹⁷⁾

De importancia clínica es la asociación que se ha demostrado recientemente entre la infección activa por CMV en los pacientes ingresados en UCI, con un aumento en la estancia hospitalaria y un incremento de su mortalidad.^(98,99)

A pesar de que clásicamente las infecciones por CMV en hospederos inmunocompetentes se consideran como leves y usualmente asintomáticos, se ha descrito infecciones severas en estos pacientes, con alta mortalidad. Eddleston et al ⁽¹⁰⁰⁾ en una revisión de la literatura de habla inglesa, lograron identificar 34 pacientes previamente sanos con infección severa por CMV, con edades entre 10-63 años, la mayoría con compromiso multiorgánico (SCN, hígado, pulmones, médula ósea, corazón, colon) y con una mortalidad cercana al 50%. Kamo et al ⁽⁹⁰⁾ describieron 7 pacientes con enfermedad diseminada por CMV, diagnosticada por evidencia histopatológica, todos eran portadores de enfermedades crónicas graves como leucemia, cáncer, cardiopatías, con edades entre 44-80 años, dos de los pacientes fallecieron a pesar de su tratamiento antiviral.

LEUCORREDUCCIÓN EN CONCENTRADOS ERITROCITARIOS

Desde hace poco más de un siglo en que se inició el estudio formal de la sangre humana para su transfusión, ésta perdió su carácter mágico y, conforme avanzan los conocimientos médicos y científicos, disminuyen los riesgos en su utilización; sobre todo en el transcurso de los últimos 20 años – a partir del hallazgo del VIH- en que se ha hecho especial énfasis en la utilización razonada de los hemocomponentes, efectuándose un mayor número de pruebas para evitar, dentro de lo posible, la transmisión de enfermedades infecciosas.

Sin embargo, el riesgo de reacciones transfusionales y de sensibilización persisten. En este sentido, considerando los efectos adversos que pueden provocar los leucocitos en lo concerniente a la aloinmunización al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) y la transmisión del citomegalovirus (CMV) y otros virus, se ha promovido la utilización de filtros para leucoreducir la sangre y sus componentes hasta el punto que en algunos países se aboga, por la leucoreducción universal. ⁽¹⁰¹⁾

Existen varios métodos para preparar productos pobres en leucocitos. Los utilizados con mayor frecuencia son: ⁽¹⁰²⁾

1. Centrifugación con separación de la capa leucoplaquetaria, con lo que se logra disminuir en 70 u 80% la cantidad de leucocitos, con una pérdida aproximada del 20% de los eritrocitos.
2. Concentrado eritrocitario lavado, que elimina entre el 70 y 95% de los leucocitos, además de plaquetas y plasma, con pérdida del 15% de los eritrocitos aproximadamente.
3. Congelamiento y desglicerolado: se obtiene una leucorreducción del 95% con recuperación de cerca del 80% de los eritrocitos.

4. Leucorreducción al pie de la cama (utilización del filtro leucorreductor conectado al concentrado eritrocitario directamente antes de la transfusión): reduce los leucocitos de 99 a 99.9% y se pierden 10% o menos de los eritrocitos, pero requiere adiestramiento del personal y hay mayor liberación de citocinas, ya que generalmente se tratan de concentrados eritrocitarios almacenados.
5. Filtración prealmacenamiento, la cual podemos considerar como el procedimiento ideal hasta el momento, ya que elimina 99.9% de los leucocitos, que aún no se fragmentan, y se recupera 85% o más de los eritrocitos.

La tecnología en la fabricación de los filtros en estos últimos años ha ido logrando una mejor leucorreducción. Los primeros filtros estaban formados por mallas que impedían el paso de macroagregados de 170 a 230 μm ; **eran filtros de superficie. Posteriormente se eliminaban microagregados de 20 a 40 μm y más tarde se inició la fabricación de filtros de profundidad, hechos de un material poroso de unos 2 μm .** Inicialmente hechos de materiales como algodón o lana, los siguientes se fabricaron de dacrón, teflón, orlón y nylon. En la actualidad, los filtros constan de múltiples capas de fibras sintéticas, que retienen las células blancas pero permiten fluir a los eritrocitos o a las plaquetas.⁽¹⁰³⁾ **La sangre pasa a través de un "prefiltro" diseñado para eliminar** pequeños coágulos de fibrina y agregados celulares, sigue por un entramado irregular de fibras de poliéster o poliuretano,⁽¹⁰⁴⁾ obteniéndose una leucorreducción de 99.9 a 99.99%. Así, la filtración ocurre por medio de tres mecanismos: 1) una función de barrera, 2) por adhesión de los leucocitos a las fibras del filtro que puede ser aumentada por tratamiento con carga eléctrica o por modificación de la cobertura con

revestimiento con polímeros y 3) por interacción de las células entre sí y con proteínas plasmáticas.^(105,106)

Una unidad de sangre total o una de concentrado eritrocitario tiene $1-5 \times 10^9$ leucocitos, lo cual es considerado como una carga crítica⁽¹⁰⁷⁾ y que en log₁₀ corresponde a 9–9.7 y con la centrifugación y remoción manual o automatizada de la capa leucocitaria se logra una concentración final de 10^8 leucocitos, lo que equivale a una disminución de 1 log₁₀. Y mediante la utilización de filtros de adsorción selectiva de tercera y de cuarta generación se disminuye en 3 o 4 log la población leucocitaria; es decir, se obtiene una cantidad $1-5 \times 10^6$ o de $1-5 \times 10^5$ leucocitos por unidad, que equivale a una reducción de 99.9 o de 99.99%.

Los filtros pueden ser utilizados en el Banco de Sangre o en el momento de la transfusión y tener sistemas cerrados o abiertos. Los filtros de sistema cerrado se destinan para uso de prealmacenamiento en el Banco de Sangre y los de sistema abierto, como los filtros de pie de cama, que han de utilizarse inmediatamente, pueden conectarse a una bolsa satélite en conector estéril y usarse como de prealmacenamiento.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB por sus siglas en inglés) considera a un concentrado eritrocitario leucorreducido si tiene una cifra total de leucocitos de menos de 5×10^6 y en el que se ha logrado una recuperación de 85% o más de los eritrocitos,⁽¹⁰⁸⁾ mientras que el Comité de Expertos del Consejo Europeo recomienda que esta cifra disminuya hasta 1×10^6 o menos, ya que la leucorreducción es un medio efectivo de reducir tres de las principales complicaciones de una transfusión, a saber: la aloinmunización a HLA, las reacciones transfusionales febriles no hemolíticas (RFNH) y la transmisión del citomegalovirus.⁽¹⁰⁹⁾ Así, el panel de expertos del

University Health System Consortium (UHC) publicó un estudio para determinar las indicaciones de leucorreducción, tal como se consideran hasta la fecha.^(102, 105, 106, 108, 110-113)

Indicaciones absolutas:

a) Prevención de la aloinmunización HLA en pacientes candidatos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o de órganos sólidos y en los pacientes que pueden presentar refractariedad en las transfusiones plaquetarias.

b) Reducir las RFNH.

c) Evitar la transmisión del citomegalovirus en pacientes inmunocomprometidos bajo terapia citotóxica o por causa congénita o adquirida, en pacientes embarazadas seronegativas a citomegalovirus, en recién nacidos prematuros seronegativos al citomegalovirus. Aunque en los pacientes que van a ser sometidos a trasplante de médula ósea se recomienda la transfusión de hemocomponentes de donadores seronegativos más que de leucorreducidos de un donador seropositivo a citomegalovirus.⁽¹¹⁴⁾

Indicaciones en proceso de evaluación:

a. Reducción de la inmunomodulación, que puede llevar a aumentar el riesgo de recurrencia de neoplasias o de infecciones bacterianas posoperatorias.⁽¹¹⁵⁾

b. Prevenir la transmisión de otros virus como el virus T linfotrófico humano tipo I (HTLV-I), que se ha encontrado en linfocitos de donadores sanos en número significativo,⁽¹¹⁶⁾ y el HTLV-II, el virus de Epstein-Barr y algunos virus herpes (VHH 8).

- c. Posible reducción del riesgo de enfermedades causadas por priones como la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vECJ).

No está indicada en la prevención de la enfermedad injerto contra huésped, para lo cual se requiere la irradiación de los hemocomponentes. Tampoco para evitar el daño pulmonar asociado a transfusión (TRALI por sus siglas en inglés).

ACTUALIZACIÓN EN LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR CMV TRANSMITIDAS POR TRANSFUSIÓN

La transmisión del citomegalovirus (CMV) sigue siendo una preocupación particular para los pacientes inmunodeprimidos, como los que se someten a un trasplante de médula ósea o reciben quimioterapia. Es de gran importancia para los pacientes seronegativos para CMV que se minimice el riesgo de transmisión del CMV con productos sanguíneos. Las técnicas actualmente disponibles, el uso de hemocomponentes CMV-seronegativos y la reducción de leucocitos por filtración, tienen limitaciones. La inactivación de patógenos es el método más novedoso para hacer que la sangre sea más segura. Varias tecnologías ya están disponibles o en desarrollo. La elección final de una técnica probablemente dependerá del riesgo de enfermedad grave por CMV en la población de pacientes, así como de la eficacia, seguridad y costos de las técnicas elegidas.

El citomegalovirus (CMV) es un virus altamente asociado a las células que normalmente causa una infección asintomática en el huésped inmuno competente. Después de una infección primaria, el virus persiste en un estado latente, desde el cual se puede reactivar bajo ciertas condiciones. Dado que el CMV puede causar enfermedad grave e incluso la muerte en pacientes inmunodeprimidos, como los pacientes

sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas, trasplante de órganos sólidos y pacientes con leucemia o linfoma, se debe evitar la propagación del CMV a través de los productos sanguíneos. El riesgo de una infección viral a través de productos sanguíneos puede verse limitado por una selección mejorada de la población donante. Sin embargo, la alta prevalencia de individuos seropositivos al CMV en la población de donantes de muchos países representa un problema particular ya que una demanda creciente de productos sanguíneos sin CMV puede ser difícil de cumplir si se excluyen los donantes positivos al CMV. Además, el costo de mantener un suministro sanguíneo negativo para CMV a menudo puede ser alto. Se ha demostrado que la reducción de glóbulos blancos reduce el riesgo de transmisión de CMV a través de productos sanguíneos a un nivel dentro del mismo orden de magnitud que mediante la selección de productos sanguíneos negativos para CMV (Bowden et al, 1995; Ljungman et al 2002). No hay consenso sobre si las técnicas son equivalentes, qué conclusiones se deben extraer con respecto a las pruebas de CMV de los productos sanguíneos y si se deben usar diferentes técnicas en grupos de pacientes con riesgos variables para la enfermedad CMV. ⁽¹¹⁷⁾

Comparando la estrategia clásica de transfusión de unidades de sangre leucoreducidas y seronegativas CMV con el enfoque actual de unidades leucorreducidas solamente pero no probadas con CMV, no hubo diferencias significativas en la incidencia de viremia por CMV o enfermedad por CMV. Los autores suponen que las 4 infecciones por CMV en el período de estudio estuvieron relacionadas con transfusiones y presumiblemente causadas por donantes seronegativos en la fase de ventana de su infección primaria por CMV. Para apoyar esta hipótesis, se cita una publicación de nuestro grupo para informar períodos de ventana que son tan largos como meses.

Debido a que solo se analizó una muestra seronegativa de cada donante en el estudio citado, no se pueden extraer conclusiones sobre la duración del período ventana a partir de estos datos. En otros estudios, pudimos demostrar que las donaciones para el período de ventana son raras y contienen menos ADN de CMV que las donaciones de donantes principalmente seropositivos. Los donantes en la fase seropositiva temprana de su infección primaria por CMV también fueron responsables de mayores concentraciones de ADN de CMV en las donaciones no probadas de CMV en comparación con las donaciones seronegativas de CMV en un estudio de casi 23,000 donaciones. Sin embargo, los productos sanguíneos seronegativos que contienen CMV podrían ser más infecciosos que las unidades de donantes seropositivos con anticuerpos potencialmente neutralizantes.

Para fortalecer aún más la hipótesis de las infecciones por CMV transmitidas por transfusión, sería interesante determinar cuántos donantes, que donaron productos sanguíneos para los pacientes con infección por CMV, más tarde desarrollaron anticuerpos CMV. Idealmente, el número de donantes seroconvertidos es mayor para los pacientes con infección previa por CMV que para otros pacientes. Si las muestras de suero almacenadas todavía estuvieran disponibles de estos donantes, también podrían analizarse para detectar ADN de CMV.⁽¹¹⁸⁾

Tradicionalmente, la leucorreducción y la selección de productos sanguíneos de donantes seronegativos se han utilizado como estrategias alternativas para reducir el riesgo de infecciones por citomegalovirus transmitidas por transfusión (TT-CMV) en pacientes de riesgo. Después de la introducción de la leucorreducción universal para concentrados de glóbulos rojos y plaquetas en Alemania, surgió una controversia sobre si la selección adicional de productos sanguíneos de donantes seronegativos reduciría o incluso aumentaría el riesgo de TT-CMV. Esta

revisión resume el conocimiento actual sobre las infecciones por CMV en los donantes de sangre y las implicaciones de esta información en el efecto de las posibles estrategias de transfusión. Aunque existen datos contradictorios sobre la incidencia de TT-CMV remanente después de la introducción de la leucocitopenia, se ha demostrado claramente que tanto la prevalencia como la concentración del ADN del CMV en la sangre periférica son más altas en los donantes seropositivos. Por lo tanto, evitar los productos sanguíneos a partir de estos donantes es el objetivo más importante de cualquier estrategia de transfusión. Este objetivo puede alcanzarse mediante:

- 1) selección de productos sanguíneos de donantes seronegativos
- 2) suministro de hemocomponentes negativos al ADN del CMV
- 3) suministro de sangre de donantes seropositivos a largo plazo en casos de TT-CMV sospechoso, todos los donantes implicados deben ser investigados cuidadosamente para obtener más información sobre qué donantes confieren el menor riesgo de TT-CMV. ⁽¹¹⁹⁾

ANTECEDENTES: Las medidas para prevenir la infección por citomegalovirus transmitido por transfusión (TT-CMV) después del trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) incluyen la transfusión de unidades de sangre negativas a anticuerpos CMV y / o la transfusión de productos sanguíneos celulares leucorreducidos. Evaluamos la incidencia de TT-CMV en pacientes seronegativos a CMV que recibieron trasplantes HSC (células madre hematopoyéticas) seronegativos para CMV, que fueron transfundidos con productos sanguíneos celulares leucorreducidos no evaluados para anti-CMV.

DISEÑO Y MÉTODOS DEL ESTUDIO: En un estudio observacional prospectivo entre 1999 y 2009, todos los pacientes con HSCT recibieron hemocomponentes leucorreducidos no probados para anti-CMV. Los pacientes fueron evaluados para determinar el estado serológico del

CMV y los receptores CMV negativos de trasplantes CMV negativos fueron sistemáticamente monitoreados para CMV transmitido por transfusión sanguínea y mediante la prueba de ácido nucleico para CMV. Los anticuerpos anti-CMV (inmunoglobulina IgG e IgM) se evaluaron después de tres intervalos de tiempo (inclusión del estudio de intervalo 1 hasta día +30 después de HSCT; Intervalo 2, día + 30 días +100; intervalo 3, después de día +100).

RESULTADOS: Entre 142 pacientes tratados con TCMH alogénico se identificaron 23 pares de donante-paciente negativos para CMV. Estos 23 pacientes recibieron 1847 productos sanguíneos de 3180 donantes. Todos los pacientes permanecieron negativos para el ADN del CMV y ninguno desarrolló complicaciones clínicas asociadas al CMV. Esto resulta en un riesgo de TT-CMV por exposición del donante de 0% (intervalo de confianza del 95%, 0.0% 0.12%). Sin embargo, 17 de 23 pacientes se seroconvirtieron para IgG anti-CMV, pero ninguno para IgM anti-CMV. Los seroconvertidores de CMV IgG recibieron significativamente más transfusiones por semana que los no convertidores.

CONCLUSIÓN: El riesgo de TT-CMV es bajo en pacientes con HSCT de CMV de alto riesgo transfundidos con hemoderivados leucorreducidos no probados para anti-CMV. La causa de la seroconversión de IgG anti-CMV es muy probable la transmisión pasiva de anticuerpos por productos sanguíneos. ⁽¹²⁰⁾

Objetivo: el citomegalovirus (CMV) está ampliamente distribuido y constituye la principal causa de infecciones congénitas en todo el mundo. La transmisión del CMV durante el embarazo representa uno de los principales impactos de este virus en la salud pública. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los genotipos de CMV de glicoproteína B

(gB) en niños mexicanos y mujeres embarazadas, ya que existe información limitada sobre la diversidad genómica del CMV en México.

Métodos: Se analizaron las cepas de CMV detectadas en niños mexicanos (n = 38) y mujeres (n = 38) entre 2001 y 2012. Se amplificó y se secuenció un fragmento del gen gB y se definieron genotipos basados en secuencias de prototipos.

Resultados: el genotipo gB1 se detectó con mayor frecuencia en niños (68,4%) que en mujeres (31,6%; p 0,0028), mientras que el genotipo 2 fue más frecuente en mujeres (65,89%) que en niños (26,3%, p 0,0012) . El genotipo 3 fue poco frecuente en ambos grupos (5.3 y 2.6%). Las secuencias de nucleótidos exhibieron un alto grado de similitud con las cepas prototipo. Sin embargo, identificamos 17 secuencias distintas que dieron como resultado cambios en la secuencia de aminoácidos codificada en cuatro cepas.

Conclusiones: gB1 y gB2 son las cepas más comunes asociadas con la infección por CMV en niños y mujeres mexicanos. Además, encontramos que la frecuencia para cada genotipo difirió entre ellos, posiblemente debido a la variabilidad en la dinámica de transmisión o reactivación.

(121)

En los países desarrollados, el riesgo de una enfermedad transmitida por transfusión de concentrados eritrocitarios ha llegado a ser muy pequeña con un riesgo de menos de 1 en 1 millón para los patógenos de gran preocupación incluyendo el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Aunque siempre es posible que un nuevo agente infeccioso se introduzca en el suministro de sangre, los programas actuales de recolección de sangre usan una combinación de una historia médica a partir de donadores voluntarios, exploraciones físicas limitadas, exclusiones geográficas y viajes para las áreas donde se sabe que la enfermedad es endémica y que la prueba nos es práctica o de probada

eficacia, y una batería de pruebas serológicas y de ácido nucleico para reducir el riesgo de complicaciones infecciosas. Las donaciones voluntarias de sangre en los Estados Unidos son analizadas para sífilis (a pesar de la ausencia de casos documentados recientes), virus de hepatitis B (VHB), VIH, virus linfotrópico humano de células T, VHC, virus del Este del Nilo, y enfermedad de Chagas con la reciente adición de pruebas para el virus del Zika. Aunque las pruebas son realizadas para eliminar unidades infectadas a partir del suministro de sangre algunas de estas pruebas son más probables para identificar infecciones previas (en particular sífilis o hepatitis B). Las pruebas iniciales para estos agentes se realiza con el uso de métodos serológicos que han sido mejorados a lo largo del tiempo con nuevas generaciones de ensayos que tienen una sensibilidad y especificidad mejorada. Para la seguridad adicional del receptor, se realizan pruebas de ácido nucleico para VHB, VHC, VIH, virus del Este del Nilo y el virus del Zika. Los donadores de sangre pueden también ser probados para anticuerpos a citomegalovirus para pacientes de alto riesgo, pero la leucorreducción de glóbulos rojos se consideran igualmente seguros con respecto al riesgo del citomegalovirus.

La tecnología de la reducción de patógenos representa un enfoque proactivo para mejorar la seguridad de la sangre mediante la desactivación amplia de agentes infecciosos potenciales en el componente sanguíneo. Esta tecnología esta ahora disponible en los Estados Unidos para plaquetas y plasma. Varios sistemas están bajo estudio para el tratamiento de células rojas, usando procesos químicos con una gente alquilante (S-303) y glutatión (Intersept, Cerus) o una combinación de riboflavina y luz ultravioleta (Mirasol, Terumo, BCT). Ninguno de los sistemas esta autorizado en los Estados Unidos. Las ventajas de la tecnología de reducción de patógenos incluirían la reducción de

infecciones residuales como virus, bacteria o parásitos que no son detectados por los sistemas de prueba actuales y la detección de algunas infecciones que aún no se han reconocido como transmisoras de enfermedades por transfusión. La tecnología de reducción de patógenos también inactivará células blancas en la sangre que no se eliminan con los filtros de leucoreducción, eliminando la necesidad de irradiar los eritrocitos para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped asociada a la transfusión. También se prevé que la tecnología de reducción de patógenos podría eliminar alguno de los donadores que han viajado actualmente. Y las pruebas de algunos agentes para los cuales el riesgo de infecciones intercurrentes es muy bajo. Los estudios in vitro han demostrado que la tecnología de reducción de patógenos mata altos niveles de virus y bacterias en las células rojas y, un estudio químico mostró que la sangre completa tratada con riboflavina y luz ultravioleta redujo la transmisión de la malaria. Estas ventajas de seguridad de tratar los glóbulos rojos con la tecnología de reducción de patógenos deberán evaluarse con respecto a algún grado de daño celular y la probabilidad de un aumento en los costos de dicho tratamiento.⁽¹²²⁾

CONCLUSIONES

1) Al finalizar esta investigación nos pudimos dar cuenta de la importancia de la información y difusión que las autoridades de salud deben dar a saber a los donadores en general, ya sea de sangre, órganos sólidos o células madre hematopoyéticas, pues a pesar de tener una variedad de soluciones para los pacientes que necesitan de algún tipo de donación, la interacción entre un agente patógeno como el citomegalovirus (CMV) y el hospedero es compleja, y esto aunado a que es un microorganismo oportunista con individuos en estados de inmunosupresión o bien con una inmadurez del sistema inmune las perspectivas de vida disminuyen drásticamente.

2) Sería pertinente que en los bancos de sangre de nuestro país se pudiera estandarizar una técnica para la detección del CMV en donadores.

3) Es verdad que la leucorreducción es una técnica que puede controlar y/o prevenir una buena cantidad de enfermedades infecto-contagiosas, sin embargo este procedimiento no se aplica para todos los tipos de pacientes inmunodeprimidos, solo se realiza para pacientes de trasplante de células madre hematopoyéticas dejando a la suerte a los pacientes de trasplantes de órganos sólidos o cualquier otro que necesite de una transfusión sanguínea por lo que la leucorreducción universal sería un arma de protección para mucha gente que tiene una esperanza de vida.

4) A pesar de que existen procedimientos muy avanzados para disminuir la presencia de patógenos en los componentes sanguíneos, tales como una combinación de riboflavina y luz ultravioleta, todavía no están autorizados, son caros y están aún en investigación.

5) Por todo lo anterior llegamos a la conclusión de que una buena historia clínica junto con adecuados procedimientos de detección (búsqueda de anticuerpos y/o técnicas de PCR) sería ideal que existan en nuestros bancos de sangre para evitar en lo posible una infección no solo por CMV sino cualquier otro patógeno que se transmita por sangre y/o sus componentes.

BIBLIOGRAFIA

1. José Emilio Mille-Loera. Alteraciones inmunológicas de la transfusión sanguínea en el paciente oncológico. Revista Mexicana de Anestesiología. Vol. 34. Supl. 1 Abril-Junio 2011 pp S78-S83
2. Jaime Jesús Durán-Nah,a Sofía Elisa Pastelín-Ruiz,b Emilio de 7. Gutiérrez Salinas J, Carmona García R, García Ortiz L. Detección de infección asintomática por citomegalovirus en donadores voluntarios de sangre. Med Int Mex 2009; 2010; 26(2): 109-115.
3. Gutiérrez Salinas J, Carmona García R, García Ortiz L. Detección de infección asintomática por citomegalovirus en donadores voluntarios de sangre. Med Int Mex 2009; 2010; 26(2): 109-115.
4. Lawrence CM, Dennis LK. Introduction to infectious diseases: Host-pathogen interactions. In: Harrison Principles of Internal Medicine. 18th ed McGraw-Hill Professional ; 2012.
5. Muñoz DE. Los riesgos de la transfusion en sup unto justo. SETS (serie en Internet)2003(citado 10 dic 2007). Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletín/revista_2004730_2819.pdf
6. Prólogo. En Ballester Santovenia JM. ABC de la medicina transfusional. Guías clínicas. Cuba 2006. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2006. pp 8-9.
7. Alfonso VME, Lam DRM, Ballester SJM, Cao FW, Ballester PL, Morales BCJ et al. Aspectos socioculturales relacionados con la donación de sangre en Cuba. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2002; 18(3).
8. Manual Técnico AABB 12 ed. Bethesda: American Asociation of Blood Banks; 1997. Pp 541-568.
9. Pedro Sánchez Frenes, María de Jesús Sánchez Bouza, Sara Hernández Malpica. Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre. Rev Latinoamer Patol Clin, Vol. 59, Num. 4, pp186-193. Dic 2012.

10. Dodd RY. Emerging pathogens and their implications for the blood supply and transfusion transmitted infections. *Brith J Hematol* 2012; 159: 135-142.
11. Jones K. Global trends in emergin infectious diseases. *Nature* 2008; 451: 990-993.
12. Mendoza C, Altisent C, Aznar JA, Batle J, Soriano V. Emergin viral infections-a potential threat for blood supply in the 21st century. *Aids Rev* 2012; 14: 279-289.
13. Alter H, Stramer S, Dood R. Emerging infectious diseases that threaten the blood supply. *Semin Hematol* 2007; 44: 32-41.
14. José Gutiérrez-Salinas, Paul Mondragón- Teran. Enfermedades infecciosas emergentes y la donación de sangre. *Med Int Méx* 2015; 31: 77-86.
15. Trimble SR, Parker CS, Grant AM, Soucie JM, Reyes N. Assessing emerging infectious threats to blood safety for the blood disorders community. *Am J Prev Med* 2010; 38: 468-47.
16. Ceccherini Nelli L, Filiponi F, Mosca F, Campa M. The risk of contracting and infectious disease from blood transfusion. *Transplant Proc* 2004; 36: 680-682.
17. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. Emerging infectious: a perpetual challenge, *Lancet infect Dis* 2008; 8: 710-719.
18. Bush MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion- transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion* 20005; 45: 254-264.
19. Lipkin WI. Microbe hunting. *Microbiol Mol Biol Rev* 2012; 74: 363-377.

20. Cameron PA, Rainer TH. Update on emerging infections: News from the Centers for Disease Control and Prevention. *Ann Emerg Med* 2003;42:113-116. 2
21. Rivero Jiménez RA. Transmisión de infecciones virales por la transfusión de sangre. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter* 2006, 22 (2)
22. Cádiz Sohen A. Inmunoglobinas de uso intravenoso. Características y usos clínicos. Medellín: Litografía SECREA; 2004. p. 41.
23. Infecciones transmitidas por la sangre. En: Ballester SJM. ABC de la medicina transfusional. Guías clínicas. Cuba 2006. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2006. pp. 37-40.
24. Epidemiología de las enfermedades transmisibles. En: Beaglleohole R, Bonita R, Kejjellstron T. Epidemiología básica. Washington DC: OPS; 1994. pp. 103. 9.
25. Váldez SL. Enfermedades y otros daños a la salud. Enfermedades infecciosas transmisibles. Epidemiología general. En: Toledo CG. Fundamentos de Salud Pública. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2005. pp. 409-435. 1
26. Pereira A. Más allá de la vigilancia. SETS [serie en Internet] 2003. [Citado 21 Nov 2007]. Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletin/revista_2004730_688.pdf
27. Norma 253
28. Colugnati FAB, Staras SAS, Dollard SC, Cannon MJ. Incidence of cytomegalovirus infection among the general population and pregnant women in the United States. *BMC Inf Dis* 2007;7:71- 80.
29. Gutiérrez-Salinas J, Cruz-Tovar L. Estudio de la seroprevalencia de la infección por citomegalovirus a través de la concentración sérica de IgG en un hospital de tercer nivel. *Rev Mex Pat Clin* 2008;55(4);175-186.

30. Weller TH. Cytomegalovirus: a Historical Perspective. *HERPES* 2000; 7: 66-69.
31. Weller TH. Cytomegalovirus In: *Growing Pathogens in Tissue Cultures*. Science History Publications Boston MA 2004:125-137.
32. Ho M. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Med Microbiol Immunol* 2008; 197: 65-73. 4.
33. Rowe WP Hartley JW Waterman S. Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids. *Pro Soc Exp Biol Med* 1956; 92: 418-424.
34. Weller TH Hanshaw JB. Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease. *N Engl J Med* 1962; 266: 1233- 1244.
35. Kanich RE Craighead JE. Cytomegalovirus infection and cytomegalic inclusion disease in renal transplant recipients. *Am J Med* 1966; 40: 874-882.
36. Klemola E Kaariainen L. Cytomegalovirus as a possible cause of a disease resembling infectious mononucleosis. *BMJ* 1965; 2: 1099-1102.
37. Bilgin Y van de Watering LM Brand A. Clinical effects of leucoreduction of blood transfusion. *Neth J Med* 2011; 69: 441-450.
38. Crumpacker CS Zhang JL. Cytomegalovirus In Mandell, Douglas, and **Bennetts's Principles and Practice of Infectious Diseases 7th Edition** Churchill Livingstone Philadelphia PA 2010: 1971-1987.
39. Boza-Cordero R. Citomegalovirus: De La Infección Neonatal A Las Infecciones En Pacientes Trasplantados y De La Citomegalia A La Biología Molecular. *Rev CI EMed UCR* 2012; 2: 5-23.

40. Sara Sanbonmatsu Gámez, Mercedes Pérez Ruiz y José María Navarro Marí. Infección por citomegalovirus humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32(Supl 1): 15-22
41. Mocarski ES Shenk T Pass RF. Cytomegalovirus. In Knipe DM Howley PM editors *Fields Virology 5th Edition* Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia PA 2007: 2701-2772.
42. Crough T Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 76- 97.
43. Gandhi MK Khanna R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infectious Diseases* 2004; 4: 725-738.
44. Humar A Kumar D Gilbert C Bolvin G. Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy in Solid-Organ-Transplant Recipients with CMV Disease. *J Infect Dis* 2003; 188: 581-584
45. Goossens VJ Wolffs PF van Loo IH Bruggeman CA Verbon A. CMV DNA levels and CMV gB subtypes in ART-naïve HAART-treated patients: a 2-year follow-up study in The Netherlands. *AIDS* 2009; 23: 1425- 1429.
46. Nigro G Adler SP. Cytomegalovirus infections during pregnancy. *Current Opinion Obst Gynecol* 2011; 23: 123-128.
47. Medina JC Pérez-Sartori G CaltencoSerrano R Aguado JM. Immunologic Response and Pathogenic Mechanisms of Cytomegalovirus Infection in Transplant Recipients. *Trends Transplant* 2009; 3: 103- 112.
48. Slobedman B Stern JL Cunningham AL Abendroth A Abate DA Mocarski ES. Impact of Human Cytomegalovirus Latent Infection on Myeloid Progenitor Cell Gene Expression. *J Virol* 2004; 78: 4054-4062

49. Swanson EC, Schleiss MR. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60:335-49.
50. Griffiths PD. Cytomegalovirus. En: Zuckerman AJ, Banatvala Jangu E, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors. *Principles and practice of Clinical Virology.* 6th ed. Oxford: John Wiley and Sons, Ltd.; 2009. p. 161-97.
51. Pass RF. Cytomegalovirus. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 2675-705.
52. Alarcón Allen A, Baquero-Artigao F. Revisión y recomendaciones sobre la prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección posnatal por citomegalovirus. *An Pediatr (Barc).* 2011;74:52.e1-13.
53. Metselaar HJ, Weimar W. Cytomegalovirus infection and renal transplantation. *J Antimicrob Chem.* 1989;23 Suppl E: 37-47.
54. Gallant JE, Moore RD, Richman DD, Keruly J, Chaisson RE. Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. The Zidovudine Epidemiology Study Group. *J Infect Dis.* 1992;166:1223-7. 25.
55. Hodge WG, Boivin J-F, Shapiro SH, Lalonde RG, Shah KC, Murphy BD, et al. Laboratory-based risk factors for cytomegalovirus retinitis. *Can J Ophthalmol.* 2004;39:733-45.
56. Cordero Matía E, Len O. Esquemas de prevención de la infección por citomegalovirus: terapia anticipada frente a profilaxis universal. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 6:33-7. 27.

57. Aguado JM, Gil Vernet S. Profilaxis de la infección por citomegalovirus en el trasplante renal. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 6: 38-41. 28.
58. Cantisán Bohórquez S, Navarro Ortega D. Estrategias de monitorización inmunológica para la infección por citomegalovirus. *Tratamientos de base inmunológica. Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 6: 28-32. 29.
59. De la Torre-Cisneros J, Fariñas MC, Castón JJ, Aguado JM, Cantisán S, Carratalá J, et al. GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations for the management of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29: 735-58.
60. Mccarthy FP, Giles ML, Rowlands S, Purcell KJ, Jones CA. Antenatal interventions for preventing the transmission of cytomegalovirus (CMV) from the mother to fetus during pregnancy and adverse outcomes in the congenitally infected infant (Review). *Cochrane database of systematic reviews.* 2011;(3):Art No: CD008371.
- 61 Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med.* 2005;353: 1350-62.
62. Jacquemard F, Yamamoto M, Costa J-M, Romand S, Jaqz-Aigrain E, Dejean A, et al. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. *BJOG.* 2007; 114:1113-21.
63. Hodson E, Ladhani M, Webster A, Strippoli G, Craig J. Antiviral medications for preventing cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients (Review). *Cochrane database of systematic reviews.* 2013;(2):Art. No.: CD003774.
64. Owers D, Webster A, Strippoli G, Kable K, Hodson E. Pre-emptive treatment for cytomegalovirus viraemia to prevent cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients (Review). *Cochrane database of systematic reviews.*

65. Lilja AE, Mason PW. The next generation recombinant human cytomegalovirus vaccine candidates-beyond gB. *Vaccine*. 2012; 30: 6980-90.

66. Yulie-Yamamoto A, Mussi-Pinhata MM, Boppana SB, Novak Z, Wagatsuma VM, Oliveira PF et al. Human cytomegalovirus reinfection is associated with intrauterine transmission in a highly cytomegalovirus-immune maternal population. *Am J Obst Gynecol* 2010; 202: 297-304.

67. Rubin RH. The pathogenesis and clinical management of cytomegalovirus infection in the organ transplant recipient: the end of the "silo hypothesis". *Cur Opin Infect Dis* 2007; 20: 399-407.

68. Stratta RJ, Pietrangeli C, Baillie GM. Defining the Risk for CMV Infection and Disease after Solid Organ transplantation. *Pharmacotherapy* 2010; 30: 144-157.

69. Méndez JC, Sia IG. Human cytomegalovirus. En: Lennette EH, Smith TF, editors. *Laboratory Diagnosis of Viral Infections*. 3rd ed. New York-Basel: Marcel Dekker Inc.; 1999. p. 361-72.

70. Griffiths PD, Emery VC. Cytomegalovirus. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical virology*. New York: Churchill Livingstone Inc.; 1997. p. 445-70.

71. Razonable RR, Paya C V, Smith TF. Role of the laboratory in diagnosis and management of cytomegalovirus infection in hematopoietic stem cell and solidorgan transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 746-52

72. Grefte JM, Van der Gun BT, Schmolke S, Van der Giessen M, Van Son WJ, Plachter B, et al. The lower matrix protein pp65 is the principal viral antigen present in peripheral blood leukocytes during an active cytomegalovirus infection. *J Gen Virol*. 1992; 73 Pt 11: 2923-32

73. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation*. 2010;89: 779-95.

74. Lazzarotto T, Guerra B, Gabrielli L, Lanari M, Landini MP. Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17: 1285-93.

75. Kadambari S, Williams EJ, Luck S, Griffiths PD, Sharland M. Evidence based management guidelines for the detection and treatment of congenital CMV. *Early Hum Dev*. 2011;87: 723-8.

76. Baquero-Artigao F. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica sobre el diagnóstico y el tratamiento de la infección congénita por citomegalovirus. *An Pediatr (Barc)*. 2009;71:535-47.

77. Munro SC, Hall B, Whybin LR, Leader L, Robertson P, Maine GT, et al. Diagnosis of and Screening for Cytomegalovirus Infection in Pregnant Women. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4713-4718.

78. Guerra B, Simonazzi G, Banfi A, Lazzarotto T, Farina A. Impact of diagnostic and confirmatory tests and prenatal counseling on the rate of pregnancy termination among women with positive cytomegalovirus IgM antibody titers. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:221-226

79. Pass R. Congenital Cytomegalovirus Infection: Screening and Treatment. *J Pediatr* 2010; 157: 177-180.

80. Hebart H. Sensitive detection of human cytomegalovirus peptide-specific cytotoxic T-lymphocyte responses by interferon-gamma - enzyme-linked immunospot assay and flow cytometry in healthy

individuals and in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002;99:3830-7.

81. Lisboa LF, Kumar D, Wilson LE, Humar A. Clinical utility of cytomegalovirus cell-mediated immunity in transplant recipients with cytomegalovirus viremia. *Transplantation*. 2012;93:195-200.

82. Giulieri S, Manuel O. QuantiFERON®-CMV assay for the assessment of cytomegalovirus cell-mediated immunity. *Expert Rev Mol Diagn*. 2011;11:17-26.

83. Drew WL. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infection and disease in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2007;20:408-11.

84. Kulkarni A, Westmoreland D, Fox JD. Molecular-based strategies for assessment of CMV infection and disease in immunosuppressed transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:179-86.

85. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:680-715.

86. Gerna G, Baldanti F, Lilleri D, Parea M, Alessandrino E, Pagani A, et al. Human cytomegalovirus immediate-early mRNA detection by nucleic acid sequence-based amplification as a new parameter for preemptive therapy in bone marrow transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1845-53.

87. Tolan RW, Palmer A, Michaels MG. Dried blood spot polymerase chain reaction screening for congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr*. 2010;157:1045; author reply 1045-6.

88. Zedtwitz-Liebenstein K, Jaksch P, Bauer C, Popow T, Klepetko W, Hofmann H, et al. Association of cytomegalovirus DNA concentration in

epithelial lining fluid and symptomatic cytomegalovirus infection in lung transplant recipients. *Transplantation*. 2004;77:1897-9.

89. Kerschner H, Jaksch P, Zweytick B, Puchhammer-Stöckl E. Detection of human cytomegalovirus in bronchoalveolar lavage fluid of lung transplant recipients reflects local virus replication and not contamination from the throat. *J Clin Microbiol*. 2010;48:4273-4.

90. Kanno M Chandrasekar H Bentley G Vander Heide R Alangaden GJ. Disseminated Cytomegalovirus Disease in Hosts without Acquired Immunodeficiency Syndrome and without an Organ Transplant. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 313-316.

91. Kyto V Vuorinen T Saukko P Lautenschlager I Lignitz E Saraste A. Cytomegalovirus Infection of the Heart is Common in Patients with Fatal Myocarditis. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 683-688.

92. Boza R del Valle G Céspedes M. Infección por Citomegalovirus y Parálisis Facial Periférica Aguda. *Rev Cost Cienc Med* 1994; 15: 25-29.

93. Boza R Herrero L Guillén J Zamora E. Ruptura espontánea del bazo durante infección por citomegalovirus. Descripción de un caso. *Rev Cost Cienc Med* 1987;8:43-45

94. Koukoulaki M Phil M Ifanti G Papastamopoulos V Chroni G Diamantopoulos E et al. Fulminant pancytopenia due to cytomegalovirus infection in an immunocompetent adult. *Braz J Infect Dis* 2010; 14: 180-182.

95. Chee SP Bacsal K Jap A Se-Thoe SY Cheng CL Tan BH. Clinical Features of Cytomegalovirus Anterior Uveitis in Immunocompetent Patients. *J Ophtalmol* 2008;145: 834-840.

96. Abgueguen P Delbos V Chennebault JM Payan C Pichard E. Vascular Thrombosis and Acute Cytomegalovirus Infection in Immunocompetent

Patients: Report of 2 cases and Literature Review. Clin Infect Dis 2003; 36: 134-139.

97. Mariguela VC Chacha SGF Cunha AA Troncon LEA Zucoloto S Figueiredo LTM. CMV in Colorectal Cancer and Idiopathic Ulcerative Colitis. Rev Inst Med trop S Paulo 2008; 50: 83-87.

98. Limaye AP Kirby KA Rubenfeld GD Leisenring W Bulger EM Neff MJ et al. Cytomegalovirus Reactivation in Critically Ill Immunocompetent Patients JAMA 2008; 300: 413-422.

99. Kalil AC Florescu DF. Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in nonimmunosuppressed patients in the intensive care unit. Crit Care Med 2009; 38: 2350-2358.

100. Eddleston M Peacock S Juniper M Warrel DA. Severe CMV Infection in Immunocompetent Patients. Clin Infect Dis 1997; 24: 52-56.

101. International Forum. Universal leucocyte-depletion of blood components: cell concentrates and plasma, Vox Sang 2001; 81: 56-77.

102. Young J. Component Preparation. In: Rudmann S. Textbook of blood banking and transfusion medicine. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994; pp. 235-239.

103. Radillo GA. Medicina transfusional. México: Editorial Prado, 1999; pp. 409-418.

104. Williamson L. Production and storage of blood components. In: Murphy M, Pamphilon D. Practical transfusion medicine. Cambridge, Mass: Blackwell Science, 2001; pp. 231-234.

105. Dzik WH. Leukoreduced products. In: Hillyer C, Hillyer K, Strobl F, Jefferies L. Handbook of transfusion medicine. San Diego: Academic Press, 2001; pp. 125-128.

106. Bravo-Lindoro AG. Leucorreducción. ¿Para qué? ¿Cuándo? ¿Cómo? Gac Med Mex 2002; 138 (supl 1): 540-543.

107. van de Watering B: Clinical significance of leukoreduction of blood components. Vox Sang 2000; 78 (supl 2): 227.

108. Triulzi DJ. Blood transfusion therapy, a physician's handbook. 6th ed. Bethesda, Maryland: AABB Press, 1999; pp. 10-12.

109. Dzik WH. Leukoreduction of blood components. Curr Opin Hematol 2002; 9 (6): 521-526.

110. Malagón-Martínez A. Consenso Nacional para el Uso de Sangre y sus Componentes. Gac Med Mex 2002; 138 (supl 1): S35-S37.

111. Technical Manual. 13th ed. Bethesda, Maryland: AABB Press, 1999; pp. 461-462.

112. Rivera LR. Indicaciones clínicas de la transfusión sanguínea, empleo de los componentes leucorreducidos. En: Tópicos selectos de medicina transfusional. México: Editorial Prado, 2002; pp. 109-114.

113. Bautista JJ. Leucorreducción prealmacenamiento y su control de calidad. En: Tópicos selectos de medicina transfusional. México: Editorial Prado, 2002; pp. 115-120.

114. Blajchamn M, Goldman M. Proceedings of a Consensus Conference: Prevention of post-transfusion CMV in the era of universal leukoreduction. Transf Med Rev 2001; 15: 1-20.

115. Vamvkas, E, Blajchman, M, Prestorage versus poststorage white cell reduction for the prevention of the deleterious immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusion. Transf Med Rev 2000; 14: 23-33.
16. Blajchman MA. Immunomodulation and blood transfusion. Am J Ther 2002; 9: 389-395.

116. Zucker-Franklin D, Poncake BA. White cell reduction by filtration may significantly decrease human T-lymphotropic virus type 1 Tax-encoded proteins in blood used for transfusion. *Transfusion* 1998; 38: 317.

117. Per Ljungman. Risk of cytomegalovirus transmission by blood products to immunocompromised patients and means for reduction *British Journal of Hematology* 2004; 125: 107-116.

118. Malte Zieman, Holger Hennig. Evaluation of Potentially Infectious Blood Donors in Cases of Presumed Transfusion-Transmitted Cytomegalovirus Infections. *American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2014; 20: 593.

119. Malte Zieman, Holger Hennig. Prevention of Transfusion-Transmitted Cytomegalovirus Infections: Which is the Optimal Strategy *Transfus Med Hemother* 2014; 41: 40-44.

120. Thomas Thiele, William Krüger, Kathrin Zimmermann. Transmission of cytomegalovirus (CMV) infection by leukoreduced blood products not tested for CMV antibodies: a single-center prospective study in high-risk patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion Practice* 2011; 51: 2620-2626.

121. M. Gonzalez-Sanchez a Diana L. Alvarado-Hernandez. Cytomegalovirus Glycoprotein B Genotypes in Mexican Children and Women. *Intervirology* 2015; 58: 115-121.

122. Jeffrey L. Carson, M. D. Darell J. Triulzi, M. D., Paul M Ness, M. D. Indications for and Adverse Effects of Red-Cell Transfusion. *2017; 377: 1261-72.*