

79

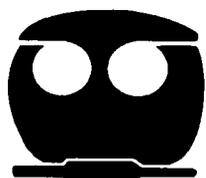


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ENFERMEDADES VIRALES
TRANSMITIDAS POR TRANSFUSIÓN
SANGUÍNEA”

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
JUAREZ LARA ELIZABETH JULIETA



MÉXICO, D.F.
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente PROF. JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX
Vocal PROF. EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS
Secretario PROF. MARTA ALICIA MENJIVAR IRAHETA
1er. Suplente PROF. MARIIA TERESA DE LOUR FLORES CAMACHO
2do. Suplente PROF. AMALIA GUADALUPE BRAVO LINDORO

Sitio donde se desarrolló el tema: Bibliotecas

Nombre completo y firma del asesor del tema:

E.B.C. EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS

Nombre completo y firma del sustentante:

ELIZABETH JULIETA JUÁREZ LARA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcionado.

NOMBRE: Elizabeth Julieta Juárez Lara
FECHA: 26 Nov 2002
FIRMA: Elizabeth Juárez Lara

Gracias:

A Dios por darme la oportunidad de ver finalizado uno de tantos sueños junto a mi familia y amigos

A mis Padres, Lidia y Esteban, por darme la bendición de estar con ellos y por apoyarme infinitamente

A mi Mamá por sus cuidados y consejos que sin ellos hubiera sido más difícil terminar esta etapa, gracias por alentarme a seguir adelante en esos momentos en que sentí flaquear

A mi Papá, por tu apoyo y alegría, te admiro y respeto por ser una persona llena de bondad y cariño

A mis hermanos:

Lucy, a pesar de nuestras diferencias, sé que puedo contar contigo, siempre he admirado tu fortaleza y carácter y sé que no dejarás de luchar por tus sueños, gracias por apoyarme y enseñarme tantas cosas

Lupita, eres una persona llena de valor, sé que lograrás cumplir con tus metas, sólo ten paciencia y firmeza en tus decisiones

Javier, espero que permanezcamos unidos como hasta ahora, sabes que eres una persona muy especial para mí

Nidia, no tengo palabras para
agradecerte todo tu apoyo, sólo
espero que este paso sea el
principio de muchas cosas más
que compartamos juntas

Laura, Monserrat, Sandra y Brenda
gracias por brindarme una amistad
sincera, ahora sé que podremos
mantenernos unidas hoy y siempre

José Luis, gracias por
compartir conmigo uno de
mis más grandes sueños, sé
que lograrás cumplir con los
tuyos

A mis tíos y primos por motivarme a
seguir adelante en mi formación
profesional

Un agradecimiento especial a
mi tío José Angel Lara por
todo su apoyo y ayuda, esta
meta también es tuya

In memoriam: A mi papá Rafa y mi
mamá Pancha quienes con sus consejos
y cuidados me formaron como persona.
Siempre estarán en mi mente y en mi
corazón, les dedico con mucho cariño
este trabajo

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de pertenecer a esta máxima casa de estudios:

A mis profesores por sus enseñanzas y por dedicar su tiempo a la formación de nuevas generaciones de profesionistas

A la E.B.C. Eva Delia Calderón Garcidueñas por ofrecerme la oportunidad de emprender nuevos proyectos que han sido vitales en mi formación tanto como ser humano como profesionista

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	
CAPÍTULO 1. GENERALIDADES	
1.1 Métodos de Diagnóstico	9
1.2 Prevención	15
CAPÍTULO 2. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA	
2.1 Características del virus	21
2.2 Mecanismos de transmisión	23
2.3 Fisiopatología	24
2.4 Respuesta serológica a la infección	27
2.5 Transmisión por transfusión	29
CAPÍTULO 3. HEPATITIS VIRAL TIPO B	
3.1 Características del virus	35
3.2 Mecanismos de transmisión	37
3.3 Fisiopatología	38
3.4 Respuesta serológica a la infección	38
3.5 Transmisión por transfusión	41
CAPÍTULO 4. HEPATITIS VIRAL TIPO C	
4.1 Características del virus	45
4.2 Mecanismos de transmisión	46
4.3 Fisiopatología	46
4.4 Respuesta serológica a la infección	47
4.5 Transmisión por transfusión	48
CAPÍTULO 5. EPSTEIN-BARR	
5.1 Características del virus	52
5.2 Mecanismos de transmisión	52
5.3 Fisiopatología	53
5.4 Respuesta serológica a la infección	54
5.5 Transmisión por transfusión	55
CAPÍTULO 6. HTLV I-II	

6.1 Características del virus	58
6.2 Mecanismos de transmisión	59
6.3 Fisiopatología	60
6.4 Respuesta serológica a la infección	60
6.5 Transmisión por transfusión	61
CAPÍTULO 7. PARVOVIRUS B19	
7.1 Características del virus	63
7.2 Mecanismos de transmisión	64
7.3 Fisiopatología	64
7.4 Respuesta serológica a la infección	65
7.5 Transmisión por transfusión	66
CAPÍTULO 8. CITOMEGALOVIRUS	
8.1 Características del virus	68
8.2 Mecanismos de transmisión	68
8.3 Fisiopatología	69
8.4 Respuesta serológica a la infección	70
8.5 Transmisión por transfusión	71
CAPÍTULO 9. PRIONES ¿UN RIESGO POR TRANSFUSIÓN?...	
9.1 Estructura	74
9.2 Fisiopatología	75
9.3 Mecanismo de transmisión... ¿un riesgo por transfusión?	76
CAPÍTULO 10. DISCUSIÓN	
	79
CONCLUSIONES	
	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	89

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs in each corner, framing the central text.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Desde los años 40 se conoce la transmisión de algunas enfermedades a través de la sangre, pero se consideraba un problema menor. Unos años más tarde, en 1943, se comenzó a tener un nuevo criterio: la transfusión de sangre y sus componentes salvan vidas, pero también pueden transmitir enfermedades. A partir de entonces en muchos países empieza a controlarse la donación de sangre principalmente con el fin de proteger tanto al donador como al receptor.

Esta investigación tiene como objetivo conocer la trascendencia que hoy en día tiene la transmisión de enfermedades virales por transfusión sanguínea y mediante la recopilación de datos bibliográficos saber que se está haciendo en los Bancos de Sangre con el fin de disminuir el riesgo de transmitir tales enfermedades y si es posible evitar por completo su transmisión. Tal responsabilidad comienza desde realizar una adecuada selección del donador basándose en una historia clínica confiable hasta aplicar las técnicas con los requerimientos necesarios de sensibilidad y especificidad para detectar los marcadores serológicos de los virus.

Es bien sabido que en un tiempo, la base de la donación era la retribución económica del donante pero con el advenimiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en 1981 se ha procurado que la donación sea un evento voluntario y altruista, ya que se ha visto que el donante voluntario, es mucho más seguro que aquel que recibe un estímulo monetario. A todo ello hay que añadir otro punto importante que marca la transfusión en los últimos años: el incremento en la demanda de las necesidades transfusionales de los pacientes, esto se debe a que también se han incrementado ciertos padecimientos principalmente de tipo oncológico, hepático, renal; además de los trasplantes de órganos. Por lo mismo, el sector salud se ha preocupado en implantar normas que indican las características fundamentales de la donación de sangre, en nuestro país los Bancos de Sangre deben seguir la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, "para la disposición de Sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos"; la cual, ha permitido disminuir la transmisión de enfermedades infectocontagiosas por transfusión.

A pesar de ello, aún existe un riesgo, muy pequeño pero significativo. Este riesgo se da como consecuencia de la dificultad para identificar donantes con infecciones recientes, los cuales presentan lo que se ha llamado "periodo de ventana" a la infección y el cual es imposible detectar por los métodos utilizados. Por lo anterior, la importancia de esta investigación radica primordialmente en que, tanto el Químico Farmacéutico Biólogo como el personal que labora en la Medicina Transfusional tomen conciencia de su trabajo en el Banco de Sangre, el cual implica disminuir la transmisión de enfermedades virales con base a una buena determinación de marcadores serológicos, además actualizarse día con día en las nuevas técnicas de laboratorio como se pretende que sea la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y de tal manera excluir a los donantes de alto riesgo. Además, el personal que colabora en la selección del donador debe darle total confianza al donante para que sea honesto y sincero, con el propósito de que su historia clínica sea lo más verídico posible, de no ser así tenga la libertad de autoexcluirse.

De tal manera, la donación de sangre debe conducir el máximo de seguridad para el donante y la sangre transfundida debe permitir el mínimo riesgo posible para el receptor.



CAPÍTULO 1
GENERALIDADES

La prevención de la transmisión de enfermedades infecciosas a través de la transfusión de sangre presenta uno de los desafíos más grandes de la medicina transfusional. Aunque el riesgo actual es menor, aún persiste la probabilidad de transmitir enfermedades virales como Hepatitis B (VHB), Hepatitis C (VHC), Inmunodeficiencia Humana (VIH), Citomegalovirus, Virus Linfocitotrópicos de Células T Humanas (VLTH), Virus de Epstein-Barr, Parvovirus; bacterianas principalmente gramnegativas como *Pseudomonas*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Bartonella*, *Brucella*, parasitarias como *Plasmodium*, *Babesia microti*, *Treponema pallidum*, *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*⁹⁴. En el presente trabajo sólo nos referiremos particularmente a enfermedades virales transmitidas por transfusión. Por lo que, el objetivo de esta investigación es conocer la importancia de estas enfermedades en la medicina transfusional.

El riesgo de transmitir infecciones por transfusión se puede reducir desde el inicio del proceso de colección de la sangre al momento de donar, esto es, realizando una evaluación médica del donador que permita comprobar, dentro de ciertos límites, que el estado de salud del donante es satisfactorio y que no es portador de ninguna enfermedad susceptible de ser transmitida al receptor; una técnica aséptica adecuada; análisis para la detección de enfermedades infecciosas; formatos de autoexclusión y con todo ello se pretende garantizar la seguridad de la transfusión de sangre o sus componentes^{13, 30}.

Sin embargo, no siempre es posible excluir la posibilidad de errores humanos durante el proceso de tamizado ó la posibilidad de que la sangre donada tenga variantes virales, seroconversión atípica o una carga viral no detectable por los análisis serológicos actuales. Esto se explica cuando el donante ha padecido una infección reciente y se encuentra durante el periodo serológico silencioso o periodo de ventana^{53, 57}. Se calcula que el riesgo total actual de transmisión viral es de 1 en 50,000 a 1 en 700,000 por unidad¹⁵. Los errores en las pruebas de laboratorio ocurren en baja frecuencia aproximadamente 0.1%¹⁵.

Un donador seguro, según la American Red Cross Blood Services, se define como aquél que provee una donación de sangre que es negativa para todas las pruebas de tamizaje de laboratorio y quién no reporta factores de riesgo en su conducta⁹⁵. De hecho, una de las principales metas en los Bancos de Sangre en Estados Unidos es buscar medidas más efectivas para retener o alistar donadores voluntarios⁹⁶, ya que se

ha visto que los donadores voluntarios y altruistas^A, son más seguros, que aquellos donadores familiares que se ven, hasta cierto punto, obligados a donar.

Para que la donación de sangre sea lo más apropiada posible para el donante, deberá dársele el máximo de seguridad, confianza y una atención amable para que la persona se sienta motivada a donar de nuevo. Además, previamente a la recolección de sangre o de componentes sanguíneos, se les debe informar acerca de las enfermedades o conductas de riesgo a través de un programa educativo mediante material didáctico como charlas, videos, folletos etc., y así, si el donante considera que su sangre no es segura, en total privacidad, confidencialidad, discreción e intimidad, pueda llenar el formato de autoexclusión.

Los gobiernos de diferentes países han puesto bajo control sanitario toda actividad relacionada con la obtención, donación, procesamiento, conservación y transfusión de la sangre humana, sus componentes y derivados con el fin de garantizar la seguridad y calidad del producto; para tal objetivo en México existe la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 "Para la disposición de Sangre Humana y sus Componentes con fines terapéuticos". Cada banco de sangre debe realizar las indicaciones del manual de procedimientos derivadas de la Norma Oficial⁷².

Por ello, como primer punto en la selección del donador es el registro del mismo, para lo cual es necesario considerar una serie de datos que permitan identificarle. Tal información debe ser recogida en la historia clínica y archivada en cada donación, como lo indica la Norma Oficial Mexicana, cinco años en archivo activo y otros cinco años en archivo muerto, excepto la historia clínica de los donadores rechazados la cual se deberá conservar por un término no menor de 90 días. Como se indica en el apartado C.4 de la Norma, los bancos de sangre deberán practicar a todos los candidatos a ser disponentes, una historia clínica con carácter estrictamente confidencial, que en cualquier momento estará a la disposición de la autoridad sanitaria competente. La información que nos brinda la historia clínica nos permite decidir: si se acepta al donante; rechazarlo en forma temporal ó rechazarlo en forma permanente.

Para elaborar la historia clínica del donador, es necesario formular algunas preguntas muy específicas que permitan tener la seguridad, en la medida de lo posible, de que no existe riesgo ni en la donación ni

^A Donación Altruista: Aquella donación en la que el donante se ofrece espontáneamente a dar su sangre sin recibir por ello una recompensa económica¹⁷.

posteriormente. En 1992, tanto la FDA como la AABB aprobaron un cuestionario uniforme para la historia del donador^{63, 66, 75}.

Entre algunos parámetros relacionados principalmente con la transmisión de enfermedades virales, que apoyan al médico a excluir a donadores de alto riesgo se encuentran antecedentes patológicos; prácticas sexuales con personas de alto riesgo de transmitir alguna enfermedad como prostitutas, homosexuales; exploración física; antecedentes personales. Es importante que el cuestionario se realice por una persona capacitada, además que el contenido de las preguntas sea en un lenguaje claro y comprensible, de no ser así podría ser una fuente de error en la selección del donador.

El riesgo de adquirir infecciones por transfusiones sigue siendo un problema latente, actualmente el riesgo de adquirir hepatitis B por transfusión es de 1 en 63,000 unidades de sangre transfundidas, hepatitis C de 1 en 103,000 unidades transfundidas, para el virus de la inmunodeficiencia humana 1 en 660,000 y 1 en 641,000 para HTLV-I; estos datos se observan en Estados Unidos^{60, 102}.

1.1 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

El control de las donaciones de sangre es obligatorio a fin de eliminar las muestras potencialmente infecciosas. Aumentar la seguridad de los componentes sanguíneos continúa siendo la meta principal en la medicina transfusional. Como ya se comentó, el riesgo actual de transmisión del virus se considera debido a la recolección de sangre durante el período de ventana cuando los anticuerpos o proteínas virales no pueden ser detectados por las pruebas de laboratorio³. La naturaleza crónica de la enfermedad permite usar la serología para documentar la infección. No obstante, el diagnóstico serológico no identifica a los individuos con infección reciente. El "screening" o búsqueda se basa en la detección, por métodos inmunoenzimáticos, de los anticuerpos presentes en el suero o plasma. La calidad de los antígenos utilizados en estas pruebas no permite eliminar absolutamente determinadas respuestas inespecíficas. Como pruebas básicas se emplean el análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA= Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay o EIA= Inmunoensayo enzimático). Debido a la gravedad del diagnóstico, es obligatorio confirmar o no, el resultado inicial por otra técnica, para ello se utilizan procedimientos más específicos como el Western Blot para confirmar los resultados positivos.

Prueba de Escrutinio

ELISA

Principio de la técnica.

La técnica de ELISA tiene una sensibilidad alta de 99.8%; y una especificidad alta de 99.5%^{87, 93}. Si el resultado inicial de ELISA es positivo, el ensayo se repite. La posibilidad de usar enzimas como marcadoras de anticuerpos o antígenos ha dado lugar a la aparición de métodos inmunoenzimáticos. Por lo tanto el fundamento de los ensayos de ELISA ya sea que se utilice antígeno o anticuerpo es: Uno de los componentes de la reacción unido artificialmente a un soporte reacciona con el otro (el cual puede o no estar presente en la muestra). La reacción se evidencia utilizando un antianticuerpo conjugado a una enzima, detectándose la actividad enzimática con la ayuda de sustratos específicos que contienen un cromógeno. La intensidad del producto coloreado es proporcional al título de anticuerpos o antígenos presentes en el suero del paciente^{70, 93}. El cromógeno inactivo es incoloro. La cuantificación se realiza espectrofotométricamente mediante la lectura de las densidades ópticas. El mejor método para inmovilizar sobre la fase sólida a los antígenos y anticuerpos es la simple adsorción física sobre superficies plásticas tales como polipropileno y, sobre todo, poliestireno. Las enzimas que se utilizan con mayor frecuencia son: Peroxidasa (extraída del rábano); Fosfatasa alcalina (extraída de *Escherichia coli* o de intestino de ternera) y galactosidasa (extraída de *Escherichia coli*)⁸⁵.

Virus de la Inmunodeficiencia Humana. La prueba de ELISA mide los anticuerpos contra una o más proteínas de la envoltura (por ejemplo gp120). Detecta anticuerpos desarrollados 2 a 4 semanas después de la exposición. Después de dos resultados positivos consecutivos de ELISA, la muestra de suero es entonces analizada por la técnica Western Immunoblot⁸⁷. Debido a que la persona infectada le toma al menos 22-27 días para desarrollar anticuerpos contra VIH después de la infección, el ensayo de ELISA no es capaz de detectar infección aguda de VIH y podría proporcionar resultados falsos positivos.

Virus de la Hepatitis C. La prueba de anti-VHC en donaciones sanguíneas voluntarias se comenzó en Canadá en Marzo de 1990. La presencia de anti-VHC indica que un individuo puede estar infectado por el virus, que puede ser portador y por tanto puede transmitir la infección. Las pruebas serológicas son útiles para identificar la enfermedad aguda por VHC, pero no la crónica.

Una tercera generación de EIA (EIA-3) para VHC ha sido aprobada por la FDA ^{14, 29}. A pesar del enorme progreso por incrementar la sensibilidad de los ensayos para la determinación de anticuerpos contra VHC, aún queda el periodo de ventana entre la infección y la detección de anticuerpos, se estima que es de 82 días con la prueba de segunda generación o 66 días con la tercera generación¹⁹.

Virus de Epstein-Barr. En ELISA, principalmente se determinan anticuerpos IgG ó IgM frente al antígeno de la cápside del Virus de Epstein-Barr en suero o plasma humano. Estas pruebas nos permiten diagnosticar infección por EBV primaria o reactivada⁷⁰.

Citomegalovirus. La seroconversión suele constituir un marcador excelente de infección primaria por CMV, se utiliza principalmente en banco de sangre. Durante la reactivación del CMV pueden aparecer también anticuerpos IgM específicos, que no proporcionan un indicio fiable de infección primaria. En las pruebas serológicas se determinan tanto anticuerpos totales como anticuerpos tipo IgM frente al citomegalovirus^{67, 77}.

Parvovirus B19. La detección de anticuerpos IgM e IgG específicos para el virus es suficiente para el diagnóstico. La mayoría de los laboratorios utilizan el formato ELISA de captura de anticuerpos que son posteriormente enfrentados a antígenos PV (proteínas de cápside) B19.

Una prueba rápida para la detección del Parvovirus B19 conveniente en el escrutinio de donadores sanguíneos reportada por Brown y Cohen, consiste en la aglutinación positiva del grupo sanguíneo P de las células rojas, tratadas previamente con glutaraldehído, por el virus; por lo cual el antígeno P es el receptor⁶⁷, esta prueba se ha denominado hemaglutinación⁹⁹.

Pruebas Confirmatorias

Western Blot

Principio de la técnica.

Los expertos de la OMS han recomendado la enzimoimmunotransferencia (Western-Blot, Immunoblotting) como estándar para la confirmación de la infección por VIH²². La prueba se basa en el principio de ELISA, las proteínas del virus VIH-1 inactivado se separan en función de su peso molecular o carga mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en medio disociante y reductor, y posteriormente se transfieren electroforéticamente a la membrana de nitrocelulosa produciendo una mancha⁹⁴. Al contacto con el suero del paciente, las proteínas inmovilizadas capturan los anticuerpos específicos para el virus y se visualizan mediante un anticuerpo antihumano conjugado con enzima⁷⁰.

Para el VIH esta técnica permite caracterizar los anticuerpos dirigidos contra cada una de las proteínas virales entre ellas las proteínas: gag p24, p17, p26, p55; las proteínas pol p31, p56 y p66; las glicoproteínas env gp120/160, gp41⁹⁵. Existen otros métodos disponibles para el diagnóstico de infección por VIH. El método de captura del antígeno p24 es un inmunoensayo para la proteína central viral. El antígeno p24 o Ag p24^{av} se puede detectar en los linfocitos de hasta el 60% de los pacientes infectados, e indica replicación activa del virus. No está disponible para uso clínico.

Interpretación de los resultados de las pruebas para VIH⁹⁴. De acuerdo al criterio actual de la FDA y el CDC, una muestra es definida anti-VIH positiva si al menos dos de las siguientes bandas están presentes: p24, gp41, o gp 120/160. Resultados negativos para Western Blot no deben presentar bandas. Los resultados Western Blot clasificados como indeterminados tienen algunas bandas presentes pero no tienen un patrón positivo definido para VIH. Individuos infectados con VIH pueden tener patrones indeterminados en pruebas iniciales, pero desarrollarán bandas adicionales dentro de las seis semanas. Individuos sanos con patrones indeterminados iniciales continúan con resultados indeterminados o negativos en muestras repetidas y son negativos en la examinación clínica y en pruebas adicionales incluyendo cultivos virales y PCR. Donadores sanos quienes continúan mostrando los mismos datos indeterminados por más de seis meses puede ser "confiables" pero en ese momento no se aceptan para la donación sanguínea.

Para el Virus Linfotrópico T Humano, antígenos recombinantes de VLTH se añaden para mejorar la sensibilidad de WB como la proteína de envoltura recombinante (rgp21e) y/o las proteínas recombinantes específicas VLTH-1 y VLTH-2 MTA-1 y K55, respectivamente; o péptidos sintéticos específicos para cada tipo de VLTH, son sensibles y específicos pero no se utilizan en el escrutinio de grandes cantidades de muestras ^{61, 63, 67, 106}.

Para que la prueba se considere positiva debe haber reactividad tanto para gag (p19 y/o p24) y para la proteína env (gp46 *env*) o antígenos gp61/68 *env*. Cualquier otro patrón de reacción se considera indeterminado ^{63, 67, 79}.

RIBA

Esta prueba es confirmatoria para Virus de la Hepatitis C. La segunda generación de RIBA (RIBA-2) detecta la presencia de anticuerpos contra cada uno de los cuatro antígenos recombinantes del VHC: 5-1-1, c100-3,

c33c y c22-3, mientras que el formato del RIBA-3 reemplaza al c22-3 y las proteínas recombinantes 5-1-1/c100-3 con péptidos sintéticos y añaden a la proteína recombinante NS5 como una banda separada⁹⁶. En general, los anticuerpos frente a las proteínas C y NS3 son los principales responsables de la reactividad específica en las pruebas de cribado, en tanto las proteínas NS4 y NS5 son responsables frecuentes de las reactividades inespecíficas⁵⁹.

Prueba de Neutralización

El ensayo para confirmar el HBsAg utiliza el principio de anticuerpo específico de neutralización para corroborar este antígeno. En el procedimiento de neutralización un anticuerpo para HBsAg es incubado con el suero del donador. Si el HBsAg está presente en el suero, éste se une al anticuerpo. El HBsAg neutralizado es entonces bloqueado por la unión al medio sólido cubierto por anticuerpo. Si la neutralización provoca que la reacción desaparezca o disminuya al menos al 50%, el resultado original es considerado positivo para HBsAg. El principio de neutralización es similar al EIA competitivo.

Reacción en Cadena de la Polimerasa: Polymerase Chain Reaction (PCR)

Principio de la técnica

La Reacción en Cadena de la Polimerasa es una de las técnicas más importantes y poderosa de la investigación en biología molecular. La PCR fue inventada por Kary Mullis en Cetus Corporation por lo cual él recibió el Premio Nobel en 1993⁸¹. La PCR es un proceso por el cual una secuencia específica de DNA (llamada región blanco) se puede amplificar exponencialmente *in vitro*, identificando muy bajo número de copias del DNA proviral y así obtener millones de copias del segmento en un tiempo corto. Esta técnica es sumamente específica y extremadamente sensible. La introducción de la prueba de amplificación del ácido nucleico en la donación sanguínea minimizaría el periodo de ventana asociado al riesgo transfusional que aún persistente, se ha visto que reduciría hasta alrededor de 12 días para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana^{56, 94}, es decir en un 30 a 50%^{15, 36}.

Ahora bien, como se trata de la identificación de virus de tipo RNA, el método utilizado es la reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción reversa (RT-PCR)³. La RT-PCR se ha descrito principalmente para el VIH y el VHC. Puesto que, como ya comentamos, son virus tipo RNA y la PCR amplifica DNA, las

secuencias del gen que van a amplificarse deben ser previamente transcritas a DNA complementario (cDNA). Este cDNA es posteriormente amplificado por PCR.

El protocolo de la RT-PCR consiste en cuatro puntos:

- Obtención, preparación y almacenamiento de la muestra
- Extracción del ácido nucleico
- Transcripción reversa y amplificación mediante PCR
- Detección del producto amplificado

Las enzimas transcriptasa reversa utilizadas han sido la procedente del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMuLV) o una enzima nativa del virus de la mieloblastosis aviar (AMV). Más recientemente se ha comercializado una prueba que utiliza la DNA polimerasa de *Thermus thermophilus* (rTth)⁹⁶. Esta enzima tiene elevada actividad en presencia de manganeso, mientras que para la polimerización del DNA se requiere manganeso, de esta manera se pueden obtener condiciones óptimas para ambos procesos².

Ahora prosigue la amplificación por PCR, la reacción se dirige mediante cambios de temperatura y ocurre por ciclos repetidos de tres pasos:

- ✍ Desnaturalización. Como primer paso la doble hélice del DNA debe abrirse y esto se logra a una temperatura de 90-94°C y así se obtiene un templete de cadena sencilla
- ✍ Alineamiento. Una vez desnaturalizado el DNA, el primer o iniciador reconoce la secuencia a amplificar, esto ocurre a un temperatura de 54-62°C
- ✍ Elongación o Extensión. Actúa la enzima Taq polimerasa (*Thermophilus aquaticus*) colocando desoxirribonucleótidos en la cadena y así se realizará la extensión de la secuencia determinada¹⁰⁰.

Estos ciclos se repiten aproximadamente de 20 a 30 ciclos obteniendo así 2²⁰ o 2³⁰ copias. Finalmente para observar el producto de la PCR se puede realizar una electroforesis (se fundamenta en la migración en un gel de agarosa por diferencia de pesos moleculares), se emplea bromuro de etidio para iluminar el DNA amplificado al ser expuesto a la luz UV¹⁰⁰.

En Alemania, la agencia reguladora de componentes sanguíneos, el Instituto Paul Ehrlich, anunció en marzo de 1997, su intención de introducir pruebas basadas en ácido nucleico (NAT) para virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C y ADN/ARN del VIH en el escrutinio de donadores de sangre.

Virus de la Hepatitis B. La detección de ADN VHB en una infección temprana (antes de la aparición de HBsAg) y sus variantes genéticas (después de la desaparición de HBsAg del plasma) es ahora posible debido

al desarrollo de tecnologías de amplificación del ácido nucleico como lo es PCR. Será útil en algunos pacientes con HBsAg negativo. La prueba de PCR puede disminuir el periodo de ventana entre la infección por VHB y el diagnóstico de HBsAg a 25 días^{15, 28}.

Parvovirus B19. La técnica de PCR se aplica en los casos de aplasia de células rojas, anemias crónicas o hidropesía fetal en los cuales no se pueden detectar los anticuerpos específicos.

Virus de la Hepatitis C. El ARN VHC puede ser detectado en suero dentro de las primeras dos semanas después de la infección aguda. La presencia de ARN del virion en suero proporciona un indicador más fiable de enfermedad^{2, 38}.

La detección de ARN viral mediante amplificación genómica permitiría reducir el periodo de ventana en un 50 a 98 %, es decir, a 59 días¹⁹. La FDA continúa teniendo la perspectiva que NAT es el método actual más sensible disponible para la detección de virus transmisibles por sangre y su uso resulta en la reducción de la carga viral en sangre y plasma¹⁵.

En la Norma Oficial Mexicana se establece que las pruebas serológicas para identificación de anticuerpos contra el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Virus de la Hepatitis C y Hepatitis B serán mediante cualquiera de las pruebas de tamizaje siguientes: Ensayo inmunoenzimático; Aglutinación pasiva; además de las técnicas confirmatorias u otras con especificidad y sensibilidad igual o mayor.

Priones. No existen métodos para la detección directa del virus en los tejidos con microscopía electrónica, determinación de antígenos o sondas de ácidos nucleicos. Tampoco existen pruebas serológicas para detectar anticuerpos antiviricos. El diagnóstico se debe establecer por la clínica y se confirma mediante examen anatomopatológico del cerebro, que revela cambios histológicos^{6, 70}.

1.2 PREVENCIÓN.

En México, al igual que en el resto de los países del mundo, el SIDA se ha convertido en un problema de salud pública, con múltiples repercusiones psicológicas, sociales, éticas, económicas y políticas que superan el ámbito de la salud. Por esta razón, es necesaria la participación de diversos sectores de la sociedad, la coordinación entre instituciones públicas y privadas con apoyo de todos los países del mundo para poder combatirla.

El principal método para controlar la infección por VIH como una Enfermedad de Transmisión Sexual, se basa en un programa de educación que alerte a la población sobre los mecanismos de transmisión y las formas de prevención. Además la población se debe informar acerca de la importancia de otras enfermedades de transmisión sexual (sífilis, gonorrea, clamidiasis, herpes genital, vaginosis bacteriana, etc.).

El personal relacionado al sector salud se encuentra en un alto riesgo de exposición al VIH. Debido a este riesgo ocupacional, las autoridades de la salud pública han implementado ciertas precauciones con fluidos corporales. De esta manera, todos los pacientes deben manejarse como potencialmente infecciosos y por lo tanto, debemos seguir la norma NOM-010-SSA2-1993, para la prevención y control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

En cualquier caso de transmisión se debe realizar un estudio epidemiológico para identificar los factores de riesgo. En caso afirmativo, se debe identificar la procedencia de las unidades transfundidas, tejidos para trasplante o células germinales, para llevar a cabo las acciones apropiadas de vigilancia epidemiológica⁷¹.

INMUNIZACIÓN.

Una forma de prevenir la transmisión del VHB es la inmunización. Desde 1982 se cuenta con vacunas eficaces contra la hepatitis B⁷¹. La vacunación es útil incluso después de la exposición para los hijos de madres HBsAg positivas y los individuos con exposición percutánea o permucosa a la sangre o las secreciones de una persona HBsAg positiva.

En los países donde la vacunación contra el VHB aún no es general, se recomienda siempre que sea posible en los recién nacidos y para grupos que están en alto riesgo de adquirir la infección. Los grupos en riesgo lo constituyen los individuos que requieren transfusiones repetidas de sangre o de sus derivados, pacientes que requieren operaciones frecuentes, sujetos con inmunidad deficiente natural o adquirida y en pacientes con enfermedades malignas⁷². Otro grupo en alto riesgo está formado por los trabajadores de salud (médicos, enfermeras, personal de laboratorio, etc.); en alto riesgo de infección también se encuentran los adictos a drogas que se administran intravenosamente, bisexuales y homosexuales.

En el caso del VIH el desarrollo de una vacuna ha sido complicado por diversos factores incluyendo: La variabilidad genómica del virus, debido a que existen diferentes cepas del virus, la falta de buenos modelos de animales, el modo intracelular de la transmisión del VIH, debido a la naturaleza persistente de la infección

y contaminación de la vacuna con proteínas celulares del huésped. Ya que, el 80% de las infecciones por VIH ocurre sexualmente, una buena vacuna debe estimular la inmunidad de la mucosa particularmente del aparato reproductivo. La mayoría de las estrategias para obtener vacunas contra el VIH utilizan la proteína gp120 o su precursor, la gp160, como inmunógeno. Actualmente varios adyuvantes como el lípido A detoxificado, emulsiones de adyuvantes, liposomas, microesferas biodegradables y saponina, han sido evaluados por su habilidad para incrementar las respuestas inmunes en las vacunas contra VIH³².

En los últimos años, varios grupos de investigadores han estado haciendo esfuerzos para desarrollar alguna vacuna contra el VHC. Algunos mediante la inmunización de chimpancés con las proteínas E1 y E2/NS1, y otros generando respuestas específicas celulares y humorales contra core y E2 en ratones mediante inmunizaciones basadas en ADN o con péptidos. Sin embargo, aunque han tenido éxito en generar respuestas inmunes, éstas no han probado satisfactoriamente su efecto protector tales animales. Además, aún está por determinarse la respuesta generada en el humano. Igualmente, debe considerarse los riesgos de la inmunización basadas en ADN en el humano como la posible integración en el genoma humano, la inducción de tolerancia en lugar de inmunidad y la producción equivocada de citocinas^{3, 60}. La vacuna ideal contra el VHC debe inducir títulos altos, de larga duración, sólo crear anticuerpos antienvoltura que reconozcan epitopes conservados, además la vacuna debe inducir una respuesta inmune multiespecífica que incluya tanto linfocitos T citotóxicos como cooperadores⁶⁰.

La naturaleza ubicua del VEB hace difícil el control de la infección. Se está estudiando una vacuna anti-VEB que podría prevenir el linfoma de Burkitt africano y la mononucleosis infecciosa⁶⁷. Lo primero es buscar explotar la principal glicoproteína de envoltura gp340 como inmunógeno, una estrategia basada inicialmente en la observación de que esta glicoproteína es el blanco principal de la respuesta de anticuerpos neutralizantes contra el virus.

LEUCORREDUCCIÓN.

La leucorreducción con filtros de tercera o cuarta generación no elimina el riesgo de adquirir por transfusión la infección de hepatitis B, hepatitis C o virus de inmunodeficiencia humana (VIH) que resulta de infusión directa de virus infeccioso de donador a receptor. La leucorreducción puede, sin embargo, tener un efecto significativo en el riesgo de transmisión de virus asociados a células como ya se indicó la infección por

citomegalovirus (CMV) pero además virus linfotrópico humano (VLTH I/II) y virus de Epstein-Barr, así como herpesvirus menos estudiados: herpesvirus humano 6, 7 y 8 (HHV-6, HHV-7, HHV-8)^{9, 67, 80, 94}.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre ha sugerido que la eliminación de leucocitos con filtros de alta eficiencia sea de 5×10^6 leucocitos por componente o menos^{55, 80, 94}. La leucodepleción debe realizarse dentro de las 48 horas después de la recolección de la unidad donada, se debe a que los leucocitos son eliminados antes de liberar citocinas como interleucinas 1 y 6 y factor de necrosis tumoral.

Los filtros sanguíneos se han desarrollado en tres fases o generaciones. Los filtros de primera generación tienen un tamizado de 170-240 μm . La segunda generación son filtros de 40 μm fueron designados para remover micro agregados de fibrina, plaquetas y leucocitos de concentrados eritrocitarios. Los filtros de tercera generación fueron designados especialmente para eliminar leucocitos libres²⁰.

El contenido aproximado de leucocitos en diferentes componentes sanguíneos celulares se muestra en la siguiente tabla:

CONTENIDO APROXIMADO DE LEUCOCITOS EN DIFERENTES COMPONENTES SANGUÍNEOS CELULARES⁸⁰

	No modificado	Después del filtro de tercera generación
Sangre Total	10^9	$< 10^6 - 10^7$
Concentrado eritrocitario (C.E.)	5×10^8	$< 10^6 - 10^7$
Concentrado plaquetario (50ml)	5×10^7	10^6 por pool
Concentrado plaquetario por aferesis	$10^6 - 10^8$	$10^6 - < 10^8$

En agosto de 1999 las autoridades estadounidenses y canadienses solicitaron a los centros de hematología y bancos de sangre, como medida precautoria para disminuir el riesgo hipotético de transmisión de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob a personas que reciben hemoderivados, que descartaran a posibles donantes de sangre que hubiesen permanecido durante seis meses acumulativos o más, entre el 1º de enero de 1980 y el 31 de diciembre de 1996, en el Reino Unido (Inglaterra, Escocia, Gales, Irlanda del Norte); en los Estados Unidos incluye a los donantes que recibieron insulina bovina no aprobada por ese país u otros productos inyectables elaborados de ganado vacuno en países con EEB endémica^{21, 25}.

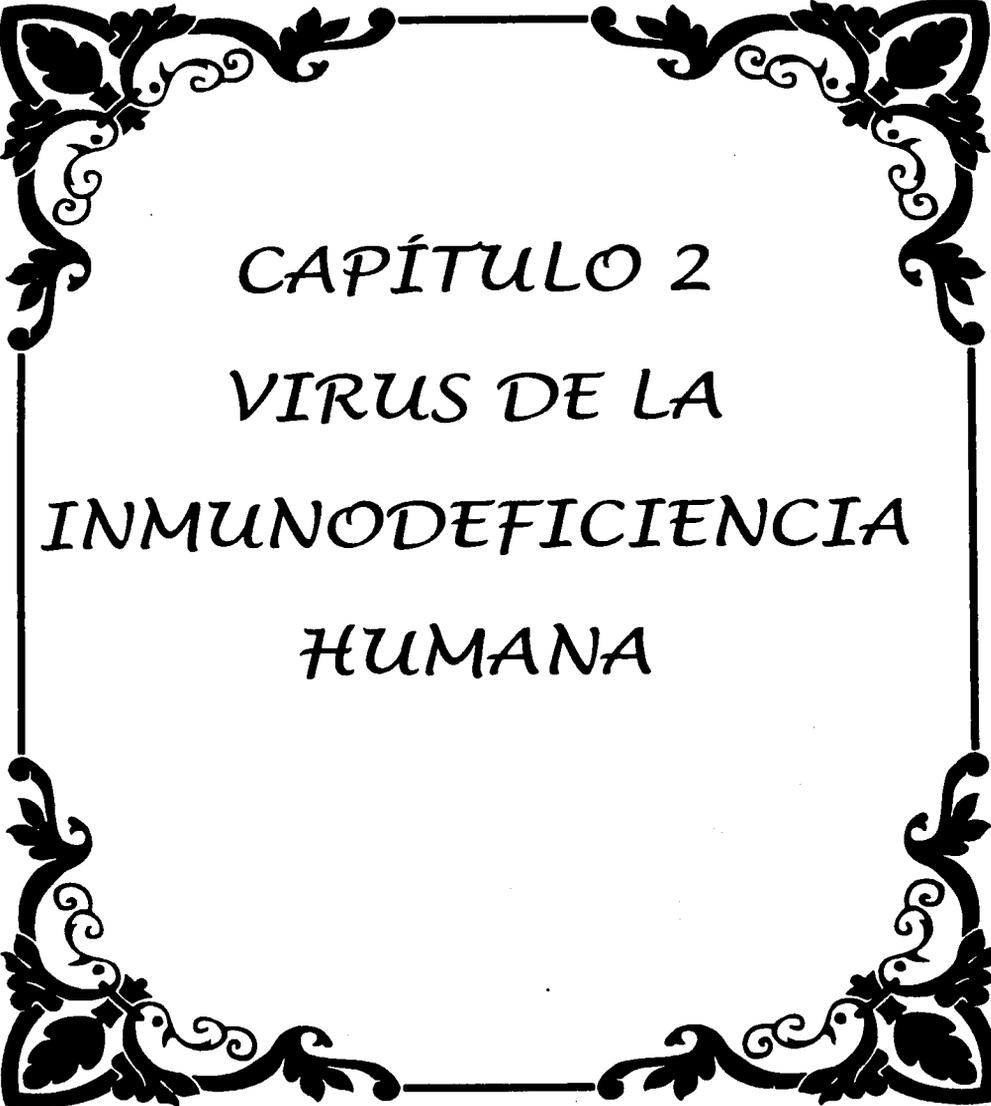
Se piensa que el agente de la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (nvECJ) puede tener un alto grado de asociación con las células blancas. Por ello aunado a lo anterior, la mayor parte de los gobiernos europeos están adoptando, como medida preventiva, el uso generalizado de componentes sanguíneos leucorreducidos para disminuir el riesgo de transmisión²⁵.

MÉTODOS DE INACTIVACIÓN.

Por otra parte, la inactivación del virus promete ser un método de aseguramiento viral en las transfusiones sanguíneas. Estudios realizados con el sistema de fotosensibilización con azul de metileno inactiva un amplio espectro de virus con envoltura, incluyendo el VIH, el mecanismo de inactivación involucra principalmente daño al genoma viral¹.

Además, el tratamiento del plasma con solvente tri (n-butil) fosfato y el detergente Triton-X 100, además calentamiento con vapor, pasteurización, inactivan virus con envoltura lipídica tales como VIH, VHB y VHC⁸⁶. Debido a que el Parvovirus B19 es un virus sin envoltura lipídica, no es posible eliminar el virus por los métodos actuales de inactivación viral^{47, 51, 67}. Aún puede ser transmitido a pacientes con hemofilia quienes reciben concentrados de factores de coagulación, por ello se está investigando la manera de inactivarlo, se ha visto que la radiación con UV podría ser un eficiente método⁹¹, también la ultrafiltración a través de membranas con poros pequeños que retengan el virus⁸⁶.

De tal manera, con los datos obtenidos en la historia clínica, la exploración física y los datos previos de laboratorio, de primera instancia valores de hemoglobina, hematocrito, plaquetas, leucocitos; el médico decide si se acepta a la persona como donador y este paso se puede considerar el primer punto para descartar donadores de alto riesgo.

A decorative border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 2
VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA
HUMANA

2.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH-1), aislado por primera vez en 1981⁹³, es el principal agente etiológico del SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida), anteriormente el VIH-1 según el Instituto Nacional de Salud, se conocía como, Virus Linfotrópico de célula T Humana tipo III (HTLV-III) y, de acuerdo al Instituto Pasteur, Virus Asociado con Linfadenopatía (LAV). En 1986, en ciertas áreas de África Occidental se descubrió otro virus, el VIH-2⁹². El VIH-2 parece provocar las mismas enfermedades que el VIH-1, pero podría ser menos patógeno.

El VIH-1 es un retrovirus perteneciente a la familia de los lentivirus. La partícula viral del VIH llamada virión es el elemento infectante que se libera y transmite de un individuo a otro. Los lentivirus son virus ARN con envoltura, aproximadamente esférico, con un diámetro que mide 100-120 nm. El VIH posee ARN pero no ADN, por tanto utiliza los mecanismos de las células del huésped para convertir su ARN en ADN y poder así replicarse o integrarse a ese ADN. El ARN viral se concentra en un centro cilíndrico junto con dos proteínas estructurales asociadas y una enzima importante, la ADN polimerasa dependiente del ARN o transcriptasa reversa, esta enzima se encuentra en todos los retrovirus y es necesaria para la transformación e integración del ARN viral en ADN. Varias proteínas del huésped son incorporadas dentro de la bicapa lipídica de la envoltura viral. La envoltura contiene glucoproteínas víricas y es adquirida por gemación a través de la membrana plasmática. El virión del VIH consiste de un núcleo que contiene:

- ❖ Dos cadenas idénticas de RNA genómico.
- ❖ Proteína p7/p9 de la nucleocápside.
- ❖ Proteína principal de la cápside, p24.
- ❖ Tres enzimas virales: Proteasa, Transcriptasa reversa e Integrasa.

El núcleo viral está rodeado por una matriz proteica llamada p17, que se encuentra bajo la envoltura del virión y es a la que se fijan las proteínas que se proyectan desde la superficie de la partícula viral. Sobre esta envoltura viral se encuentran dos glucoproteínas virales, gp 120 y gp41, esenciales para que el VIH infecte las células⁹³. Estas gp41 se unen a la matriz p17 y las gp120 de la envoltura. Las proteínas del VIH-2 son gp 110/130 y gp36. En la figura 1 se esquematiza el virión del VIH-1, en el cual se puede observar que la partícula viral está cubierta por una bicapa lipídica derivada de la célula huésped.

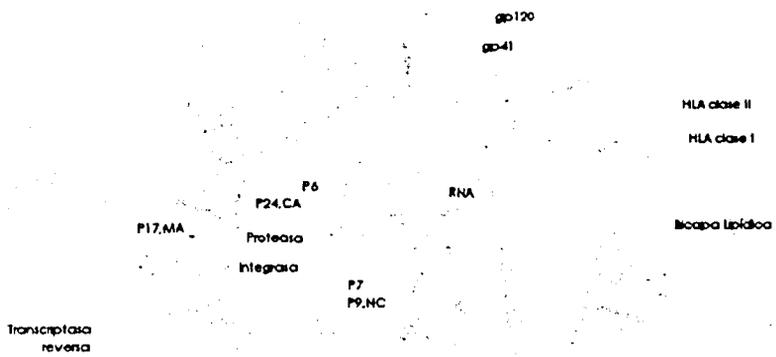


Figura 1. Esquema del virión VIH-1

En la figura 2 se muestra el genoma proviral del VIH, en la cual se ilustran varios genes del virus con sus funciones correspondientes.

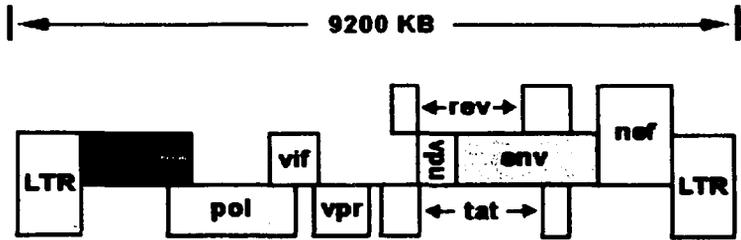


Figura 2. Genoma proviral del VIH

Gen	Funciones principales ^{32, 78}
LTR	Lugares de unión para los factores de transcripción del huésped.
gag	Codifica para las proteínas del núcleo: p24 de la cápside, proteína p17 de la matriz, proteína p7/p9 de la nucleocápside.
pol	Codifica para las enzimas: transcriptasa inversa, proteasa, integrasa y ribonucleasa.
env	Codifica para las proteínas de la envoltura: glucoproteínas gp120 y gp41.
tat	Transactivador potente de la transcripción viral.
rev	Regulador de la expresión génica estructural.
vif	Necesario para la maduración de los viriones del VIH. Estimula la infectividad del virus extracelular.
vpr	Necesario para la replicación viral en las células que no se están dividiendo y aumenta la replicación del virus, provocando una parada del ciclo celular en G ₂ .
vpu	Necesario para la gemación eficiente de viriones.
nef	Esencial para que la replicación sea eficaz.

2.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

Los estudios epidemiológicos efectuados en Estados Unidos permitieron identificar grupos de adultos con riesgo^{36, 83} de desarrollar el SIDA o transmitir el Virus de la Inmunodeficiencia Humana:

- ✓ Los varones homosexuales o bisexuales constituyen más del 60% de los casos de SIDA en Estados Unidos. Por lo tanto, la transmisión sexual es la forma predominante de infección, siendo responsable de alrededor del 75-80% de todos los casos del VIH.
- ✓ Transmisión parenteral del VIH. Drogadictos por vía intravenosa sin antecedentes de homosexualidad, representan alrededor del 25% de todos los casos. Se presenta cuando se comparten jeringas, agujas y otros objetos contaminados con sangre infectada.
- ✓ Los hemofílicos, principalmente los que recibieron concentrado de factor VIII antes de 1985, representan el 0.8% de todos los casos.

- ✓ Los receptores de sangre y hemoderivados no hemofílicos que recibieron transfusiones de sangre completa o de hemoderivados infectados por el VIH, representan el 1.2% de los pacientes.
- ✓ Los contactos heterosexuales constituyen el 10% de la población.
- ✓ Por trasplantes de órganos y tejidos contaminados⁶¹
- ✓ La transmisión de la madre al hijo es la causa más importante de SIDA pediátrico. Este tipo de transmisión se puede dar por tres probables vías:
 - Dentro del útero, mediante propagación trasplacentaria.
 - Durante el parto, a través del canal del parto infectado.
 - Por ingestión de la leche materna.

La transmisión del VIH ocurre en condiciones que facilitan el intercambio de sangre o de líquidos orgánicos que contienen el virus o células infectadas. Actualmente se asume que los fluidos corporales tales como sangre, semen, secreciones vaginales y leche materna son más eficientes en transmitir el virus que fluidos deficientes en células como saliva, orina y lágrimas⁶⁴.

Estudios extensos indican que la infección del VIH no puede transmitirse por contacto casual en casa, trabajo o escuela ni tampoco por la picadura de insectos. En relación con la transmisión de la infección a trabajadores de la salud, se ha visto que existe un riesgo extremadamente pequeño, siendo el riesgo de seroconversión de 0.3%⁶⁷.

2.3 FISIOPATOLOGÍA.

La infección por VIH se caracteriza por un estado de replicación viral persistente en los ganglios linfáticos y un deterioro progresivo del sistema inmunológico a expensas de la destrucción de linfocitos CD4⁺ y a la alteración funcional de las células T colaboradoras. También se ha visto que los macrófagos y las células dendríticas son afectados por la infección del VIH, de hecho, probablemente los monocitos y macrófagos constituyen los principales reservorios y medios de distribución del virus. Se piensa que el VIH-1 atraviesa las barreras de las mucosas para infectar células dendríticas o macrófagos. Estas células, entonces, llevan la infección a los ganglios linfáticos y es en este punto donde las células T CD4⁺ comienzan a infectarse⁹³.

En la figura 3 se muestra el ciclo vital del VIH.

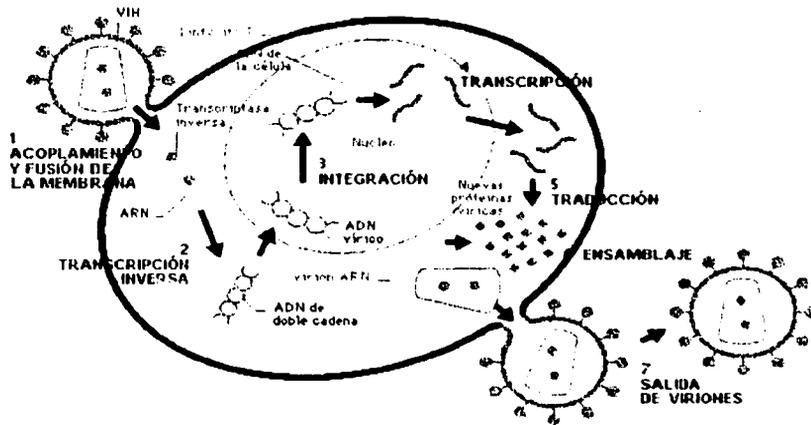


Figura 3. Ciclo vital del VIH

Patogénesis del VIH.

En las primeras fases de la enfermedad, el VIH coloniza los órganos linfoides (bazo, ganglios linfáticos, amígdalas) y es en éstos, y no en la sangre periférica, donde se encuentran los reservorios de células infectadas. Aunque el curso de la infección del VIH-1 puede variar ampliamente de paciente a paciente, se estima que aproximadamente el 95% de los pacientes infectados desarrollaran progresivamente SIDA dentro de los 15 años de la infección.

Clinicamente, en la infección por VIH se pueden reconocer tres fases que reflejan la dinámica de la interacción entre el virus y el huésped⁸³:

FASE	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS
Fase aguda inicial o también llamada infección primaria del VIH-1	Se caracteriza por niveles altos de viremia, la cual se desarrolla dentro de los 10 días a 3 semanas después de la exposición al virus, además de una caída significativa en el número total de células T CD4 ⁺ en la sangre periférica. Del 50 al 90% de los pacientes desarrollan, dentro de la tercera a sexta semana de la infección primaria, una mononucleosis infecciosa aguda ó síndrome parecido a una gripa ⁶⁴ . Los síntomas son inespecíficos y consisten en malestar de garganta, mialgias, fiebre, pérdida de peso y fatiga. Después de la infección primaria hay un período de latencia durante el cual el paciente puede aún ser seronegativo y puede ser altamente infeccioso. Finalmente se convierte en seropositivo dentro de la 3 a 12 semana después de la infección primaria ⁶⁷ .
Fase crónica intermedia o periodo de latencia clínica	<p>Puede durar por varios años (más de 12 años en algunos pacientes)⁶⁴. Esta segunda fase de la infección es un período largo asintomático entre la infección primaria y el desarrollo de la inmunodeficiencia clínica, denominado SIDA⁶. Hay dos características patofisiológicas relacionadas en la fase asintomática:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Replicación viral progresiva en los tejidos linfoides periféricos ❖ Deterioro gradual de la respuesta inmune, lo que conduce a una pérdida continua de células T CD4⁺
Fase de crisis final	<p>Se caracteriza por el hundimiento de las defensas, un aumento espectacular del número de virus en el plasma y el desarrollo de la enfermedad clínica. Lo típico es que los pacientes tengan fiebre persistente (> 1 mes), fatiga, pérdida de peso y diarrea⁶⁴, caquexia, demencia⁶⁴; tras un intervalo variable, se producen graves infecciones oportunistas, neoplasias secundarias o una enfermedad neurológica clínica. En ausencia de tratamiento, la mayoría de los pacientes con infección por el VIH progresan hacia el SIDA tras una fase crónica de 7 a 10 años de duración^{43, 63, 67}. Antes de presentarse propiamente el SIDA, el paciente desarrolla lo que se ha llamado Complejo relacionado con SIDA (CRS) en esta etapa el número de células T CD4⁺ es inferior a 500/μL.</p> <p>Entre los microorganismos patógenos frecuentes en los pacientes se encuentran: <i>Pneumocystis carinii</i>, la neumonía causada por este hongo constituye la manifestación inicial en alrededor del 20% de los casos, mientras que el 50% de los pacientes con SIDA la sufren en algún momento de la evolución de su enfermedad, Candidiasis esofágica., Citomegalovirus, <i>Cryptococcus neoformans</i>, <i>Cryptosporidium</i>, <i>Isospora belli</i> o microsporidiosis, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, infección por papovavirus del encéfalo, infección por herpes simple, Septicemia por <i>Salmonella</i>, Toxoplasmosis.</p>

Además, los pacientes presentan una alta incidencia de determinados tumores, tales como Sarcoma de Kaposi, linfoma no Hodgkin y carcinoma de cuello uterino en la mujer.

⁶ SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) es la fase final por VIH en la cual el paciente desarrolla múltiples infecciones oportunistas con neoplasias que definen la enfermedad.

2.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

Durante la progresión de la infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) a Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) se observan cambios en diferentes parámetros cuantificables en el laboratorio.

En la fase inicial, cuando se presenta el período de ventana^F, los anticuerpos contra VIH aún no son detectables. Debido a que inmediatamente después de la infección la prueba de anticuerpos contra VIH es negativa, pero el paciente puede ser infectante, se debe reportar una historia clínica veraz y confiable de lo contrario el riesgo de adquirir VIH por transfusión sanguínea es alta. Productos virales incluyendo antígeno p24 y RNA viral pueden ser determinados en sangre dentro de las primeras semanas después de la infección. La presencia de antigenemia p24 indica virus en replicación. Se presenta una disminución de la relación CD4: CD8. Es importante mencionar que la magnitud de la viremia, medida como RNA del VIH-1, es el mejor indicador de la progresión de la enfermedad y tiene un gran valor clínico para el tratamiento de los pacientes con infección por el VIH.

Los niveles de células T CD4+ pueden incrementarse pero finalmente en esta etapa se consideran dentro de los niveles normales.

Durante la segunda fase de la infección, el paciente es seropositivo para los anticuerpos contra VIH. Los productos virales esporádicamente se encuentran en la sangre periférica. Sin embargo, durante este periodo el RNA VIH se puede detectar por amplificación del ácido nucleico (PCR), pero se estima que su duración es sólo de 3 a 5 días⁶⁴, se presenta virus integrado en un <0.01% de las células T CD4+ en sangre periférica y ganglios linfáticos; no así el antígeno p24 que no es posible detectar. Los niveles de células T CD4+ son variables pero generalmente van disminuyendo.

El período de incubación para el reconocimiento de SIDA clínico tiene una duración media de 8 a 10 años en los adultos, más corta es por transfusión (menos de 5 años) y más corta aún en niños (2 años). En esta fase, la cantidad de células T CD4 positivas es menos de 200. Conforme la infección progresa, los productos virales se pueden cuantificar. Una vez que el antígeno p24 es detectado, más de 10,000 copias de RNA se detectan consistentemente¹⁵. Niveles bajos de p24 están asociados con un pronóstico desfavorable³³.

^F El período de ventana es de aproximadamente 22 a 25 días después de la infección inicial antes de que la seroconversión pueda ser detectable.

La relación normal de las células T CD4/CD8, la cual es cercana a 1.9, en la etapa final del SIDA tiene valores menores a 0.9 incluso algunos pacientes presentan valores cerca de 0. En contraste, el valor de las células B es normal⁶⁴. Además, reportes en SIDA muestran que los niveles de IgG e IgA en suero son elevados³³. El curso cronológico de la infección por VIH se muestra en el diagrama 1.

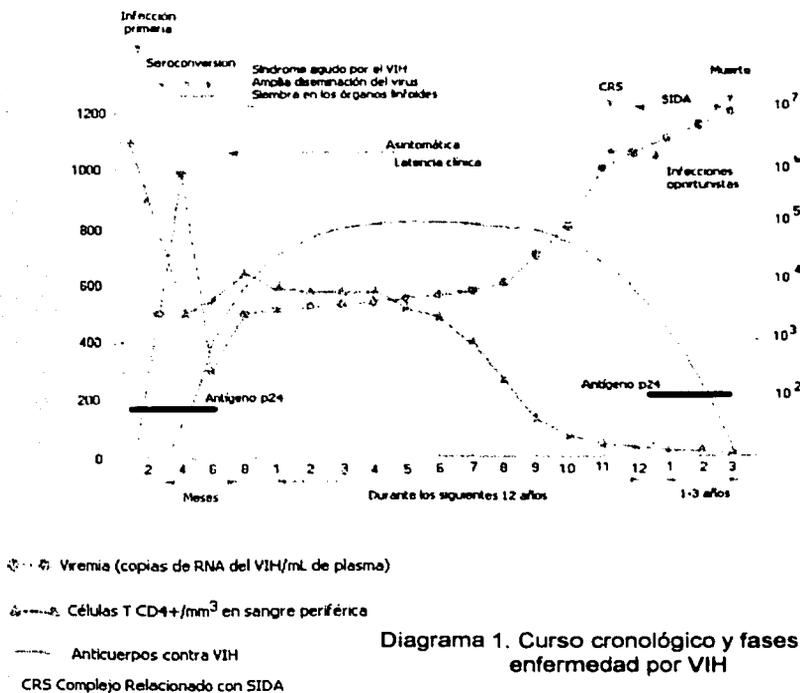


Diagrama 1. Curso cronológico y fases de la enfermedad por VIH

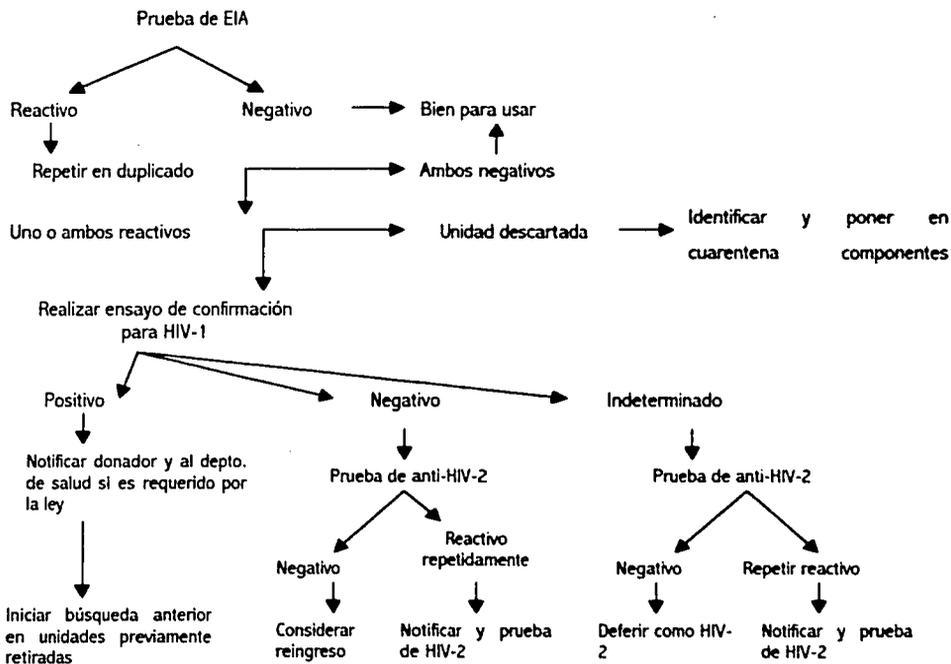


Fig.4 Árbol de decisión para el escrutinio VIH-1/VIH-2 en donadores sanguíneos⁹⁴

2.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN

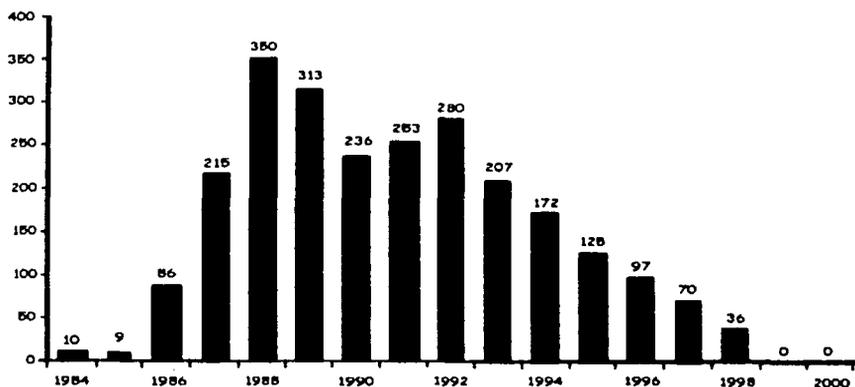
PREVALENCIA

Considerando el número total de casos reportados, México ocupa el tercer lugar en el continente americano, después de Estados Unidos y Brasil; sin embargo, considerando la tasa de incidencia anual, se ubica en el decimocuarto sitio entre el continente americano y el sitio setenta y dos a nivel mundial. En el ámbito de prevalencia del VIH en población adulta de 15 a 44 años de edad, México registra una cifra relativamente baja del 0.29%⁷⁴.

CASOS POR TRANSFUSIÓN

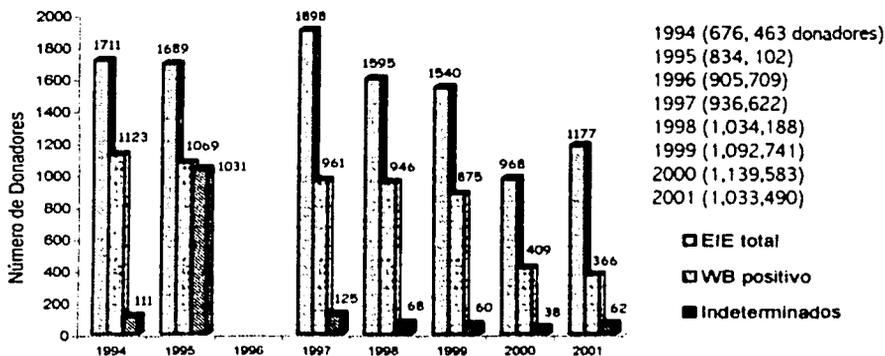
En México, existen disposiciones legales desde 1986, cuando se emitió la Norma en la que se exigía el estudio del VIH en toda sangre transfundida. En 1987 se modificó la Ley General de Salud prohibiendo el comercio de la sangre, esto como consecuencia de un estudio realizado en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea en los proveedores retribuidos de sangre, demostró que el 7.2% estaban infectados por el VIH, a partir de entonces se ha incrementado la donación altruista y familiar; esta información fue proporcionada por el Dr. José Luis Domínguez Torix (Director del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea del año de 1983 a 1989). Además, se han realizado actividades educativas dirigidas a los donadores, con la finalidad de evitar que personas con prácticas de riesgo donen sangre. Como resultado de lo anterior, los casos nuevos de SIDA debidos a transfusión sanguínea y hemoderivados, según fecha de notificación, presentan una notable reducción durante el periodo 1990-2000, al pasar de 14.57% a 0.02%^{76, 88}. Asimismo, los casos de SIDA por transfusión sanguínea y hemoderivados, según fecha de diagnóstico, comenzaron a disminuir a partir de 1988, hasta que en 1999 y el año 2000 no se han presentado casos relacionados con esta forma de transmisión⁷².

**Casos de SIDA por transfusión sanguínea,
según fecha de diagnóstico**
Datos al 30 de junio del 2000

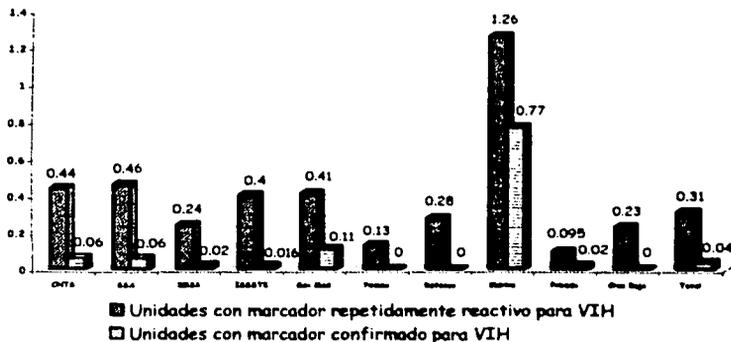


Puente: Registro Nacional de Casos de SIDA

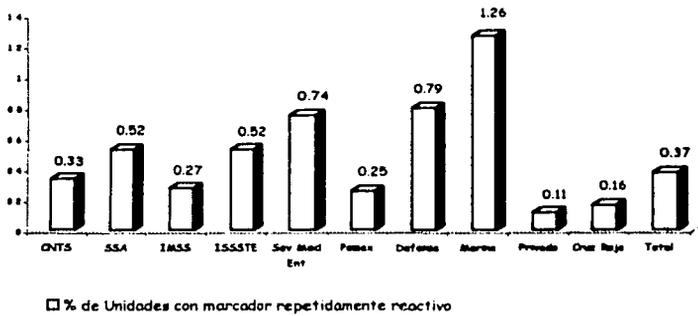
Gráfica 1. Virus de la Inmunodeficiencia Humana en muestras de donadores durante 1994-2001 a nivel nacional



Gráfica 2. % de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 2000 para VIH



Gráfica 3. % de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 1999 para VIH



Fuente: Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea

A decorative border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 3
HEPATITIS VIRAL
TIPO B

3.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

La hepatitis infecciosa, se conoce desde la más remota antigüedad y fue Hipócrates quien realizó la primera descripción hace más de 2000 años. El término de hepatitis viral se refiere a una infección primaria del hígado causada por una serie de virus, entre los cuales destacan el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC), el virus de la hepatitis D (VHD), el virus de la hepatitis E (VHE), así como citomegalovirus (CMV), virus de la rubéola, Coxsackie y otros más⁹⁴.

El virus de la hepatitis B, se identificó por primera vez en 1835, es el principal miembro de la familia Hepadnaviridae, es un virus de doble cadena de ADN con envoltura, hepatotrópico, no citopatogénico; que causa una enfermedad en el hígado aguda o crónica y carcinoma hepatocelular. El virión maduro, llamado también <partícula Dane>, es esférico de doble capa de aproximadamente 42nm de diámetro; compuesto por una superficie externa formada por proteínas, lípidos y carbohidratos, que rodea a un núcleo ligeramente hexagonal^{21, 22, 23, 32, 83, 98}.

En el centro del virión del VHB se ubica el núcleo, de 27nm de diámetro que contiene el ácido nucleico viral y la enzima ADN polimerasa con actividad de transcriptasa inversa, esencial para la replicación viral y una proteincinasa rodeada por el antígeno del núcleo o core (HBcAg). El antígeno proteico e (HBeAg) es un componente menor del virión, ambos circulan en la sangre de pacientes con replicación activa. La cubierta externa incluye el antígeno de superficie glucoproteico del virus de la hepatitis B (HBsAg)^{22, 29, 83}.

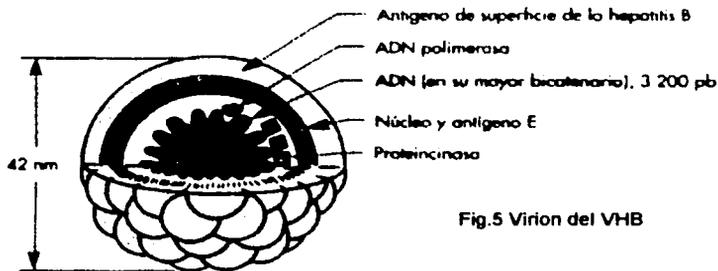


Fig.5 Virion del VHB

El genoma del VHB es una molécula de DNA circular de doble cadena, que contiene aproximadamente 3200 nucleótidos, se han identificado 4 regiones que abarcan las secuencias de genes que codifican 7 proteínas estructurales del virus ^{22, 23}. El genoma del VHB hace uso de mecanismos especiales para realizar la traducción y transcripción de 4 genes: S, C, P y X; mientras que la transcripción ocurre en el núcleo, la replicación del genoma se lleva a cabo en el citoplasma. La replicación ocurre por una sola vía que involucra la transcripción inversa⁹⁰.

Todas las regiones del genoma codifican secuencias proteicas⁷⁰:

- El gen S, la región pre-S₁ y pre-S₂, codifican para 3 antígenos: grande, mediano y pequeño del antígeno de superficie (HBsAg).
- El gen C y la región pre-C, codifican para 2 productos: una proteína central o core de la nucleocápside (HBcAg, antígeno central de la hepatitis B) y un polipéptido más largo que se transcribe con una región prenuclear y otra nuclear, al que se le denomina HBeAg (Antígeno e de la hepatitis).
- El gen X, es una proteína de 154 aminoácidos, necesaria para la replicación del virus y que actúa como transactivador de la transcripción de los genes virales. Se cree que este gen desempeña un papel esencial en el desarrollo del carcinoma hepatocelular.
- El gen P, codifica la ADN polimerasa, enzima que repara el ADN y tiene actividad de transcripción inversa, con replicación genómica que ocurre a través de un molde intermedio de ARN ^{22, 23}.

En la figura 6 se muestra el genoma del Virus de la Hepatitis B³².

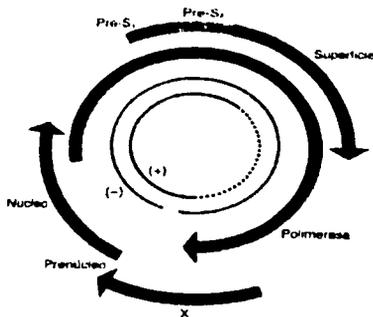


Fig.6 Genoma del VHB

3.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

En Estados Unidos se infectan más de 300,000 personas al año por VHB, se calcula que la cifra de portadores asciende a 300 millones en todo el mundo⁹⁸.

El VHB está presente en títulos elevados en la sangre y en los exudados de los pacientes con infección aguda o crónica. Otros líquidos corporales que no contienen sangre o suero, como la materia fecal o la orina, no son fuente de HBV²¹.

Existen 3 formas principales de transmisión^{21, 23}:

1. Percutánea:

- Uso de drogas endovenosas, jeringas o instrumentos punzantes contaminados, acupuntura, tatuajes
- Exposición a sangre o a líquidos corporales entre los trabajadores de Salud.
- Transfusiones sanguíneas
- Los pacientes renales, por su manejo requerido, y el personal de salud de las áreas de diálisis y hemodiálisis tienen mayor probabilidad de inoculación accidental²³.

2. Sexual.

Las personas que tienen relaciones heterosexuales con múltiples contactos, los varones con actividad homosexual, los contactos domiciliarios y los compañeros sexuales de individuos infectados por el VHB presentan un alto riesgo de transmitir el virus²¹.

3. Vertical.

Contagio neonatal o perinatal causado por las secreciones vaginales. El riesgo de transmisión vertical de una madre portadora de HBsAg es del 5%, sin embargo puede incrementar hasta un 50% ante la coinfección con HIV y la alta viremia materna. Más del 90% de los niños infectados por contagio neonatal desarrollan hepatitis crónica²².

El riesgo laboral incluye al personal médico y dental, al personal de laboratorio y de apoyo, a los empleados del servicio público que tienen contacto con sangre y al personal de instituciones para débiles mentales⁹⁸.

3.3 FISIOPATOLOGÍA.

El virus exhibe tropismo muy definido por el hígado. La unión del VHB a los hepatocitos está mediada por las glucoproteínas del HBsAg. No se conocen el receptor real ni el mecanismo de entrada²³. Sin embargo, el HBsAg se une a la albúmina sérica humana polimerizada y a otras proteínas séricas, y esa interacción puede dirigir el virus hacia el hígado.

Tras la exposición al VHB, hay un largo período de incubación asintomático de 4 a 26 semanas o 45-160 días (6 a 8 semanas o 120 días como promedio)^{32, 83}. El virus se replica masivamente en el hígado después de un periodo silencioso que puede durar hasta 7 meses. Durante este lapso no se comprueban síntomas, pero podrían detectarse virus en el torrente sanguíneo.

Se piensa que el virión ataca al hepatocito por medio de una proteína pre-S1 y penetra por endocitosis mediante receptores, enseguida remueve la envoltura y el genoma viral es liberado. Es probable que el virión sea liberado desde el hepatocito mediante exocitosis, y no por lisis celular²³.

Clinicamente el VHB puede causar hepatitis aguda o crónica, sintomática o no. Estas distintas posibilidades parecen depender de la respuesta inmune del paciente frente a la infección. Después de un largo periodo de incubación (6-20 semanas), el curso de la hepatitis viral aguda es convencionalmente dividida en 3 fases ^{70, 83}: Fase preictérica (Prodromos), Fase icterica, Fase de convalecencia.

En el 10-20% de los pacientes con infección VHB, ésta no resuelve y se convierte en crónica. De tal manera, se ha calculado que de 15 a 25% de las personas con infección crónica por el VHB morirán prematuramente por cirrosis o carcinoma hepatocelular²¹.

3.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

En banco de sangre todas las unidades obtenidas tienen que ser negativas para pruebas capaces de detectar 1 ng/mL o menos (0.1 a 0.2 ng/mL) de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) ó aproximadamente 3×10^7 partículas⁹⁴.

Existen 6 marcadores, todos encontrados en el suero, de particular importancia clínica²⁰: HBsAg (Antígeno de superficie de hepatitis B), ADN HBV, HBeAg, anticuerpo anti HBsAg, Antígeno y anticuerpos centrales (HBcAg y anti-HBc), Antígeno y anticuerpo e (HBeAg y anti-HBe).

Estudios publicados en 1963 por Baruch S. Blumberg y colaboradores describieron un antígeno en la sangre de aborígenes Australianos que fue llamado más tarde HBsAg^{32, 48}. Después de la infección, el primer marcador que aparece de los antes mencionados es el HBsAg, al mes o tres meses después de la exposición, éste se considera el marcador ideal para la infección por VHB en banco de sangre²⁸; declina hasta llegar a niveles no detectables en un intervalo de 3 a 6 meses⁹⁶. El anticuerpo contra el AgHBs (anti-HBs) no suele detectarse inmediatamente después de la desaparición del AgHBs, sino semanas más tarde, de modo que existe un periodo después de la resolución de una hepatitis B durante el cual no se detecta ninguno de los 2 marcadores, dicho periodo se determina periodo de ventana; en esta etapa la infección se establece mejor por medición de la IgM anti-HBc. En algunos individuos pueden persistir por toda la vida el anti-HBs, confiriendo protección frente a la enfermedad, lo que constituye la base de las actuales estrategias de vacunación, para las que se utiliza HBsAg no infeccioso⁸³.

El Anti-HBc es un anticuerpo para la porción interior o central del antígeno de la hepatitis B. Este anticuerpo generalmente aparece después de que el HBsAg es detectado, pero antes del comienzo de los síntomas de la hepatitis. No existe prueba confirmatoria específica para anti-HBc.

Durante el periodo de incubación, aparecen en la sangre: HBsAg, HBeAg, ADN del VHB y actividad ADN polimerasa. Los títulos de estos marcadores víricos aumentan progresivamente hasta la aparición de los síntomas y la elevación de las transaminasas, para luego decaer.^F

^F Nunca se detecta AgHBc libre en suero, ya que está cubierto por la envoltura de AgHBs.

Si la infección sigue un curso favorable hacia la curación, el AgHBe, el ADN del VHB y la ADN polimerasa, se encuentran en el suero previo a los síntomas y se vuelven indetectables semanas antes que desaparezca el AgHBs.

La presencia de HBeAg se relaciona con la replicación viral y una alta infectividad⁹⁸. El anti HBe puede detectarse poco después de que desaparezca el HBeAg, lo que implica que la infección aguda ha alcanzado su grado máximo y que la enfermedad va a comenzar a ceder⁹⁸.

Simultáneamente con la presentación de los primeros síntomas aparecen en la sangre anticuerpos contra el AgHBc (anti-HBc) de clase IgM (persisten 3-12 meses) e IgG (persisten durante toda la vida)⁹⁴. La sensibilidad de la determinación de anticuerpos IgM anti-HBc permite discernir entre infección aguda y crónica. Títulos bajos de IgM anti-HBc pueden ser un indicador de replicación viral, así como el reflejo de la reactividad inmune a la producción constante de HBcAg⁹⁸.

MARCADORES SEROLÓGICOS DE LA INFECCIÓN POR HEPATITIS B ^{29,94}

Marcador	Periodo de Incubación	Infección			Inmunización Pasiva	Estado de portador
		Aguda	Pasiva	Crónica		
HBsAg	+	+	-	+	-	++
Anti-HBs	-	-	+	-	+	-
Total anti-HBc	-	+	+	+	-	+
IgM anti-HBc	-	++	-	+	-	+
HBe Ag	+	+	-	+/-	-	-
Anti-HBe	-	-	+	+/-	-	+
ADN viral	+	+	+/-	+	-	+

a. Persiste por más de 6 meses

b. Títulos bajos

c. Muy bajo

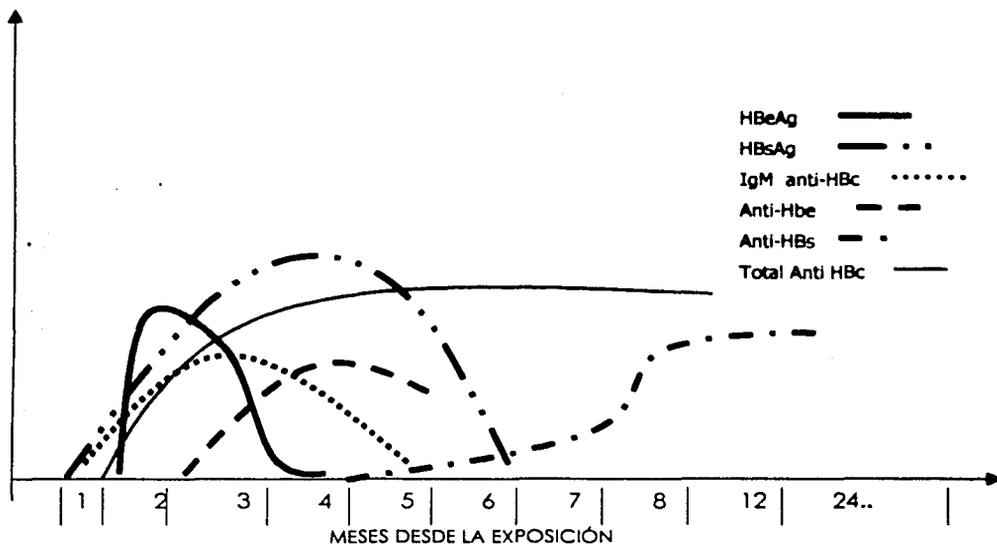


Diagrama 2. Curso cronológico de marcadores serológicos por la infección aguda del Virus de la Hepatitis B⁹⁴

Se define como portador a aquella persona que es positiva para el HBsAg en por lo menos dos determinaciones (por lo menos con 6 meses de diferencia) o bien, que es positiva para el HBsAg y no tiene anticuerpos IgM anti-HBc cuando se hace la determinación en una sola muestra⁹⁶.

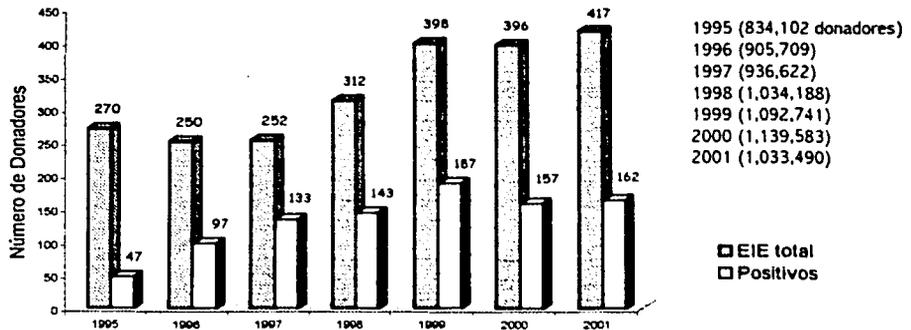
3.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN.

La transmisión de la infección por transfusión sanguínea o productos sanguíneos es rara en virtud de la búsqueda rutinaria de HBsAg durante los procesos de selección de donadores⁹⁸. El riesgo de transmisión del VHB por transfusión de sangre en México ha sido actualmente controlado⁹⁸.

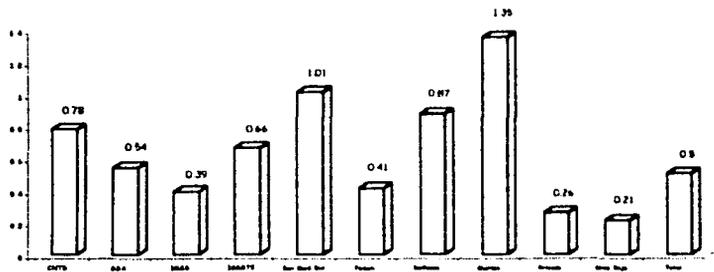
En Estados Unidos el riesgo de adquirir hepatitis B por transfusión se ha estimado 1 en 200,000 unidades transfundidas. En México se ha detectado una prevalencia de 0.25 a 0.64%, debido a que la detección de

hepatitis B es obligatoria en donadores de sangre, esto ha significado la exclusión de 2,500 a 3,000 unidades de sangre potencialmente contaminada por año ⁴, ⁶⁰. Tal como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud, para lograr abatir efectivamente la transmisión del VHB de manera global, se deberá incluir la vacuna contra la hepatitis B en los esquemas de vacunación universal en la infancia, o alternativamente efectuar detección de HBsAg en todas las embarazadas inmunizando a los hijos de las portadoras del VHB⁴⁸.

Gráfica 4. Virus de la Hepatitis B en muestras de donadores 1995-2001 a nivel nacional

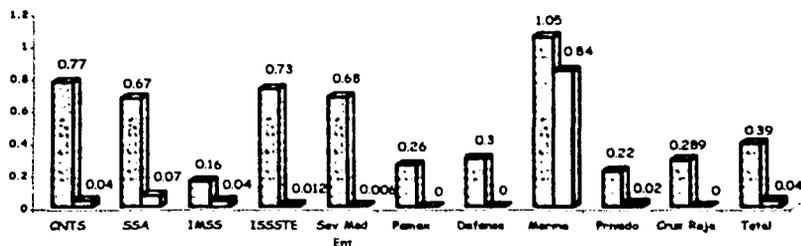


Gráfica 5. % de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 1999 para VHB



□ % de Unidades con marcador repetidamente reactivo

Gráfica 6. % de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 2000 para VHB



□ % de Unidades con marcador repetidamente reactivo

▨ % de Unidades con marcador confirmado

Fuente: Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea

A decorative border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 4
HEPATITIS VIRAL
TIPO C

4.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

El virus de la hepatitis C, fue identificado por clonación molecular en 1989, y se fundamentó que es el agente responsable del 90% de los casos de hepatitis C (antes llamada hepatitis NANB) y la causa principal de hepatitis postransfusión. El virus de la hepatitis C es un miembro de la familia Flaviviridae⁶³. Se han detectado cuando menos 6 genotipos HCV con más de 90 subtipos^{29, 39}. En México, la mayoría de las infecciones resulta de los genotipos 1a, 1b, 2b, 2a/2c y 3a, siendo el genotipo 1b el responsable de más de la mitad de las infecciones³. Es un virus pequeño de 30 a 60 nm. De una sola cadena de ARN positivo, con una envoltura lipídica. El virion contiene un genoma de 9.5 kilobases⁶⁰. El virus de la hepatitis C puede atravesar filtros de policarbonato con poros de 50nm, posee una cápsula lipídica sensible al cloroformo, se inactiva mediante calentamiento (60°C durante 30 min, 100°C durante 2 min), mediante tratamiento con formalina y exposición a luz ultravioleta³⁷. En la figura 7 se representa el esquema del genoma del virus de la hepatitis C.

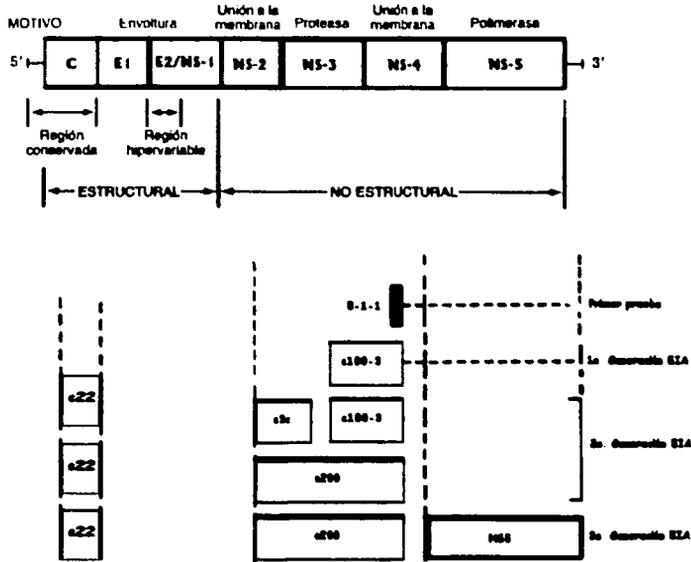


Fig. 7 Genoma del Virus de la Hepatitis C⁶⁰

4.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

La existencia de virus de hepatitis NANB en suero se sospechó por la incidencia de hepatitis después de la transfusión de sangre VHB-negativa. La hepatitis C es endémica en todos los países. En Estados Unidos, cerca de 4 millones de personas están infectados con VHC⁵⁸.

El virus de la hepatitis C se transmite principalmente por vía parenteral. Se ha corroborado que también se transmite por contacto sexual, pero es un mecanismo menos eficiente o frecuente que la vía parenteral^{21, 40, 96}. Los adictos a drogas intravenosas, los receptores de transfusiones y los hemofílicos que reciben factores VII o IX experimentan mayor riesgo de infección. Se cree que el VHC es la causa más importante de hepatitis asociada a transfusión, pues sería el responsable del 90-95% de todos los casos. Sin embargo, la infección por virus de la hepatitis C afecta al 5-10% de los receptores de transfusiones (150,000 casos anuales), produce hepatitis crónica en la mitad de ellos y conduce a cirrosis en menos del 20% de los casos agudos. Es decir, se estima un riesgo de transfusión por unidad de 1 en 103,000⁹⁴. La alta incidencia de infecciones asintomáticas crónicas (1% de los donantes de sangre americanos) y la falta de procedimientos de búsqueda favorecen la diseminación del virus a través de la sangre donada. También ocurren casos no relacionados con transfusión⁷⁰.

También los receptores de trasplantes tienen un alto riesgo de adquirir hepatitis C. La transmisión casera y sexual se han demostrado, pero no se ha dilucidado su mecanismo. No se ha identificado RNA de VHC en saliva, semen, orina, heces o secreciones vaginales⁹⁸.

4.3 FISIOPATOLOGÍA.

De la patogénesis del virus de la hepatitis C aún se desconocen muchos aspectos. Al parecer el VHC se replica, lo mismo que otros flavivirus por medio de una cadena negativa de RNA intermediaria. Probablemente la entrada del virus a la célula está mediada por ligandos E2 y receptores, por consiguiente la liberación del genoma es en el citoplasma, donde se completa el proceso de replicación⁶⁰. El HCV es inactivado por el calor, y resulta sensible a solventes orgánicos.

El periodo de contagiosidad aún no se ha determinado, mientras que, el periodo de incubación de la hepatitis debida al virus C oscila entre 2 y 26 semanas, con una media de 6 a 12 semanas²¹. El RNA del VHC puede detectarse en la sangre durante 1 a 3 semanas. El RNA circulante persiste en muchos pacientes pese a la presencia de anticuerpos neutralizantes, más del 90% de los que sufren una enfermedad crónica pertenecen a este grupo. Por tanto, la viremia dura 4 a 6 meses para la infección aguda, y más de 10 años para la persistente²⁰. Una infección por el VHC resulta frecuentemente en inflamación hepatocelular progresiva que evoluciona a los eventos culminantes de cirrosis y cáncer hepatocelular. La secuencia clásica incluye hepatitis aguda, hepatitis crónica, cirrosis y cáncer hepatocelular³. Se ha observado que la coinfección con VHB o VIH aumenta el riesgo en la incidencia para desarrollar hepatocarcinoma.

De tal manera, la infección por el virus se caracteriza por síntomas inespecíficos, tales como: mialgias, fatiga, anorexia y malestar general⁹⁸. A diferencia de la hepatitis B, la hepatitis C tiende a la cronicidad en 50% de los pacientes, porcentaje que se incrementa hasta 70% si la transmisión fue por transfusión⁴⁴.

4.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

Durante la infección por el VHC, se detectan anticuerpos contra el antígeno del virus; estos anticuerpos aparecen varias semanas después del inicio de la infección y persisten en todos los pacientes que evolucionan a la cronicidad; mientras que, desaparecen tras un tiempo variable (años) en los casos que curan. Su detección suele interpretarse como evidencia de infección activa.

Después de la infección, el primer marcador que aparece es el RNA VHC, generalmente detectable a la primera o segunda semana después de la exposición al virus. La concentración del ARN VHC incrementa, pero comienza a disminuir con el desarrollo de la respuesta inmunitaria. La duración del ARN VHC positivo antes de la seroconversión es en promedio de 41 días. El número de copias de ARN durante este periodo es sobre 100,000 por mL¹⁵.

El anti-VHC se manifiesta en un promedio de 8-10 semanas después de la exposición. En el diagrama 3 se muestra el curso cronológico de los marcadores serológicos de la infección por VHC.

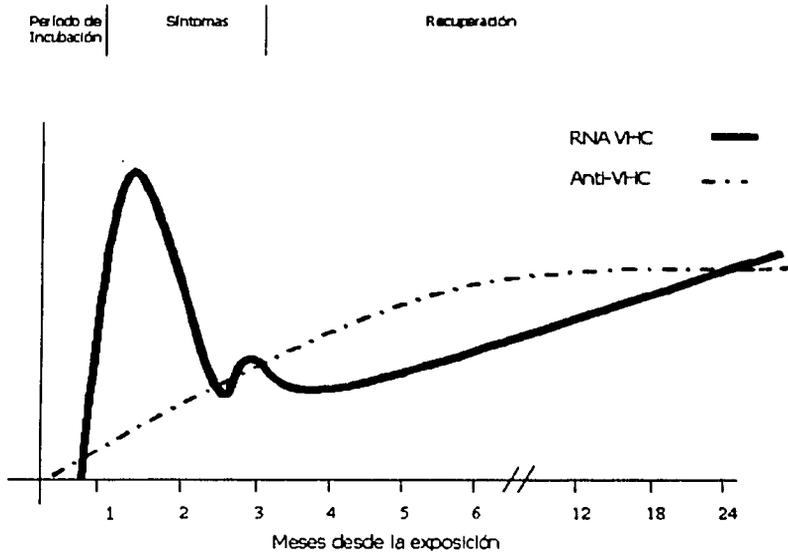


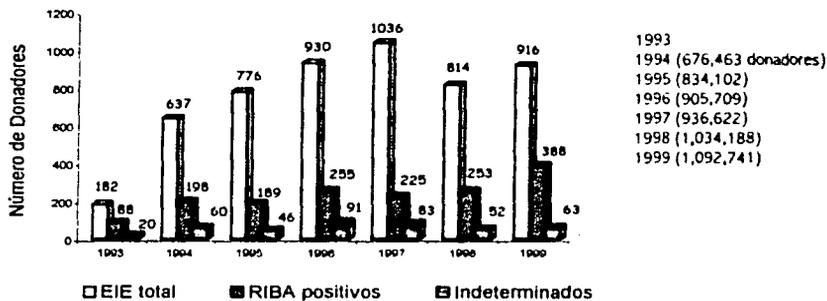
Diagrama 3. Curso cronológico de los marcadores serológicos del Virus de la Hepatitis C

4.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN.

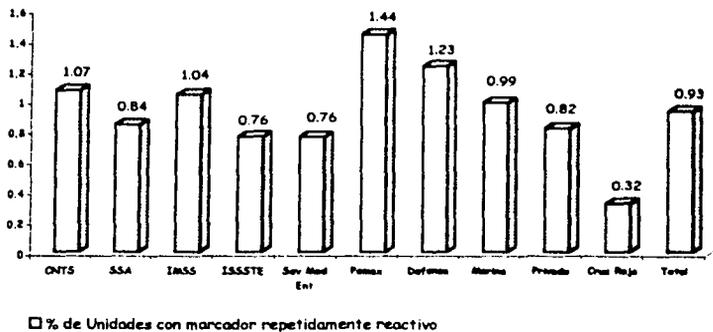
El riesgo de infección postransfusión por VHB o VHC ha disminuido dramáticamente, hoy se estima que el riesgo es de 1 en 60,000 –100,000 por unidad. Esto se debe al desarrollo de mejores pruebas aunado a una estricta selección de donadores ^{78, 94, 102}.

De hecho, las donaciones con resultados en pruebas de screening para HBsAg, anti-HBc y anti-VHC, repetidamente reactivos, no pueden ser usados para transfusión.

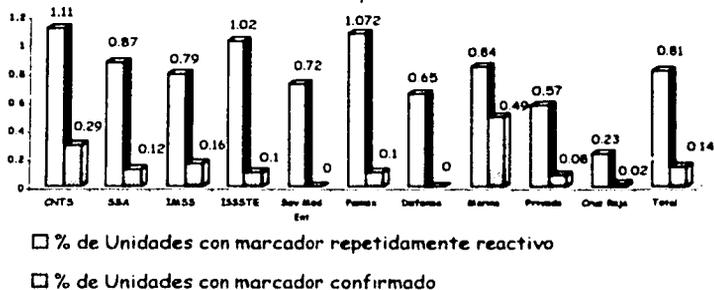
Gráfica 7. Virus de la Hepatitis C en muestras de donadores durante 1993-1999 a nivel nacional



% de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 1999 para VHC



% de Unidades Sanguíneas de Donadores en el Distrito Federal durante el año 2000 para VHC



Fuente: Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea



CAPÍTULO 5
EPSTEIN-BARR

5.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

El virus de Epstein-Barr (VEB) fue descubierto por la observación con microscopía electrónica de viriones herpéticos característicos en biopsias de un linfoma de Burkitt africano. El virus de Epstein-Barr es un herpesvirus del grupo γ , ADN bicatenario, cuyo genoma contiene 172,000 pares de bases^{84, 82}. El tipo de huéspedes es muy limitado y el tropismo tisular está definido por la expresión restringida de su receptor en las células. Este receptor lo es también para el componente C3d del sistema complemento (conocido como CR2 o CD21). Se expresa en linfocitos B humanos y en células epiteliales de la orofaringe y la nasofaringe^{80, 82, 83}.

Antígenos de las células infectadas por Virus de Epstein-Barr

Nombre	Localización celular	Asociación biológica	Asociación clínica
Antígeno nuclear del VEB (ANEB)	Nuclear	Antígenos no estructurales: primeros antígenos que aparecen. Observados en todas las células infectadas. se unen al ADN celular	Los anticuerpos anti-ANEB aparecen tarde en la infección
Antígeno primario (AP-R) y (AP-D)	AP-R Restringido al citoplasma	El AP-R aparece antes que el AP-D. primer signo de que la célula infectada ha entrado en ciclo lítico	Anti-AP-R observados en linfoma de Burkitt; anti-AP-D observados en mononucleosis infecciosa
	AP-D Difuso en citoplasma y núcleo		
Antígeno de la cápside vírica (ACV)	Citoplásmico	Antígeno tardío; se encuentra en células productoras de virus	IgM anti-ACV transitoria; IgG anti-ACV persistente
Antígeno de membrana definido por linfocitos (AMDL)		No encontrado en células de linfoma de Burkitt, hallado en células no productoras	No detectable mediante anticuerpos
Antígeno de membrana (AM)	Superficie celular	Glicoproteínas de la envoltura	Igual que ACV

5.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

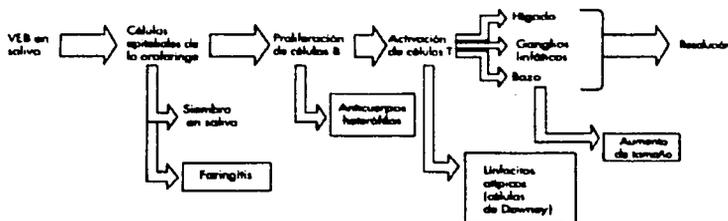
La infección por VEB se transmite con la saliva. Más del 90% de los individuos infectados por VEB eliminan intermitentemente el virus durante toda la vida, incluso en épocas sin ninguna sintomatología. Los niños pueden adquirir el virus a edad temprana al compartir los vasos, y en general experimentan enfermedad subclínica⁸⁴. En los adolescentes y los adultos jóvenes es frecuente el contagio con la saliva al besarse

(«enfermedad del beso»). La infección puede cursar sin síntomas o manifestarse como mononucleosis infecciosa con grados variables de gravedad. Aproximadamente el 70% de los norteamericanos se han infectado cuando llegan a los 30 años de edad⁸².

Los individuos con trasplantes, los pacientes con SIDA y los sujetos con inmunodeficiencias congénitas experimentan alto riesgo de trastornos linfoproliferativos promovidos por el VEB. Tales trastornos pueden aparecer como linfomas de células B policlonales o monoclonales. Estos individuos experimentan también alto riesgo de infección productiva que se manifiesta como leucoplasia oral vellosa⁷⁰.

5.3 FISIOPATOLOGÍA.

El VEB se transmite, como ya se mencionó, por contacto humano estrecho, frecuentemente a través de la saliva durante el beso. Inicialmente, el virus penetra en las células epiteliales de nasofaringe, orofaringe y glándulas salivales. Una glucoproteína de la cubierta de VEB se une a la proteína CD21, el receptor de complemento CR2 presente en células epiteliales y células B⁸². De tal modo, llega a los linfocitos B en el tejido linfático y la sangre.



Esquema 1. Patogénesis del Virus de Epstein-Barr

El periodo de incubación (tiempo entre la infección y la aparición de los síntomas) tiene un rango entre 4 a 6 semanas⁷¹.

La infección por VEB tiene tres resultados posibles: replicación en células epiteliales permisivas; infección latente de los linfocitos B en presencia de linfocitos T componentes; o estimulación e inmortalización de las células B. Las células B son semipermisivas para la replicación del VEB.

El virus de Epstein-Barr se manifiesta con diferentes síndromes clínicos tales como⁷⁰:

- ❖ **Mononucleosis infecciosa.** Se caracteriza por fiebre, dolor en garganta, malestar general, faringitis, linfadenopatías, muchas veces hepatoesplenomegalia y la aparición en sangre periférica de linfocitos T activados atípicos (células de mononucleosis). Aunque los síntomas generalmente resuelve en 1 ó 2 meses, raramente duran más de 4 meses, EBV queda en estado latente en algunas células en la garganta y en la sangre por el resto de la vida. Periódicamente, el virus puede reactivarse y se encuentra comúnmente en la saliva de las personas infectadas. Esta reactivación generalmente ocurre sin sintomatología⁷¹.
- ❖ **Enfermedad crónica por VEB.** El VEB puede causar enfermedad recurrente cíclica en algunos individuos. Esos pacientes sufren cansancio crónico, quizá con febrícula, cefaleas y molestias faríngeas.
- ❖ **Enfermedad linfoproliferativa inducida por VEB.** Los individuos carentes de inmunidad por células T están expuestos al linfoma y a la enfermedad linfoproliferativa de células B leucemoide policlonal, potencialmente letal. Se observan enfermedades similares en los pacientes con SIDA⁸².
- ❖ **Linfoma de Burkitt africano (endémico) (LBAf).** El linfoma de Burkitt africano es un linfoma de células B monoclonales poco diferenciadas, de la mandíbula y la cara, endémico en los niños de regiones palúdicas de África^{34, 82}.
- ❖ **Leucoplasia oral vellosa.** Causa lesiones en la boca. Se trata de una presentación oportunista propia de pacientes con SIDA.

5.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

Para controlar la proliferación de las células B infectadas por virus de Epstein-Barr y suprimir los virus libres, es importante una respuesta inmunitaria normal.

Así, en las primeras fases de la infección se forman anticuerpos, inicialmente IgM frente a los antígenos de la cápside viral. Posteriormente, en la fase aguda se forman IgG que persisten durante toda la vida. La mayoría de pacientes con mononucleosis infecciosa sintomática (>80%) muestran niveles cercanos al valor máximo de anticuerpos de IgG e IgM al ser analizados por primera vez. Los anticuerpos IgM suelen desaparecer en 2-3 meses, mientras que los anticuerpos IgG persisten indefinidamente⁷¹.

Además se presentan células T supresoras junto con células T citotóxicas específicas que aparecen en la circulación como linfocitos atípicos, tan característicos de esta enfermedad⁸³. En el siguiente diagrama se muestra la respuesta serológica a la infección por VEB.

Cualquiera de los datos siguientes sugiere infección reciente por VEB: (1) anticuerpos IgM contra ACV; (2) presencia de anticuerpos anti ACV y EA (3) aumento progresivo del título de ANEB, o (4) elevación de los títulos de anticuerpos anti ACV y anti AP. La presencia de anticuerpos ACV y ANEB en el suero de la fase aguda o de la convalecencia sugiere infección pasada.

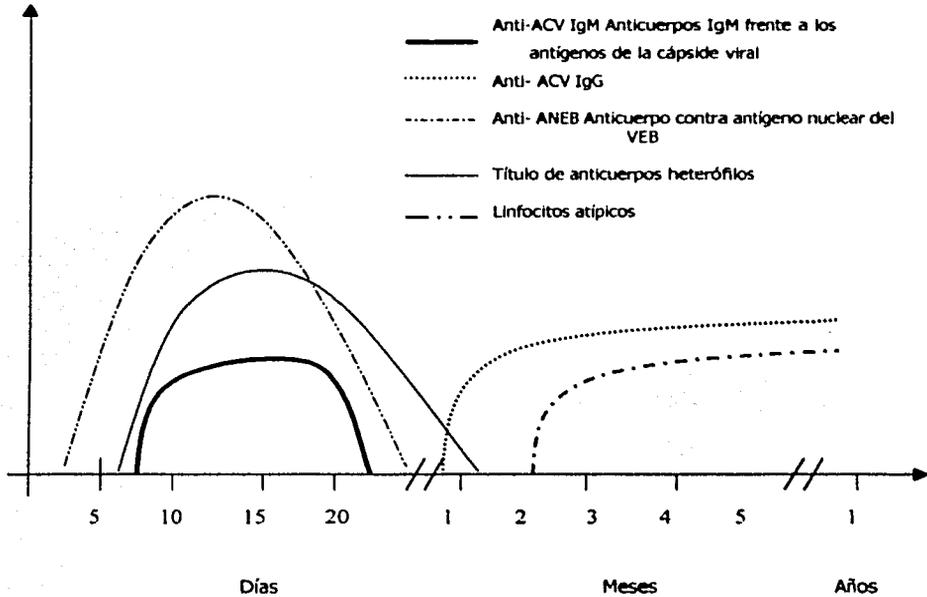


Diagrama 4. Respuesta serológica a la infección por VEB

5.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN.

La transmisión por transfusión de la infección por VEB es generalmente asintomática, pero ha sido una causa rara de síndrome postperfusión que es seguido por una transfusión masiva de sangre fresca durante una intervención quirúrgica del corazón y es una causa poco común de hepatitis postransfusión⁹⁴. Aunque

contribuye al desarrollo de desórdenes linfoproliferativos en receptores inmunosuprimidos quienes han recibido trasplantes hematopoyéticos y de órganos, no hay evidencia que la infección por VEB transmitida por transfusión contribuya al desarrollo de daños en los receptores de la transfusión.

Dado que el rango de seropositividad para VEB en los donadores sanguíneos es de 90% y esencialmente no hay riesgo de enfermedad clínica por la transmisión de VEB por transfusión en receptores inmunocompetentes, la búsqueda serológica para este virus no se ha considerado útil⁶⁴. Por esta razón, la transmisión del virus es casi imposible de prevenir⁷¹.

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs at each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 6
VLTH - I / II

6.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS

Los virus linfotrópicos T humanos pertenecen a la familia de los retrovirus y a la subfamilia de los oncornavirus u oncovirus³⁴. Los oncovirus fueron denominados originalmente virus ARN tumorales y han sido asociados con leucemias, sarcomas y linfomas en muchos animales diferentes. No son citolíticos. Entre los oncovirus humanos se incluyen VLTH-1, VLTH-2 y VLTH-5, pero sólo el VLTH-1 ha sido asociado de modo inequívoco con alguna enfermedad (LLTA). El VLTH-2 se aisló de formas atípicas de leucemia de células peludas, y el VLTH-5 en un linfoma maligno cutáneo. El VLTH-1 y el VLTH-2 comparten una homología de hasta el 50%. La distinción entre VLTH-1 y -2 puede hacerse por PCR ADN⁶⁴. Por lo tanto haré mención del VLTH-1 y VLTH-2 como VLTH-I / II.

El VLTH I - II es un virus ARN de cadena positiva, con envoltura. El VLTH I fue aislado hace veintitrés años cuando Robert Gallo, Takatzuki y colaboradores descubrieron un grupo inusual de leucemia de células T del adulto / linfoma ^{34,70}. El virion mide aproximadamente 80-120 nm de diámetro ⁹⁷.

El genoma consiste en por lo menos tres genes principales: *gag* (antígeno específico de grupo), *pol* (Polimerasa) y *env* (envoltura) que codifican poliproteínas enzimáticas y estructurales del virus y proteínas de la envoltura que consisten de glicoproteínas de superficies y proteínas transmembranales. Adicional a los genes virales estructurales, el genoma del VLTH-I contiene genes únicos principalmente codificados por las secuencias del extremo 3' que son llamados pX. Las proteínas codificadas por esos genes no son proteínas virales estructurales pero son proteínas reguladoras denominadas Tax, Rex y p21^{env}, codificadas por fragmentos de lectura abierta (ORF) IV y III, respectivamente. Además se han reportado otras proteínas codificadas por la región X: p12ⁱ, p13ⁱⁱ y p30ⁱⁱ, por los fragmentos ORF I y II²⁶, p13ⁱⁱ se localiza en la mitocondria y p30ⁱⁱ en el núcleo; p12ⁱ es una pequeña proteína hidrofóbica localizada en la membrana celular. En cada extremo del genoma existen secuencias tipo Repeticiones Terminales Largas (RTL), ellas contienen promotores, potenciadores y otras secuencias genéticas para unión a diferentes factores de transcripción celulares. La RTL del VLTH-1 es dividido en tres regiones: U3, R y U5³⁴. Las enzimas víricas son codificadas por el gen *pol*, y entre ellas se incluyen proteasa, transcriptasa inversa e integrasa ^{34,97}.

Las proteínas estructurales más inmunogénicas son p19, p24, gp21 y gp46 y los anticuerpos de estas cuatro proteínas son las que a menudo se utilizan en el diagnóstico de la infección por VLTH¹⁸.

Tax afecta a las proteínas reguladoras del ciclo celular resultando en un crecimiento desordenado de la células T infectadas. El punto de control del ciclo celular afectado por Tax es la proteína supresora de tumor p53^{34, 70, 83}.

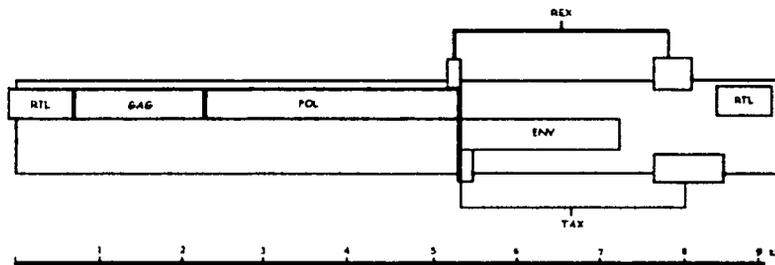


Fig.8 Estructura genómica del VLTH-1

6.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

El VLTH-1 permanece asociado con las células, por tanto la infección humana requiere la transmisión de las células T infectadas a través de las relaciones sexuales, los derivados sanguíneos o alimentación mamaria (30%)⁷⁹, por compartir agujas infectadas (usuarios de drogas)^{18, 67}. Si la madre se abstiene de alimentar a su hijo, la transmisión de VLTH a infantes se prevé en un 80% de los casos⁶⁷. Se considera que la alimentación mamaria es el primer mecanismo de transmisión de VLTH-1. La transmisión sexual es más efectiva de hombre a mujer vía células infectadas presentes en el semen, la transmisión de mujer a hombre es rara³⁴.

El VLTH-1 es endémico en la zona sur de Japón; se encuentra también en el Caribe, África y en los negros del sudeste de Estados Unidos³⁸. Se ha estimado que más de un millón de personas japonesas son portadores sanos de VLTH-1^{45, 67}. Se calcula que 10 a 20 millones de personas en todo el mundo están infectadas con el virus. La mayoría de esos individuos permanecen como portadores asintomáticos y sólo una pequeña fracción (1 a 4%) desarrollan LLTA, generalmente varias décadas después de la infección primaria³⁴.

Se estima que 20-60% de los receptores de productos contaminados pueden desarrollar mielopatía (leucemia de células T y linfoma). La tasa de transmisión depende del tiempo de almacenaje y la cantidad de

células blancas presentes en los componentes sanguíneos. El VLTH-2 es endémico entre tribus de Estados Unidos, Panamá y Brasil y es prevalente entre usuarios de drogas⁶¹.

6.3 FISIOPATOLOGÍA

El VLTH-1 causa la leucemia linfocítica aguda de células T del adulto (LLTA, una enfermedad linfoproliferativa agrasiva) y la mielopatía asociada a VLTH-1/ paraparesia espástica tropical (desorden neurodegenerativo inflamatorio), una enfermedad neurológica no oncogénica. El VLTH-1 tiene tropismo por las células T cooperadoras CD4+, por lo que este subgrupo de células T es la diana principal de la transformación neoplásica^{34, 63}.

El virus puede permanecer latente o multiplicarse con lentitud durante muchos años, pero también puede inducir proliferación de clones particulares de células T^{34, 67}.

Clinicamente la infección por VLTH es asociada con una variedad de enfermedades incluyendo leucemia/linfoma (LLTA), uveítis, artropatía y mielopatía asociada a VLTH-1/ paraparesia espástica tropical^{34, 97}. El VLTH-2, originalmente aislado de un paciente con una forma atípica de leucemia T celular, no ha sido asociado morfológicamente con enfermedades humanas^{34, 106, 107}.

La infección por VLTH suele ser asintomática, pero puede progresar hasta la LLTA en aproximadamente 1 de cada 20 personas a lo largo de períodos variables entre 30 y 50 años¹⁸. Se desconoce el período de incubación^{34, 63, 97}.

6.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN

Se considera que la respuesta inmune del huésped contra VLTH-1 contribuye a la protección de la infección por el virus y el control de la producción de partículas virales infecciosas y de células infectadas. Sin embargo, por otro lado la respuesta inmune anti-VLTH-1 es un papel potencial en la inducción del desarrollo de la enfermedad, lo cual supone ser un posible mecanismo en la patogénesis de mielopatía asociada a VLTH-1/ paraparesia espástica tropical. Los individuos infectados por VLTH-1 producen anticuerpos contra los productos de las proteínas de los genes virales env, gag y tax. Los títulos en suero de anticuerpos anti-VLTH-1 son generalmente más altos en pacientes con mielopatía que en portadores asintomáticos y pacientes con paraparesia. Las células T citotóxicas (CTL) específicas contra VLTH-1 han sido demostradas en

pacientes con mielopatía asociada a VLTH-1/ paraparesia espástica tropical, leucemia linfocítica T del adulto así como en portadores asintomáticos y parece que estas células juegan un papel importante en el control de la replicación in vivo. Se piensa que VLTH-1 queda latente por un largo período en las personas infectadas, debido principalmente a la regulación del virus por las moléculas Tax y Rex y a la presencia de las variantes del virus que pueden escapar del reconocimiento por CTL⁹⁷.

6.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN

El VLTH-1 ha sido transmitido por concentrados celulares pero no por plasma libre o derivados de plasma⁶³.

Los primeros anticuerpos son generalmente detectables a los 14-30 días después de la transfusión, aunque el intervalo puede ser tan largo como 98 días. Se ha estimado que 4-8% de sujetos infectados con VLTH-1 por transfusión sanguínea desarrollará eventualmente mielopatía asociada a VLTH⁶⁷.

La eficiencia de transmisión de estos retrovirus por productos sanguíneos a partir de donantes positivos es entre 20% y 63%³⁸, habiéndose reportado un rápido desarrollo de mielopatía degenerativa luego de una transfusión de sangre entera infectada con VLTH-1¹⁸.

El escrutinio de anti-HTLV 1 en donadores comenzó en los Estados Unidos a finales de 1988, se reportó un porcentaje de 0.02% de pruebas positivas confirmatorias³⁸. El riesgo actual de infección combinada de VLTH-1 / II transmitida por transfusión se ha estimado cerca de 1 en 500,000 unidades⁹⁴ o 1 en 641,000⁶³.

El porcentaje de transmisión se ve afectado por el período de tiempo que la sangre es almacenada y por el número de células blancas en la unidad. La sangre que ha sido guardada por más de 14 días y productos sanguíneos celulares tales como crioprecipitado y plasma fresco congelado no parecen ser infeccioso^{18, 38}.

La detección de VLTH debería realizarse en cada donación sanguínea como lo realizan en Francia, Estados Unidos y en donación de primera vez en Suecia⁷⁸; aquí en México no se realiza rutinariamente la detección de VLTH.

A decorative border with ornate floral and scrollwork patterns in each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 7
PARVOVIRUS B19

7.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

El Parvovirus B19 fue descubierto originalmente en 1975 por Cosart y colaboradores en Inglaterra¹⁰, en el suero de donadores de sangre asintomáticos que tenían resultados falsos positivos para antígenos de superficie de hepatitis B^{5, 47}. Los estudios fisicoquímicos preliminares sobre la naturaleza de este agente muestran indicios acerca de su probable identidad como miembro de la familia de Parvoviridae, posteriormente en los informes se denominó "Agente parecido al Parvovirus Humano", "Parvovirus Sérico" y "B19", después de uno de los aislamientos originales. En 1983 se le denominó "Parvovirus Humano"¹⁰⁵.

El Parvovirus B19 es un pequeño virus icosaédrico sin envoltura lipídica, con un diámetro promedio de 20 a 23 nm, responsable del eritema infeccioso en los niños y artritis en adultos. El parvovirus es un contaminante común de plasma pooled (concentrado) o derivados de plasma^{10, 51}. El genoma consta de una sola molécula de ADN monocatenario lineal, con peso molecular aproximadamente 5.6 kb de longitud^{10, 24}. La cápside está formada de dos proteínas principales PV1 (proteína de cápside menor, 83 kDa) y PV2 (proteína de cápside mayor, 58 kDa) ó partículas antigénicas discernibles por electroforesis en gel de SDS poliácridamina^{10, 99}. La infectividad del parvovirus es relativamente estable al calor, tolerante a un amplio intervalo de pH y resistente al éter⁶⁷.

El receptor celular para B19 ha sido identificado como antígeno P de grupo sanguíneo y es también responsable del fenómeno de hemaglutinación de B19^{10, 24}. El virus B19 se replica en células con actividad mitótica y prefiere las de la serie eritroide, como células de médula ósea, células entroides de hígado fetal y células de leucemia eritroide⁴⁹. Después de la unión y la internalización, el virión es destapado y el ADN genómico monocatenario pasa al núcleo. Para generar la cadena de ADN complementaria son necesarios factores sólo disponibles durante la fase S del ciclo de crecimiento celular y ADN polimerasas celulares.

La unión del virus a la célula se produce a través de la proteína VP2 de la cápside viral que se une a un receptor denominado antígeno P. Este receptor está localizado en la membrana plasmática de precursores de eritrocitos, megacariocitos, células endoteliales, placenta, células miocárdicas fetales y hepáticas. En la infección productiva además de la síntesis de la proteína VP2 (proteína mayoritaria de la cápside), se sintetiza una proteína minoritaria VP1¹⁰.

7.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

Los seres humanos son los únicos huéspedes conocidos, el modo de diseminación probablemente involucra secreciones orales, gotitas respiratorias y se ha descrito transmisión por concentrados de factores de la coagulación sanguínea (Factor VIII y factor IX)^{67, 70}, por lo que el grupo de alto riesgo de adquirir el virus son los hemofílicos^{7, 51, 94}. Además se ha visto que las preparaciones recombinantes de factores de coagulación contienen ADN del Parvovirus B19, lo cual se debe principalmente a contaminación por albúmina humana, debido a que se añade como estabilizador durante los procedimientos de preparación y purificación para preservar la actividad de coagulación del factor VIII³¹.

En cuanto a la prevalencia de estudios de anticuerpo IgG de Parvovirus B19, en suero, se nota que del 30 al 60% de los adultos son seropositivos y del 1 al 21% menores de 11 años son seropositivos. Las epidemias en la comunidad prevalecen durante el final del invierno e inicio de primavera y con frecuencia terminan en 3 a 6 meses⁵. La viremia sólo ocurre en las primeras fases de la infección antes de que aparezca el salpullido y no hay evidencia de estadio de portador^{17, 94}.

La información en México sobre infección congénita por Parvovirus es escasa¹⁰. De hecho en México se ignora la importancia clínica y epidemiológica del virus, en un estudio realizado por el Dr. Castillo se mostró la presencia de la infección sobre todo en pacientes con cuadros exantemáticos, mujeres con aborto habitual y anemias en huéspedes con compromiso inmunológico o alteraciones hematológicas⁸.

7.3 FISIOPATOLOGÍA.

Años más tarde a su descubrimiento la infección por este germen pareció ser asintomática ó estar asociada a una enfermedad febril inespecífica, sin embargo al principio de 1980 se identificó un papel importante en la etiología de las crisis de aplasia en anemias hemolíticas crónicas, poco después se identificó que el Eritema Infeccioso "Quinta Enfermedad" era la manifestación más frecuente de la infección por este germen^{17, 62}. Recientemente se descubrió la asociación de la infección por Parvovirus B19 con embarazo y muerte fetal. El período de incubación en general es de 4 a 14 días pero puede durar hasta 20 días¹⁷. La erupción y los síntomas articulares se presentan en 2 a 3 semanas después de la adquisición.

El curso de la enfermedad por B19 es bifásico. La fase febril inicial es la contagiosa. El virus provoca, como ya se mencionó, infección lítica de las células precursoras eritroides, con lo que se disminuye su número y se detiene la producción de hematíes. La viremia se produce a los ocho días del contagio y se acompaña de síntomas inespecíficos. Durante este periodo, se encuentran títulos altos del virus en las secreciones orales y respiratorias. La segunda fase, se caracteriza con un síndrome que guarda relación con mecanismos inmunes, una respuesta por linfocitos T no ha sido establecido, pero la respuesta humoral es fácilmente cuantificable, esta respuesta humoral conlleva a la segunda fase de la enfermedad, la quinta enfermedad, la cual es mediada seguramente por complejos inmunes¹⁰. De esta manera, el exantema y las artralgias del Eritema Infeccioso coinciden con la aparición de IgM específica para el virus. Aparece un exantema característico en la cara, con aspecto de "mejillas abofetadas". El exantema suele extenderse sobre todo a las zonas expuestas de la piel como los brazos y las piernas. La erupción usualmente se resuelve dentro de las 1-2 semanas, pero puede reaparecer más tarde siguiendo una estimulación no específica, como los cambios en la temperatura, el estrés emocional^{5, 11}.

La infección por B19 de un huésped normal puede cursar sin síntomas apreciables o producir fiebre y una sintomatología inespecífica como faringitis, malestar general y mialgia, con disminución ligera de los niveles de hemoglobina, seguido por un exantema dos o tres semanas más tarde. La infección por B19 de individuos inmunocomprometidos puede conducir a enfermedad crónica, causando una lisis persistente de células precursoras de glóbulos rojos. Hasta la fecha, este cuadro se ha reportado en pacientes con leucemia aguda tratada con quimioterapia, después de trasplante de médula ósea, con inmunodeficiencias congénitas y con SIDA⁵. Otros estudios demuestran que va en incremento su asociación a enfermedades autoinmunes; además meningitis, encefalitis, hepatitis, miocarditis, neuropatías⁵¹.

7.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

En la infección por parvovirus B19 la respuesta serológica se da por la presencia de dos anticuerpos, principalmente de clase IgG e IgM. La detección de anticuerpos IgM anti B19, están presentes tempranamente en la enfermedad (aparecen alrededor del décimo día), comienzan a disminuir 1 a 2 meses después de la iniciación de ésta y por lo general han desaparecido alrededor de los 2 a 3 meses¹⁰.

En el huésped normal, la infección aguda ó reciente se determina mejor por la demostración del anticuerpo IgM específico^{10, 17}. La infección pasada y la inmunidad al virus B19 se determina con la demostración de anticuerpo IgG específico en suero^{5, 10}.

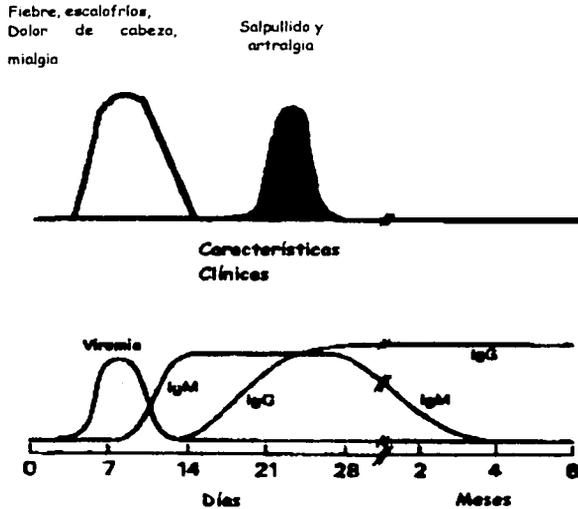


Diagrama 5. Respuesta serológica a la infección por parvovirus

7.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN.

Estudios con diferentes métodos indican que el Parvovirus está presente en la sangre de 1 en 20,000 a 1 en 50,000 donadores. Durante el período de epidemia, la incidencia puede incrementar tan alto como 1 en 260 donadores¹⁰.

La incidencia de viremia en los donadores sanguíneos se ha estimado en un rango de 1 en 3,300 a 1 en 40,000^{47, 94}. El riesgo de transmisión por transfusión en concentrados de factores de coagulación y paquetes eritrocitarios es dudoso, sin embargo no deja de ser un problema de salud pública³⁸.



CAPÍTULO 8
CITOMEGALOVIRUS

8.1 CARACTERÍSTICAS DEL VIRUS.

El CMV es un virus ADN de la familia herpes del grupo β que produce una infección asintomática o parecida a la mononucleosis infecciosa en individuos sanos. Representa la causa más común de defectos congénitos. El CMV adquiere importancia particular como patógeno en pacientes inmunocomprometidos y en recién nacidos. Tiene el genoma más grande de todos los herpesvirus humanos. El CMV humano se multiplica sólo en células humanas. Los fibroblastos y los macrófagos permiten la replicación del CMV. El virus establece infección latente en linfocitos mononucleares, célula del estroma de la médula ósea y otras células^{63, 70}.

El genoma del CMV es encontrado predominantemente en monocitos de sangre periférica de sujetos sanos seropositivos para CMV y persiste como un plásmido circular en el subgrupo de células CD14+^{80, 104}. Los granulocitos también han sido descrito como reservorio para CMV durante la viremia, sin embargo no se ha demostrado que estas células producen virus infeccioso⁵⁵.

8.2 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.

El CMV es un patógeno humano común, que infecta al 0,5-2,5% de todos los recién nacidos y aproximadamente el 50% de la población adulta en países desarrollados.

El CMV puede ser aislado en orina, sangre, lavados faríngeos, saliva, lágrimas, leche, semen, heces, líquido amniótico, secreciones vaginales y cervicales, y tejidos usados para trasplante. Por consiguiente, los medios principales para la transmisión de CMV se basan en^{70, 94}

- Via congénita.
- Transmisión intrauterina.
- Transmisión perinatal en el canal del parto. En Estados Unidos, hasta el 20% de las embarazadas a término albergan CMV en el cérvix, y es probable que hayan experimentado reactivación del virus durante la gestación. Alrededor de la mitad de los fetos nacidos a través de un cérvix infectado, adquieren la infección por CMV y comienzan a excretar el virus a las tres o cuatro semanas de edad. La transfusión de sangre constituye otro medio para la adquisición del CMV por los recién nacidos.
- Leche materna.

- Secreciones respiratorias.
- Semen y líquidos vaginales.
- Transfusiones de sangre. Aproximadamente en el 5% de los donantes de sangre, los leucocitos circulantes contienen CMV latente. El CMV puede causar infecciones primarias y secundarias a través de transfusiones sanguíneas, especialmente en individuos inmunosuprimidos y en niños.
- Trasplante de injertos infectados por virus procedentes de un donante con infección latente.

La prevalencia de anticuerpos contra CMV en adultos normales muestra una amplia variación, con un rango por arriba del 40%. Sin embargo, sólo 2.5 a 12% de esas personas son infecciosas⁶³. Los pacientes con VIH son de alto riesgo por severas complicaciones asociadas con la infección por CMV y por lo tanto en estos pacientes se deben tomar las medidas necesarias.

8.3 FISIOPATOLOGÍA.

El CMV tiene la capacidad para: (1) diseminación célula a célula en presencia de anticuerpos circulantes; (2) establecimiento de un estado de infección latente en el huésped, y (3) reactivación en condiciones de inmunodepresión. Sin embargo, el CMV induce inmunodepresión transitoria en el receptor y suele establecer infección asintomática. Presenta un período de incubación de 4-8 semanas.

En la mayoría de los casos el virus se multiplica y se disemina sin causar síntomas. El virus establece latencia en leucocitos mononucleares y en órganos como el riñón y el corazón. La infección latente por CMV parece ser reactivada por inmunodepresión y posiblemente por estimulación alógena (es decir, la respuesta del huésped a las células transfundidas o trasplantadas). El virus se puede transmitir con las células en las transfusiones de sangre y los órganos trasplantados. La activación y replicación del virus en el riñón y las glándulas secretoras favorecen su eliminación en la orina y las secreciones corporales.

La infección primaria por CMV causa un aumento de células T depresoras, con disminución de la relación entre células T cooperadoras y depresoras (CD4/CD8). La función linfocítica disminuye también durante la infección aguda, pero se normaliza a lo largo de la convalecencia.

Clinicamente la infección por Citomegalovirus se puede presentar con diferentes síndromes clínicos, dependiendo de la vía de transmisión^{67, 70}:

Infección congénita y perinatal. El CMV representa la causa vírica más prevalente de enfermedad congénita. Un porcentaje significativo (0,5 a 2,5%) de todos los recién nacidos de Estados Unidos están infectados por el CMV al nacer. Aproximadamente el 10% de estos recién nacidos muestran evidencia clínica de enfermedad, como microcefalia, calcificación intracerebral, hepatoesplenomegalia, exantema, anemia hemolítica, ictericia y neumonitis^{80, 83}.

Infección en los adultos. Si bien la mayoría de las infecciones por CMV adquiridas por los adultos jóvenes son asintomáticas, es posible el desarrollo de un cuadro clínico similar al de la mononucleosis infecciosa. La infección primaria o reactivación de infección latente también está asociada con agrandamiento de los ganglios linfáticos, linfocitosis, fiebre, viruria, viremia y hepatitis^{67, 94}.

Transmisión del virus a través de transfusiones y trasplantes. La transmisión del CMV con la sangre suele conducir a infección asintomática; si existen síntomas, en los casos típicos recuerdan a los de la mononucleosis infecciosa. La fiebre, la esplenomegalia y la linfocitosis atípica suelen comenzar entre tres y cinco semanas después de la transfusión. También se pueden producir neumonía y hepatitis leve. El CMV puede ser transmitido con el trasplante de órganos (p. ej., riñón, corazón o médula ósea), y el virus se puede reactivar en los receptores durante los periodos de inmunodepresión intensa.

Infección del huésped inmunocomprometido. El CMV es un agente infeccioso oportunista característico en los individuos inmunocomprometidos⁶⁷. Hasta el 10% de los pacientes con SIDA desarrollan colitis o esofagitis por CMV. En personas inmunocompetentes, CMV infecta y permanece latente en leucocitos⁸⁰.

8.4 RESPUESTA SEROLÓGICA A LA INFECCIÓN.

Poco después del comienzo de los síntomas, los individuos normales con una infección primaria desarrollan anticuerpos IgM CMV específicos, que disminuyen después de 2 a 3 meses y que son prácticamente indetectables después de 12 meses. En huéspedes inmunocomprometidos, la respuesta de anticuerpos IgM puede persistir durante mucho más tiempo. Con una infección secundaria, es difícil detectar una respuesta de

anticuerpos IgM en huéspedes normales, mientras que es bastante normal en pacientes inmunocomprometidos. La presencia de anti-CMV no garantiza inmunidad⁶⁷.

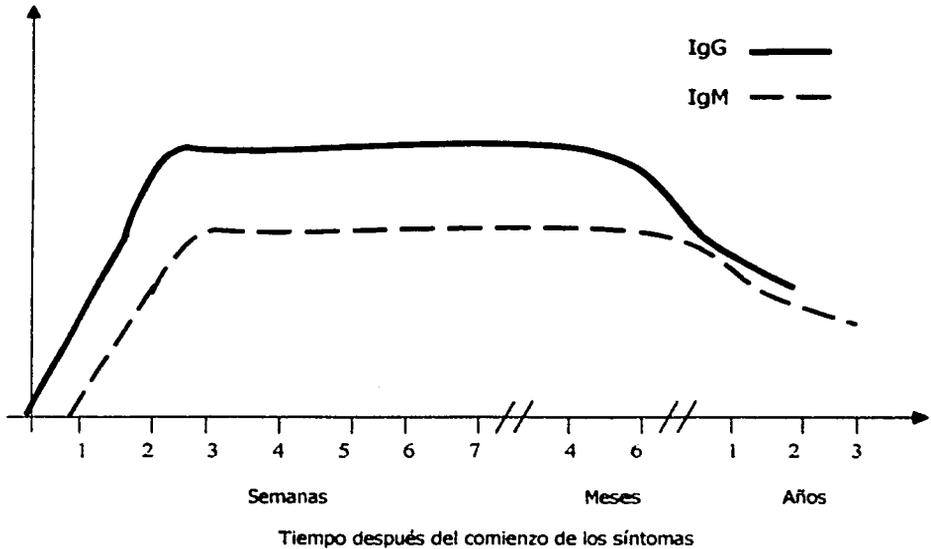


Diagrama 6. Respuesta serológica a la infección por CMV

8.5 TRANSMISIÓN POR TRANSFUSIÓN.

El primer caso de transmisión de CMV por transfusión fue reportado por Kääräinen en 1966⁶⁷, en 16 a 67% de pacientes que presentaron síndrome de mononucleosis postperusión^{80, 94} y ahora se conoce que el CMV es uno de los agentes infecciosos más frecuentes transmitido por transfusión. La infección por CMV varía enormemente de acuerdo al estado socioeconómico y a la región geográfica⁹⁴.

Aunque aproximadamente 50% de los donadores sanguíneos se espera que sean seropositivos para CMV, se ha estimado que actualmente menos del 1% de componentes sanguíneos celulares seropositivos son capaces de transmitir el virus⁹⁴. La patogénesis de la infección del virus transmitida por transfusión no es claramente entendido, se asume que CMV es transmitido en la mayoría de los casos en un estado latente en leucocitos de productos sanguíneos contaminados y es reactivado después de la transfusión en el receptor^{67, 80}.

Durante los últimos años, la infección por CMV asociada a transfusión ha cobrado importancia en vista de que cuenta con una tasa elevada de morbi-mortalidad entre pacientes inmunosuprimidos por trasplante (corazón, corazón-pulmón, riñón, hígado) o terapia contra el cáncer y pacientes pediátricos, especialmente prematuros con bajo peso al nacer (menos de 1200g a 1500g) generalmente ellos presentan una etapa gestacional menos de 29 semanas y por lo tanto son inmunológicamente inmaduros, también se asocia con trasplante de médula ósea (69%)^{41, 55, 63, 67, 77, 80}. La prevalencia de anti-CMV alcanza un rango de 40-90% entre donares sanguíneos sanos⁹⁴.

A decorative border with ornate floral and scrollwork designs in each corner, framing the central text.

CAPÍTULO 9

*PRIONES ¿UN RIESGO
POR TRANSFUSIÓN?*

9.1 ESTRUCTURA.

Los virus lentos no convencionales causan enfermedades neurodegenerativas lentas con encefalopatía espongiiforme. Entre ellas se incluyen enfermedades humanas como kuru, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) y enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker (EGSS), y las enfermedades animales conocidas como scrapie (carcoma de la oveja), encefalopatía espongiiforme bovina. La ECJ y la EGSS constituyen también trastornos genéticos humanos^{6,70}.

Los virus lentos son agentes que puede filtrarse y pueden causar enfermedades transmisibles, pero por lo demás no se adaptan a la definición estándar de los virus a diferencia de los virus convencionales, no se ha detectado genoma ni estructura de virión, no provocan respuesta inmune ni respuesta inflamatoria y se muestran extremadamente resistentes a la inactivación por el calor, los desinfectantes y la radiación. Los agentes lentos parecen ser una proteína del huésped modificada, un prión (partícula proteica infecciosa pequeña), que puede transmitir la enfermedad⁶.

Después de períodos de incubación muy largos, estos agentes causan lesión del sistema nervioso central (SNC) que conduce a encefalopatía espongiiforme⁶. El período de incubación prolongado, que puede durar 30 años en el hombre, ha hecho difícil el estudio de estos agentes. En 1996 surgió una variante nueva de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (nvECJ) en el Reino Unido y se ha vinculado con la encefalopatía espongiiforme de los bovinos (EEB), conocida en los medios de comunicación como "enfermedad de las vacas locas"⁹⁴. Este prión es distinto del que se encuentra vinculado con la ECJ clásica y su etiología sigue siendo discutida.

Se sospechó que los agentes lentos eran virus debido a que atravesaban los filtros capaces de retener las partículas superiores a 100nm. Los aislamientos diluidos hasta 10¹¹ pueden inducir enfermedad en individuos susceptibles. Los agentes son resistentes a una amplia gama de tratamientos químicos y físicos, entre ellos el formaldehído, la radiación ultravioleta y el calentamiento hasta 80° C⁶. Sin embargo, pueden ser inactivados por solución de hidróxido de sodio 1M, solución de hipoclorito de sodio al 5.25%, fenol y utilizando autoclave (132°C por 4.5 horas)³⁵.

El prión carece de ácido nucleico detectable y consiste en agregados de una glucoproteína hidrofóbica resistente a las proteasas, que en el caso del scrapie se denomina PrP^{sc} (proteína prión del scrapie) (27.000 a 30.000 d)⁶. El hombre y algunos animales codifican una proteína PrP^c (proteína prión celular) íntimamente relacionada con la PrP^{sc} en cuanto a la secuencia de aminoácidos, pero diferente en muchas de sus propiedades. Las diferencias en las modificaciones postraducción hacen que las dos proteínas se comporten de modo diferente. La PrP^{sc} es resistente a las proteasas, se agrega en varillas amiloides (fibrillas), se encuentra en vesículas citoplásmicas y es secretada por la célula. La PrP^c normal es sensible a las proteasas y aparece en la superficie celular.

9.2 FISIOPATOLOGÍA.

La enfermedad aparece cuando la proteína priónica sufre una modificación en su configuración desde la isoforma en hélice α normal (PrP^c) hasta una isoforma anormal con plegamiento β (PrP^{sc}). Al modificar su configuración, la proteína priónica adquiere una resistencia relativa a la digestión con proteasas, como la proteinasa K. Por tanto, la naturaleza infecciosa de las moléculas de PrP^{sc} procede de su capacidad para alterar la integridad de componentes celulares normales.

La acumulación de PrP^{sc} en el tejido neural parece ser la causa de las alteraciones patológicas en estas enfermedades, aunque no se sabe cuáles son los mecanismos a través de los cuales este material da lugar a la aparición de vacuolas citoplásmicas con muerte neuronal⁷⁰.

El término encefalopatía espongiiforme se refiere a la degeneración característica de las neuronas y los axones de la sustancia gris. Se observan vacuolación de las neuronas, placas que contienen amiloide, fibrillas, proliferación e hipertrofia de los astrocitos, y fusión entre neuronas y células gliales adyacentes⁶. Los priones se acumulan hasta alcanzar concentraciones altas en el cerebro, lo que contribuye a la lesión tisular. También pueden ser aislados en tejidos distintos del cerebro, pero sólo éste muestra patología. El agente no genera inflamación ni respuesta inmune, lo que distingue la enfermedad de una encefalitis vírica clásica.

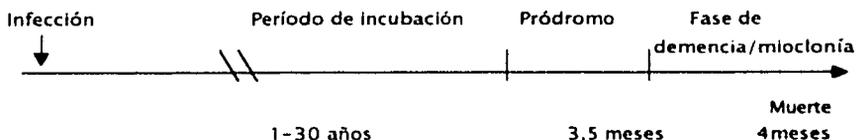


Fig. 9 Progresión de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob es una enfermedad fatal degenerativa del cerebro que afecta principalmente a adultos entre 50 a 75 años¹², fue descrita por primera vez hace más de 70 años⁶.

El periodo de incubación de la ECI y el kuru son tan cortos como de 14 meses o se puede prolongar hasta 30 años, pero una vez que comienzan los síntomas, el paciente fallece antes de un año⁶. Las encefalopatías espongiiformes están caracterizadas por pérdida de control muscular, que conduce a temblor, descargas mioclónicas, agitación y falta de coordinación, y demencia rápidamente progresiva^{6, 12}.

9.3 MECANISMO DE TRANSMISIÓN... ¿UN RIESGO POR TRANSFUSIÓN?

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se ha notificado en todo el mundo. La ECI se transmite predominantemente por inyección, trasplante de tejido contaminado o contacto con dispositivos médicos contaminados. La enfermedad puede transmitirse inoculando directamente sangre de un animal enfermo en el cerebro de uno sano²⁵.

La ECI y la EGSS son también hereditarias, y se han identificado familias con historias genéticas de las dos enfermedades. Estos trastornos son raros, pero se encuentran en todo el mundo.

Las tasas promedio de mortalidad anual suelen ser de 0.5 a 1 caso por millón de habitantes^{67, 94}, es decir cerca de 250 casos se presentan anualmente en Estados Unidos¹². Hasta mediados de 1999 se habían notificado más de 40 casos de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, casi todos provenientes del Reino Unido⁷⁰.

En los primeros estudios experimentales en animales (hámster y ratones) y humanos plantearon la posibilidad que las enfermedades dementes tales como la enfermedad de Alzheimer y Creutzfeldt-Jakob pueden ser transmitidas por transfusión sanguínea⁹⁴. Esto se basó en la demostración del agente en los

leucocitos humanos y el desarrollo de cambios degenerativos en los sitios intracerebrales donde células humanas se introdujeron en animales.

En estudios subsecuentes se ha fallado en confirmar tal suceso, por lo que no se ha demostrado un vínculo entre las transfusiones de sangre y la transmisión del agente^{6, 25, 67}. Sin embargo, es importante no aceptar sangre donada de personas que están expuestas a gran peligro de tener encefalopatías espongiformes transmisibles (antecedente familiar de dicha enfermedad, neurocirugía previa)⁶.

Aún queda una pregunta: ¿Cuál es el riesgo de que un plasma (individual o pooled) de donador adquiera ECJ? La respuesta depende de tres cálculos: 1) La probabilidad de que el pooled de plasma contenga una donación de al menos un individuo con ECJ; 2) La probabilidad de que una persona reciba un producto terapéutico de un pool que haya sido expuesto al agente infeccioso y 3) La probabilidad que un receptor quien ha sido expuesto se infecte y contraiga ECJ, esto implica factores como el número de partículas infectadas en un pool de plasma, el número de partículas del agente causante de la enfermedad necesarios para producir la infección y el número de receptores. La incertidumbre de la transmisión de ECJ por transfusión se incrementa debido a que se desconoce que tiempo la sangre puede ser infecciosa antes de comenzar los síntomas de la enfermedad y que no se cuenta con marcadores serológicos de la enfermedad durante la fase preclínica¹².



CAPÍTULO 10
DISCUSIÓN

Con la elaboración del presente trabajo se realizó una revisión que permitiera dar claridad a los considerables esfuerzos que se han hecho hasta el momento en el campo de la Medicina Transfusional para reducir el riesgo de transmitir enfermedades virales mediante las transfusiones de sangre o sus derivados, se pudo hacer una recopilación de las características de los virus (Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Virus de la Hepatitis B y C, Epstein-Barr, HTLV I-II, Parvovirus B19, Citomegalovirus, Priones); su mecanismo de transmisión; la fisiopatología se revisó de una manera general y aunque este tema es relevante, el adentrarse en este punto rebasa los propósitos de este trabajo; así mismo se describió la respuesta serológica a la infección, parte importante para decidir un método de diagnóstico certero. También se desarrolló un esquema comparativo de lo que permite detectar la técnica inmunoenzimática y la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la importancia de esta última radica en una detección del virus más rápida después de haber adquirido la infección. Además se revisaron estadísticas de prevalencia en donadores sanguíneos, se compararon los datos obtenidos en México con algunos países del Mundo. Por todo lo anterior, se puede concluir que se cumplieron con los objetivos que se plantearon con la elaboración de este trabajo. No obstante, es necesario discutir con más detenimiento las aportaciones hechas con este documento.

A lo largo de la historia, se ha tratado de incrementar la seguridad en la administración de sangre y derivados, debido a que el paciente sometido a una transfusión recibe un trasplante de tejido extraño, lo que puede acarrear consecuencias imprevisibles incluso la muerte, por lo que la decisión de transfundir debe basarse en datos clínicos y de laboratorio suficientemente sólidos para que el beneficio-riesgo lo justifique plenamente.

El impacto de las medidas preventivas que se han tomado en México se reflejan en la disminución de los casos reportados de SIDA postransfusión, Olivares⁷³ cita que hasta el 30 de Abril de 1992 se habían reportado 1432 casos de SIDA (14.6%) por transfusión de sangre, hoy en día datos proporcionados por el Registro Nacional de Casos de SIDA⁷⁴ hasta el 30 de Junio del 2000 menciona un porcentaje cercano a cero.

Gracias a las investigaciones realizadas por Domínguez²⁶ a mediados de 1985, en las cuales la cifra de seroconversión en donadores voluntarios osciló entre 0.04 y 0.06%, mientras que en donadores remunerados la seropositividad fue de 7.2%. Sepúlveda⁸⁶ desglosa los datos obtenidos en este estudio de prevalencia de infección del VIH, en el cual de 25786 donadores (9100 remunerados, 12 343 familiares y

4343 altruistas); 0.092% donadores altruistas se detectaron seropositivos y 0.032% en familiares con respecto a los de paga (7.2%). Es por ello que desde el 26 de Mayo de 1986 se emitió la Norma para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, en la que incluye la obligatoriedad de investigar serológicamente al donador; inclusive en la última versión de la Norma Oficial Mexicana⁷² se indica que el resultado obtenido en la prueba de escrutinio (técnica inmunoenzimática) debe confirmarse con otra como lo es Western Blot; el Manual de la Asociación Americana de Banco de Sangre (AABB)⁹⁴ también apoya este punto.

De tal manera, el 27 de Mayo de 1987, el Gobierno de la República decidió prohibir el comercio de la sangre. En la siguiente tabla se muestra un pequeño resumen, aportado por Sepúlveda, de las medidas adoptadas para la prevención de la transmisión sanguínea del VIH.

Medidas adoptadas para la prevención de la transmisión sanguínea del VIH/SIDA en México ⁹⁸	
Fecha	Medida Preventiva
1985	Inicio de la utilización de pruebas de detección en donadores de sangre
Mayo, 1986	Obligatoriedad del tamizaje en donadores
Mayo, 1987	Prohibición del comercio de la sangre
Julio, 1987	Estructuración de la Red Nacional de Laboratorios. Fomento a la donación altruista
1987- 1993	Establecimiento de los Centros Estatales de la Transfusión Sanguínea
1989	Formación del Subcomité del Derivados del Plasma del Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos

Sin duda alguna, todas las medidas mencionadas aún siguen vigentes, tal vez con algunas modificaciones en las Normas Oficiales y ello debe ser así; si realmente se quiere mejorar la calidad del trabajo en Medicina Transfusional.

Ahora bien Suoto⁹⁹ y colaboradores citan un estudio realizado en el Hospital Angeles del Pedregal de 1990 a 1992 en el cual se encontró una frecuencia de anti-VHC en donadores de sangre de 0.61% y de HBsAg fue del 0.32%. Mendez⁶⁵ menciona otro estudio realizado en el Hospital Medica Sur para prevalencia de Hepatitis B y C en donadores, encontrando VHC 0.47% y VHB 0.11% entre 1994-1998; cita cifras para anti-VHC como 6% en África, 0.34% en Canadá, Estados Unidos 0.60%, Alemania 0.42%, Hong Kong 0.51%. Aún en México varía considerablemente; Guerrero⁴⁰ en 1996 menciona que en Durango se encontró una prevalencia de 1.47%, Monterrey 0.47% y en México oscila entre 0.74 y 0.77%. Actualmente datos

proporcionados por el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea reflejan un porcentaje a nivel nacional de VHB en el año 2001 de 0.015% y de VHC en el año 1999 de 0.03%. Como se observa hay variabilidad en los datos incluso comparando datos dentro de la República Mexicana, ello se debe a diferencias en varios puntos por citar algunos, el nivel de cultura y el nivel socioeconómico. Inclusive hoy en día se ha visto desafortunadamente que hay un incremento en la drogadicción, punto que preocupa debido a la alta probabilidad de transmitir estos virus por vía parenteral. Se debe trabajar, como se ha hecho, en promover que personas con actividades de alto riesgo como lo son adictos a drogas, homosexuales, etc. de preferencia no se consideren de primera instancia como donadores.

Guerrero⁴⁰ cita otro punto sumamente importante, hoy en día, aún no se ha establecido que el Virus de la Hepatitis C pueda transmitirse por vía sexual, pero como él menciona parece recomendable el uso del preservativo en la relación promiscua o con cónyuges seropositivos al anti-VHC, ya que los datos disponibles actualmente sugieren la posibilidad, pequeña pero real, de transmisión sexual del VHC, que obliga por otra parte al escrutinio de anticuerpos para el virus en las parejas sexuales de los pacientes seropositivos. Otro autor que hace referencia a la importancia del VHC es el Dr. Liang⁶⁰ enfatizando que el 70-80% de las personas infectadas se convierten en portadores crónicos con una progresión lenta hacia cirrosis o hepatocarcinoma.

Tratando el virus del Parvovirus, Santagostino⁸⁶ y Jordan⁴⁷ mencionan que su relevancia radica en que los métodos actuales de inactivación viral no son efectivos en eliminarlo y el grupo de pacientes más susceptible a esta infección son los hemofílicos, que reciben grandes cantidades de unidades sanguíneas y de concentrados de factores de coagulación (FVIII y FIX).

Couroucé¹⁸ cita que para evitar la transmisión del HTLV I-II por transfusión el escrutinio en donaciones sanguíneas es obligatorio en varios países: en Japón (desde Marzo 1986), en Estados Unidos (Diciembre, 1988), en Canadá (1990), en Francia (Julio, 1991), en Netherlands (Enero, 1993), en Dinamarca y Suiza (1994), en Portugal (1995) y más recientemente (1999) en Grecia. La seroprevalencia en Europa es baja, no excede de 0.01%.

Con base en los estudios revisados, se puede hacer una tabla que ejemplifique los datos obtenidos por diferentes autores en cuanto a la prevalencia de los virus aquí tratados:

Virus	Autor	Lugar	Año	Prevalencia
Virus de la Inmunodeficiencia Humana	Dominguez ²⁶	México	1987 2000	7.2% 0.02%
	Lefrère ⁵⁷ y Yerly ¹⁰²	Estados Unidos	1997	1 en 493,000
	Manual AABB ³⁴	Estados Unidos		1 en 420,000
	Goodnough ³⁴	Estados Unidos		1/200,000 - 1/2,000,000 (0.4-5 por millón de unidades)
	Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea	A nivel nacional Distrito Federal	2001 1999 2000	0.03% seropositividad en donadores 0.37% 0.04%
Virus de la Hepatitis B	Lefrère ⁵⁷	Estados Unidos	1997	1 en 63,000
	Manual AABB ³⁴	Estados Unidos		1 en 50,000 receptores transfundidos o alrededor de 1 por 200,000 unidades transfundidas
	Goodnough ³⁴	Estados Unidos		1/30,000 - 1/250,000 (7-32 por millón de unidades)
	Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea	A nivel nacional Distrito Federal	2001 2000	0.015% 0.04%
Virus de la Hepatitis C	Lefrère ⁵⁷ y Yerly ¹⁰²	Estados Unidos		1 en 103,000
	Goodnough ³⁴	Estados Unidos		1/30,000-1/150,000 (4-36 por millón de unidades)
	Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea	A nivel nacional Distrito Federal	1999 2000	0.03% 0.14%
Virus Linfotrópico Humano I-II	Manual AABB ³⁴	Estados Unidos	Desde 1989	Búsqueda de anti-HTLV
	Goodnough ³⁴	Estados Unidos		1/250,000-1/2,000,000 (0.5-4 por millón de unidades) 1/500,000 ó 1/641,000
Citomegalovirus	Manual AABB ³⁴	Estados Unidos		40-70% de los donantes de sangre presentan anti-CMV pero sólo <2% puede transmitir el virus
Parvovirus	Goodnough ³⁴	Estados Unidos	1998	1/10,000 (100 por millón de unidades)
	Jordan Barriga y Castillo	México		1/3,300 a 1/40,000 Información Escasa
Virus Epstein-Barr	National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention		Abril 2002	90% de los donadores sanguíneos son seropositivos

Aunque es difícil hacer generalizaciones por los datos disímboles que se obtuvieron en las distintas investigaciones hechas y también por la intervención de una gran cantidad de factores y variables que determinan la prevalencia como el nivel cultural y socioeconómico de cada país, el número de donadores estudiados, la técnica que se haya empleado, entre otros. Resalta el hecho de que en México hay pobreza en

datos epidemiológicos, siendo los virus más estudiados el VIH, VHB y VHC; pero ello no demerita el dedicar tiempo en estudiar esos virus que también pueden llegar a causar problemas postransfusionales, inclusive lo que se llegará a invertir en un momento dado se verá reflejado en un futuro en el área de la salud.

Otro punto de vital importancia como lo comparten varios autores entre ellos Drosten²⁸, Lefrère⁵⁷, Yerly¹⁰² y Busch¹⁴ es la idea de implementar PCR como prueba de escrutinio rutinario en donadores.

Drosten²⁸ y colaboradores han implementado ya la técnica, describen en su artículo la metodología para el Virus de la Hepatitis B. Lefrère⁵⁷ cita que la estandarización y entrenamiento son los factores clave para implementar las técnicas de ampliación del genoma viral.

Yerly¹⁰² comenta que aún queda un pequeño pero significativo riesgo de transfundir varios agentes virales. El riesgo es principalmente debido a la falla de las pruebas serológicas de escrutinio actuales para identificar infecciones recientes durante el periodo de ventana. La reducción del periodo de ventana puede lograrse con técnicas dirigidas al ácido nucleico (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Busch¹⁴ comenta que la FDA continúa teniendo la perspectiva que la técnica de ampliación del ácido nucleico es el método más sensible actualmente disponible.

VIRUS	ELISA		PCR	
	Detecta	Día de detección	Día de detección	Tiempo que acorta en comparación con ELISA
VIH	Anticuerpos contra VIH	22	10-15	5 días
VHB	Antígeno de Superficie	56	31	25 días
VHC	Anticuerpos contra VHC	70	41-60	30 días
Epstein- Barr	Anticuerpos IgG o IgM frente al antígeno de la cápside	----	----	----
HTLV I-II	Anticuerpos	----	----	----
Parvovirus B19	Anticuerpo IgG e IgM	----	----	----
Citomegalovirus	Anticuerpo IgM	----	----	----
Priones	Aún no existe método para su detección	----	----	----

La detección del genoma viral como se realiza con la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa nos permite detectarlo en un tiempo más corto, el riesgo de adquirir el virus por transfusiones sanguíneas sería aún más pequeño. Como se observa en la tabla sólo en los primeros virus se cuenta con datos completos no así con los demás virus, por ello la tarea que nos queda es seguir investigando sobre estos virus, además de la posibilidad de implementar la técnica de PCR como prueba de escrutinio en donadores sanguíneos.

Por tanto un virus adquiere relevancia desde el punto de vista transfusional por: a) la ausencia de envuelta lipídica y la resistencia a los métodos de inactivación y b) la patogenicidad, de forma que pueda causar una enfermedad crónica.

El mejoramiento continuo de la calidad en Medicina Transfusional en México se verá reflejado en tanto el sector salud se decida a invertir tiempo y presupuesto en implementar técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa y así garantizar aún más la seguridad viral en las transfusiones sanguíneas.

A decorative rectangular border with ornate, symmetrical floral and scrollwork designs at each corner, framing the central text.

CONCLUSIONES

Al término de este trabajo se puede concluir que la rama de la Medicina Transfusional ha tomado una vital importancia en las últimas décadas, por todos los riesgos que ello implica tanto reacciones inmediatas como tardías como es el caso de las infecciones virales.

El riesgo de transmisión de virus sanguíneos tales como Virus de la Hepatitis B (VHB), Virus de la Hepatitis C (VHC) o Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) a través de la transfusión de componentes celulares ha sido disminuido por medidas preventivas implementadas en años recientes. Sin embargo, como se ha visto, a pesar de la sensibilidad de los ensayos para la detección de anticuerpos aún persiste un riesgo significativo de transmisión; este riesgo es debido principalmente a varios aspectos: Falta de pruebas de escrutinio actuales para identificar donadores infectados recientemente y por lo cual se encuentran en un período silencioso inmunológicamente o período de ventana, en el cual es imposible detectar los anticuerpos presentes; otro aspecto se refiere a la posibilidad que la donación sanguínea sea colectada de un individuo portador de variantes virales sin anticuerpos específicos o sin anticuerpos detectables por los ensayos actuales y a errores humanos durante el procesamiento de la muestra.

Con relación al Virus de la Inmunodeficiencia Humana, desde su identificación en 1981, se ha considerado un problema social importante por todas las complicaciones que ha significado, una de ellas en el área de la Medicina Transfusional. Sin embargo, los esfuerzos que se han hecho por disminuir el riesgo de adquirir el virus por transfusión se ven reflejados en los casos de SIDA reportados por CONASIDA. Ahora bien, al observar los datos proporcionados por el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea durante el período 1998-2001 (gráficas 1, 2 y 3), la seropositividad en los donadores ha disminuido. En la gráfica 1 se muestran datos obtenidos en la técnica inmunoenzimática (ELISA), prueba confirmatoria (Western Blot) e indeterminados, sin duda se observa que el porcentaje de datos inicialmente reactivos en ELISA, no es el mismo al realizar Western Blot, de ahí la importancia de la técnica confirmatoria, que nos permite discernir resultados falsos positivos. En las gráficas 2 y 3 se observa el mismo comportamiento, aquí se comparan datos proporcionados por diferentes instituciones, como punto importante debemos destacar que el número de donadores varía para cada sector.

Con el Virus de la Hepatitis B, como observamos en la gráfica 4 desde el año 1995 al año 2001 ha aumentado ligeramente la positividad para antígeno de superficie en los donadores, pero gracias a las pruebas de escrutinio y a la inmunización, el riesgo de adquirir hepatitis por transfusión ha sido controlado. La importancia para el Virus de la Hepatitis C radica en el curso de la enfermedad que puede progresar a

cirrosis o hepatocarcinoma, afortunadamente como se observa en la gráfica 7 se ha tratado de mantener el porcentaje de donadores con VHC y como ya se ha mencionado, la principal vía de transmisión es parenteral, por tanto se rechaza de primera instancia personas con tatuajes, lesiones con objetos punzocortantes, etc.

Tanto para el virus de Epstein-Barr como el Citomegalovirus, como se ha visto hay un alto porcentaje de seropositividad en los donadores, de hecho su importancia radica en pacientes inmunosuprimidos, y lo que se realiza en los Bancos de Sangre para disminuir el riesgo de transmisión es la leucorreducción.

En México, no se realiza la detección del Virus Linfotrópico T Humano (HTLV I-II) como rutina, sólo algunos hospitales (Instituto Nacional de Nutrición), y desafortunadamente no se tienen datos estadísticos sobre casos de HTLV por transfusión. En el capítulo 7 abordamos el Parvovirus B19, observamos que los pacientes que se ven afectados por este virus son los hemofílicos que reciben factores de coagulación, es por ello que el plasma debe ser tratado con solvente o detergente para inactivarlo.

Por otra parte, tratando el tema de los priones, se encontró que aún sigue en duda el riesgo de adquirir este virus "lento" por transfusión, la única alternativa para evitarlo es rechazar a los donadores con antecedentes de Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o neurológicas. En este punto la historia clínica tiene vital importancia, ya que la enfermedad no manifiesta signos o síntomas.

Ahora bien, como ya se mencionó algunos de estos virus presentan un período en el cual con las técnicas actuales es imposible detectarlos, principalmente por la sensibilidad del método y por la cantidad de virus presente en la muestra. Es por ello que diversos países han intentado probar la posibilidad de pruebas dirigidas a la detección de genoma viral o ácido nucleico viral y se ha visto que se logra cortar el período de ventana, ello se ha demostrado con la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR); técnica de vital importancia por su alta sensibilidad ya que logra detectar una mínima cantidad de virus y lo evidencia amplificando in vitro el material genético. Los alcances que se puedan llegar a tener al usar esta técnica puede brindar grandes beneficios de salud a la población, aunque el uso de ésta implique un gasto económico elevado actualmente, pensando en un futuro el costo-beneficio será redituable.

Además, no sólo es el hecho de poner en marcha la práctica de PCR, sino dar la capacitación adecuada al personal autorizado, responsabilidad que debe tener muy presente la instancia ya sea pública o privada en donde se manejen productos sanguíneos y sus derivados.

Asimismo, en esta investigación, se encontró que en México no existen suficientes datos estadísticos sobre los porcentajes de la transmisión de enfermedades virales por transfusión sanguínea principalmente Parvovirus, Virus Linfotrópico Humano (VLTH), Citomegalovirus (CMV) y Epstein-Barr. Por lo cual aún queda mucho por realizar, aunado a la selección de donadores, el sector salud debe tomar conciencia que teniendo datos epidemiológicos actuales sabremos que tanto porcentaje de incidencia puede haber en una población.

Aunado a las técnicas utilizadas actualmente, un punto que no debe olvidarse es la historia clínica del donador ya que se considera el primer filtro para rechazarlo o aceptarlo.

Aún queda mucho por realizar, por investigar y estar al día con las recientes técnicas, como personal del Banco de Sangre es nuestra obligación informarnos de todo y tratar en lo más posible brindarle la mejor atención tanto al donador como al receptor.

Finalmente, debemos recordar que no hay mejor transfusión que la que no se realiza, sin embargo esto en muchos de los casos es imposible, por lo que únicamente nos queda garantizar al máximo la seguridad de transfundir sangre libre de microorganismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abe, Hideki, et al. Elimination of both cell-free and cell-associated HIV infectivity in plasma by a filtration/methylene blue photoinactivation system. *Transfusion* 2000; 40: 1081-1087
2. Alonso, Alonso Pedro ; et al. El virus de la Hepatitis C. Los Autores, Valladolid, 1998. Págs. 44-75
3. Alvarado Esquivel, Cosme y Leroux-Roels. Inmunología de la hepatitis C. *Rev Invest Clin* 1999 ; 51 : 315-322
4. Ambríz HR, Martínez MC, Quintana GS. Precauciones en el manejo de sangre y sus componentes. En: Infecciones intrahospitalarias en pediatría. Mc Graw- Hill. México, 1998. Págs. 241-57
5. Anderson, Larry J. Human Parvoviruses. *Journal of the Infectious Diseases* 1990 ; 161 : 603-608
6. Asher, David M. Transmissible Spongiform Encephalopathies. In: Murray Patrick, Baron Ellen Jo, Pfaller Michael A., Tenover Fred C., eds *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition. ASM Press Washington. USA, 1999: 1773 pp
7. Azzi A., Morfini M., Manucci PM. The transfusion-associated transmission of Parvovirus B19. *Transf Med Review* 1999; 13: 194-204
8. Barriga AG, Castillo TNP, Tapia JH. La infección por Parvovirus B19 en México. *Rev Mex Patol Clin* 1995; 42 (4): 160-163
9. Bowden RA. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9 (1): 155-166
10. Brown, Kevin; Young, Neal and Barbosa Luiz. Parvovirus B19: implications for transfusion medicine. Summary of a workshop. *Transfusion* 2001; 41: 130-135
11. Brown KE, Young NS. Human Parvovirus B19 infections in infants and children. *Adv Pediatr Infect Dis* 1997; 13: 926-33
12. Brown, P. Donor pool size and the risk of blood-borne Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfusion* 1998; 38: 312-315
13. Buñuel S, et al. Los requisitos previos a la donación de la sangre. *Sangre* 1991; 36: 511-14
14. Busch, M.P. et al. Use of third- generation hepatitis C virus (HCV) enzyme immunoassay (EIA) to resolve second- generation HCV EIA- reactive and second- generation recombinant immunoblot assay- indeterminate blood samples: data to support current Food and Drug Administration guidance on HCV lookback. *Transfusion* 2000; 40: 10-14
15. Busch, M.P. y Kleinman, S.H. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. *Transfusion* 2000; 40:143-159
16. Canseco AR, Espinoza CR, Medina GJ, et al. V Jornadas Médicas Internacionales CMN La Raza, Hospital de Infectología, IMSS. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Marzo-Abril, 1997. Vol. 17 No.2
17. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Infectious Diseases, Division of Viral and Rickettsial Diseases Respiratory and Enteric Viruses Branch. Parvovirus B19 Infection (Fifth Disease), September 2000.
18. Couroucé Anne- Marie, Pilonel, Josiane and Saura Christine. Screening of Blood Donations for HTLV-I/II. *Transfusion Medicine Reviews* 1999 ; 13 : 267-274
19. Couroucé Anne- Marie et al. Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period. *Transfusion* 2000; 40: 1198-1202
20. Chapman, J.F. et al. Guidelines on the clinical use of leucocyte-depleted blood components. *Transfusion Medicine* 1998; 8: 59-71

21. Chin, James. El control de las enfermedades transmisibles. Decimoséptima edición. Organización Panamericana de la Salud, 2001
22. Chisari, Francis and Ferrari Carlo. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* 1995; 13: 29-60
23. Chisari, Francis V. Viruses, immunity and cancer: Lessons from hepatitis B. *American Journal of Pathology* 2000; 156: 1118-1132
24. Deiss V, Tratschin, J.D., Weitz M. Cloning of the human Parvovirus B19 genome and structural analysis of its palindromic termini. *Virology* 1990; 175 : 247-254
25. Dodd RY, Sullivan MT. Creutzfeldt-Jakob disease and transfusion safety: tilting at icebergs?. *Transfusion* 1998; 38: 221-3
26. Dominguez Torix, José Luis. Transmisión sanguínea del SIDA. *Salud Pública de México* Julio de 1988; 30, 4: 593-596
27. Donor selection and blood collection. Technical Manual. 13th edition. American Association of Blood Banks. Bethesda Maryland, 1999. Págs. 89-110
28. Drosten, C. et al. Evaluation of a new PCR assay with competitive internal control sequence for blood donor screening. *Transfusion* 2000; 40: 718-724
29. Dufour, Robert and Lott, John. Diagnosis and monitoring of hepatic injury I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clinical chemistry* 2000; 46: 2027-49
30. Eastlund, T. Monetary blood donation incentives and the risk of transfusion-transmitted infection. *Transfusion* 1998; 38: 874-882
31. Eis-Hubinger AM, Sasowski U, Brackmann HH. Parvovirus B19 DNA contamination in coagulation factor VIII products. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; 81: 476-7
32. Escobar Gutiérrez, Alejandro et al. Vacunas, Ciencia y Salud. Secretaría de Salud. México, 1992
33. Fahey, John. Cytokines, plasma immune activation markers, and clinically relevant surrogate markers in Human Immunodeficiency Virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998; 5: 597-603
34. Franchini Genoveffa, Ambinder Richard and Barry Michelé. *Viral Disease in Hematology*. American Society of Hematology. *Hematology* 2000: 409-423
35. Funk, Gleen. Prion research/Creutzfeldt-Jacob Disease (CID) Guidelines. In: *Biosafety manual of University of California San Francisco*. June 1997. Page 148
36. Galel, Susan, *et al*/Prevention of AIDS transmisión through screening of the blood supply. *Annu. Rev. Immunology* 1995; 13: 201-27
37. González A, Esteban. Hepatitis postransfusional. *Sangre* 1993; 38 (3): 193-200
38. Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, Aubuchon JP. *Transfusion medicine. First of two parts*. *N Engl J Med* 1999; 340 (6): 438-447
39. Grifols i Espés. Como promocionar la donación de sangre. *Artes Gráficas*. España, 1990
40. Guerrero RJ, Castañeda MA. Prevalencia y factores de riesgo de la hepatitis C. *Salud Publica de México* 1996; 38:94-98
41. Gunter KC. Transfusion-transmitted citomegalovirus: the part-time pathogen. *Pediatr Pathol Lab Med* 1995; 15 (3): 515-534
42. Gutiérrez C. Hepatitis B virus DNA in blood samples positive for antibodies to core antigen and negative for surface antigen. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1999; 6: 768-770
43. Haase, A.T. Population Biology of HIV-1 Infection: Viral and CD4⁺ T cell demographics and dynamics in Lymphatic Tissues. *Annu. Rev. Immunol.* 1999; 17: 625-56
44. Huerta Alvarado, Sigrifido et al. Hepatitis B y C en un Hospital General del Distrito Federal. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 1997; 17(3): 75-78

45. Inaba S. Efficacy of donor screening for HTLV-I and the natural history of transfusion-transmitted infection. *Transfusion* 1999; 39: 1104-1110.
46. Innis, Michael; Gelfand, David H; Sninsky John. PCR applications Protocols for functional genomics. Academic Press. USA, 1999. 566 págs.
47. Jordan J, et al. Human Parvovirus B19: Prevalence of viral DNA in volunteer Blood donors and clinical outcomes of transfusion recipients. *Vox Sang* 1998; 75: 97-102
48. Juárez Figueroa, Luis. La hepatitis B, una enfermedad de transmisión sexual a un cuarto de siglo de su descubrimiento. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 1995; 15 (1): 25-28
49. Klein H.G. Standards for blood banks and transfusion services. 19th edition. Ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1999. Págs. 10-20
50. Kleinman S. New variant Creutzfeldt-Jakob disease and white cell reduction: risk assessment and decision making in absence of data. *Transfusion* 1999; 39: 920-924
51. Koeningbauer, U. F. et al. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion* 2000; 40: 1203-1206.
52. Kochanowski Bernd; Reischl Udo. Quantitative PCR Protocols. Humana Press Totowa New Jersey. USA, 1999. 304 págs.
53. Koerner K, et al. Estimated risk of transmission of hepatitis C virus by blood transfusion. *Vox Sanguinis* 1998; 74: 213-16
54. Kopko, P. et al. Distinguishing immunosilent AIDS from the acute retroviral syndrome in a frequent blood donor. *Transfusion* 1999; 39: 383-386
55. Larsson, S. et al. Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells from all seropositive and most seronegative healthy blood donors over time. *Transfusion* 1998;38: 1056-1062.
56. Le Corfec E. et al. Direct HIV testing in blood donations: variation of the yield with detection threshold and pool size. *Transfusion* 1999; 39: 1141-1144
57. Lefrère J, et al. Screening blood donations for viral genomes: multicenter study of real-time simulation using pooled samples on the model of hepatitis C virus RNA detection. *Transfusion* 1998; 38: 915-23
58. Legler, Tobias et al. Testing of individual Blood donations for HCV RNA reduces the residual risk of transfusion- transmitted HCV infection. *Transfusion* 2000; 40: 1192-1197
59. León, Pilar y Echevarría, José. Planteamiento y significado de las pruebas de confirmación de presencia de anticuerpo frente al virus de la hepatitis C en donantes de sangre. *Sangre* 1999; 44: 309-14
60. Liang H. Pathogenesis, Natural History, Treatment and Prevention of Virus hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000; 132:296-305
61. Liu H. et al. Sensitivity and specificity of human T- Lymphotropic virus (HTLV) types I and II polymerase chain reaction and several serologic assays in screening a population with a high prevalence of HTLV-II. *Transfusion* 1999; 39: 1185-1193.
62. Loubière, S. et al. Including polymerase chain reaction in screening for hepatitis C virus RNA in blood donations is not cost-effective. *Vox Sanguinis* 2001; 80: 199-204
63. Marlis L. Schroeder. Principles and practice of transfusion medicine. In: Wintrobe's Clinical Hematology. Vol. 1. 10th edition. Ed Lippincott Williams and Wilkins Baltimore, 1999
64. Mc Cance, Kathryn and Huether, Sue. Pathophysiology. The biological basis for disease in adults and children. Third edition. Ed. Mosby. USA, 1998.
65. Mendez-Sánchez Nahum, et al. Prevalencia de hepatitis B y C en donadores de sangre en un hospital de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, Diciembre de 1999; 41, 6: 475-478

66. Mollison PL. Blood transfusion in clinical medicine. 10a. edición. Ed. Blackwell Science Malden, 1997. Págs 1-35.
67. Mollison PL. Infectious Agents transmitted by transfusion. In: Blood Transfusion in clinical medicine. 10th edition. Ed. Blackwell Science, 1997.
68. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-1993, para la Prevención y Control de la Infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana. Secretaría de Salud.
69. Munsterman K, *et al*. Assessment of motivations for return donation among deferred blood donors. *Transfusion* 1998; 38: 45-49
70. Murray, Patrick *et al*. Sección VII Virología. In: Microbiología Médica. Segunda edición. Harcourt Brace. España, 1999
71. National Center for Infectious Diseases Centers for Disease Control and Prevention. Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. April, 2002
72. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de Sangre Humana y sus Componentes con fines terapéuticos". Secretaría de Salud, Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea.
73. Olivares- López Francisco. SIDA asociado con transfusión de sangre. *Salud Pública de México* Junio de 1991; 35, 4: 351-356
74. Página de Internet <http://www.unaids.org> (ONUSIDA)
75. Orton, Sharyn. *et al*. Validation of selected donor-screening questions: structure, content and comprehension. *Transfusion* 2000; 40: 1407-1413
76. Palomares Folia José Carlos y Torres ma. José. Reacción en Cadena de la Polimerasa Termoresistente, Aplicaciones en Microbiología. Universidad de Sevilla. España, 1992.
77. Pappin A. *et al*. Stability of Cytomegalovirus antibodies in plasma during prolonged storage of blood components. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1995; 2: 25-29.
78. Peterson, J. *et al*. Detection of Hepatitis C core antigen in the antibody negative "window" phase of Hepatitis C infection. *Vox Sanguinis* 2000; 78: 80-85
79. Poesz B. J. Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-II infection. *Transfusion* 2000; 40: 924-930.
80. Preiksaitis J. The Cytomegalovirus-"Safe" blood product: Is Leukoreduction equivalent to antibody screening?. *Transfusion Medicine Reviews.* 2000; 14: 112-136.
81. Rabinow Paul. Making PCR, A story of Biotechnology. The University of Chicago Press. USA, 1996. 190 págs.
82. Rickinson, Alan and Moss, Denis. Human cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus infection. *Annu Rev Immunology* 1997; 15: 405-31
83. Robbins, Stanley; Cotran, Ramzi *et al*. Patología estructural y funcional. Sexta edición. Mc Graw Hill- Interamericana. México, 2000
84. Sánchez, Ana *et al*. The potential impact of incentives on future blood donation behavior. *Transfusion* 2001; 41: 172-77
85. Sánchez-Pérez Miguel. Inmunología aplicada y técnicas inmunológicas. Editorial Sintesis. España, 1998. 367 págs.
86. Santagostino E. *et al*. Transmission of Parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100°C heat after lyophilization. *Transfusion* 1997; 37: 517-522
87. Schwartz, Stanley and Nair, Madhavan. Current Concepts in Human Immunodeficiency Virus Infection and AIDS. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1999; 6: 295-305
88. Sepúlveda-Amor Jaime, *et al*. La estrategia de prevención de la transmisión del VIH/SIDA a través de la sangre y sus derivados en México. *Salud Pública de México* Diciembre de 1995; 37,6: 624-635

89. Suoto-Meirño Carlos. Prevalencia de marcadores para hepatitis A,B y C en un hospital de México. Salud Pública de México Junio de 1994; 36, 3: 257-262
90. Specter S, Hodinka RL. Hepatitis viral A, B y C. In: Specter S (3ra. Edición) Washington 2000. pp. 315-318
91. Sugawara Hiroyuki, et al. Inactivation of Parvovirus B19 in coagulation factor concentrates by UVC radiation: assessment by an in vitro infectivity assay using CFU-E derived from peripheral Blood CD34+ cells. Transfusion 2001; 41: 456-461
92. Sullivan, M.T. et al. Identification and characterization of an HIV-2 antibody-positive blood donor in the United States. Transfusion 1998; 38: 189-193
93. Taylor, Clive y Chandrasoma Parakrama. Patología General. 2ª. Edición. Manual Moderno. México,1998.
94. Technical manual of American Association of Blood Banks. 13th edition. Bethesda, Maryland: AABB, c1999.
95. Thomson, R.A., *et al* Retention of "safe" blood donors. Transfusion 1998; 38: 359-66
96. Tobler L.H. et al. Performance of second- and third- generation RIBAs for confirmation of third-generation HCV EIA-reactive blood donations. Transfusion 2000; 40: 917-23
97. Uchiyama, T. Human T cell Leukemia virus type I (HTLV-I) and human diseases. Ann. Rev. Immunol. 1997; 15: 15-37.
98. Velázquez, Oscar. Manual para la vigilancia epidemiológica de las hepatitis virales. Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología. México, 1993
99. Wakamatsu C. et al. Screening of Blood Donors for Human Parvovirus B19 and characterization of the results. Vox Sang 1999; 76: 14-21
100. Watson, Mullis Kary, Ferré Francois, et al. The Polymerase Chain Reaction. Birkhauser Boston. USA, 1994. 456 págs.
101. White Bruce A. PCR Protocols. Humana Press Totowa New Jersey,USA, 1993. 392 págs.
102. Yerly, S. et al. The use of polymerase chain reaction in plasma pools for the concomitant detection of Hepatitis C virus and HIV type 1 RNA. Transfusion 1998; 38: 908-914
103. Yotsuyanagi, Hiroshi, et al. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. Transfusion 2001; 41: 1093-1099
104. Zaia, John et al. Status of Citomegalovirus prevention and treatment in 2000. American Society of Hematology. Hematology 2000: 339-355
105. Zerbini Ma. Luisa, Musiani Mónica. Human Parvoviruses. In: Murray Patrick, Baron Ellen Jo, Pfaller Michael A., Tenover Fred C., eds Manual of Clinical Microbiology. 7th edition. ASM Press Washington. USA, 1999: 1773 pp
106. Zrein, M. et al. Assessment of a New Immunoassay for serological confirmation and discrimination of human T-Cell Lymphotropic virus infections. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1998; 5: 45-49.
107. Zucker, Dorothea et al. Reexamination of human T cell lymphotropic virus (HTLV - I/II) prevalence. Medical Sciences 1997; 94: 6403-6407
108. Página de Internet <http://www.pcrinks.com>