



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSIO VILLEGAS"

**PREVALENCIA DE INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS DETECTADA POR
ANÁLISIS DE PCR EN SANGRE PERIFÉRICA EN NIÑOS EVALUADOS EN LA CLÍNICA DE
IMPLANTE COCLEAR**

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

PRESENTA:
DRA MARIA GABRIELA ESTRELLA

TUTOR:
DRA LISETTE CRISTERNA SANCHEZ

ASESORES:
DR CARLOS CABELLO GUTIERREZ

MEXICO, CIUDAD DE MEXICO

SEPTIEMBRE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. INTRODUCCION

1.1. Citomegalovirus

El citomegalovirus humano, es un miembro prototipo de la subfamilia de los herpes-virus *Betaherpesviridae*, tiene una distribución mundial y las infecciones por este virus son extremadamente comunes. El genoma de doble cadena del tipo salvaje de citomegalovirus humano tiene un tamaño de alrededor de 235 kb, lo cual es más grande que cualquier otro virus de la familia herpes y uno de los más grandes genomas de los virus humanos en general. Tiene la arquitectura genómica característica de los herpesvirus tipo E, que consiste en dos regiones únicas (una región larga RL y una región corta RC), ambas limitadas por un par de repeticiones invertidas (repetición larga interna /terminal y repetición corta terminal/interna). Ambos sets de repeticiones comparten una región de algunos pares de bases, la llamada "secuencia a"; las otras regiones de repeticiones son en algunas ocasiones referidas como "secuencia b" y "secuencia c" (1).

1.2. Infección en humanos

El citomegalovirus (CMV) humano es un patógeno oportunista que afecta de forma importante a las poblaciones inmunocomprometidas. Como todos los virus de la familia Herpes, el citomegalovirus puede desarrollar una infección latente o productiva. Durante la infección productiva, se produce replicación activa, mientras que en la infección latente el virus está en una fase transcripcional quiescente (2). Una de las teorías actuales predominante es que la infección latente se mantiene en los monocitos indiferenciados, por lo cual, esta ampliamente distribuida en varios órganos del cuerpo. La latencia representa el bloqueo de la producción viral a nivel de la expresión del antígeno IE. Este bloqueo es liberado después de la diferenciación de los monocitos, o cual cuando la infección latente puede ser activada para producir la infección viral lítica. (3)

1.2.1. Características clínicas

Más del 90% de las infecciones primarias son asintomáticas en los adultos sanos y en niños,

pero el CMV es una importante causa de morbilidad y mortalidad en individuos inmunocomprometidos, mujeres embarazadas, neonatos e infantes pretérmino.(4). En huéspedes inmunocompetentes, la infección es subclínica, a pesar de lo cual, es responsable de 8% de todos los casos de mononucleosis. Las manifestaciones clínicas de mononucleosis debida a CMV son similares a las provocadas por el virus más común, el de Epstein Barr. Fiebre persistente, mialgia, dolor de cabeza, linfadenopatía cervical, esplenomegalia y síntomas constitucionales no específicos son comunes, y pueden persistir por semanas. El rash está presente en aproximadamente 30% de los pacientes. Las complicaciones poco comunes incluyen neumonía, miocarditis, anemia hemolítica, retinitis, ulceración gastrointestinal, hepatitis, afección del sistema nervioso central y neuropatía periférica. (5)

Del 5-10 % de los neonatos infectados, desarrollan enfermedad por inclusión citomegálica, cuyos síntomas incluyen retraso del crecimiento intrauterino, ictericia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, petequias, corioretinitis y hepatitis, así como compromiso de sistema nervioso central en forma de microcefalia, encefalitis, convulsiones, y signos neurológicos focales. Los estudios prospectivos a largo plazo indican que el 80% de los infantes con infección congénita sintomática, desarrollarán anormalidades neurológicas importantes a lo largo de su vida. El seguimiento tardío muestra que aproximadamente el 15% de los infantes infectados asintomáticos al nacimiento (90-95% son asintomáticos) pueden desarrollar defectos auditivos o afección del desarrollo intelectual.(5)

1.2.2. Vías de transmisión

Hay dos rangos de edad en los cuales la infección es más común. El primero es la infección durante el periodo perinatal (0-2 años). La infección durante este periodo puede ser determinada por seroconversión o por viremia. Las fuentes de la infección de estos niños son el cérvix del útero materno, virus en leche materna y virus presentes en saliva y orina. El CMV del cérvix uterino puede infectar al neonato durante su paso por el canal del parto. La leche materna puede contener carga viral de una madre seropositiva que puede infectar

al neonato. Esto puede ser un problema comunitario en el caso de bancos de leche materna. El CMV en orina y saliva de los infantes y niños pequeños recién infectados puede ser el fómite de infección en guarderías, centro de cuidado y familias numerosas. La infección perinatal por CMV indicado por la presencia de viruria puede alcanzar un porcentaje tan alto como 56% en algunos estudios. La transmisión sexual representa el segundo mecanismo más importante de transmisión horizontal después de la pubertad. La mononucleosis por CMV ha sido epidemiológicamente asociada en parejas heterosexuales (3)

1.2.3. Tamizaje neonatal

Los neonatos con infección congénita por citomegalovirus pueden estar sintomáticos o asintomáticos al nacimiento. La severidad de los resultados adversos a largo plazo varía de forma sustancial, desde déficit mínimos con hipoacusia unilateral sensorineural a complicaciones mayores del neurodesarrollo y muerte en una minoría de neonatos. El tamiz auditivo neonatal, que es realizado actualmente en muchos países desarrollados, detecta de forma exitosa muchos neonatos con daños auditivos congénitos al nacimiento. Sin embargo, cerca del 10% de los neonatos infectados con citomegalovirus, inicialmente asintomáticos, presentan hipoacusia de forma tardía, en el punto en que la capacidad de diagnóstico de citomegalovirus y las oportunidades de la intervención temprana están sustancialmente reducidas. Estudios de Cannon y colaboradores muestran evidencia de que el tamizaje neonatal universal para citomegalovirus podría mejorar de forma significativa el resultado de aquellos niños infectados con el virus que presentan hipoacusia tardía. Esta bien establecido que los infantes con un diagnóstico temprano de hipoacusia desarrollan un lenguaje expresivo y receptivo con mejoría en la función cognitiva que los pacientes con diagnóstico tardío. Por lo tanto, el tamiz neonatal enfocado a detección de CMV (por ejemplo prueba a infantes que no pasaron el tamiz auditivo) y el tamiz neonatal universal de CMV ha sido el centro de investigación durante los últimos años. (6)

1.2.4. Tratamiento

Debido a la falta de evidencia acerca de la toxicidad de los antivirales para tratamiento de

citomegalovirus, la consideración de su uso en los neonatos con infección congénita debe poner en la balanza los riesgos conocidos (tales como neutropenia) y los posibles riesgos (por ejemplo disgenesia gonadal, carcinogénesis) con los beneficios potenciales. Dentro de los antivirales disponibles hasta el momento, el ganciclovir intravenoso y el valganciclovir han sido estudiados para el tratamiento de infantes con infección congénita por citomegalovirus. Los resultados de un ensayo fase 2 publicado en 1997, comparando 8 mg/kg y 12 mg/kg dosis diaria por 6 semanas, mostró que el tratamiento con ganciclovir mejoró de forma significativa o estabilizó la audición en 5 de 30 infantes infectados con una dosis diaria de 12 mg/kg. Un ensayo clínico subsecuente en fase 3 evaluó el resultado de tratamiento con ganciclovir en 6 semanas y luego fueron aleatorizados a recibir placebo o valganciclovir. Los neonatos que recibieron 6 meses de valganciclovir tuvieron un incremento 2.6 veces mayor en la probabilidad de mejoría total de la audición a los 24 meses que aquellos que recibieron únicamente 6 semanas de tratamiento con valganciclovir. Los resultados de neurodesarrollo mejoraron con una mayor duración de tratamiento. El tratamiento con valganciclovir se asoció con neutropenia, a pesar de que la incidencia fue marcadamente menor que lo previamente observado con el ganciclovir intravenoso. El tratamiento con valganciclovir por 6 meses está recomendado para los neonatos con infección congénita con enfermedad sintomática moderada o severa. (6)

1.2.5. Prevención de infección materna durante el embarazo

La prevención de la infección materna por CMV a través de la vacunación ha sido probada en ensayos en fase 2 de una glicoproteína recombinante tipo B en mujeres seronegativas, que mostraron 50% de eficacia para seroconversión materna. Sin embargo, se observó un deterioro inmunológico, lo que cuestiona la eficacia a largo plazo de esta formulación de la vacuna. Un estudio doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo en fase 2 que evaluó la vacuna con glicoproteína B en mujeres adolescentes seronegativas produjo similares resultados, con una eficacia de seroconversión de 45% después de 2 dosis. Varias vacunas para citomegalovirus están bajo desarrollo y realización en ensayos clínicos. Un factor de riesgo particular para infección materna por citomegalovirus es el estrecho contacto con

niños menores de 2 años, dado que la excreción de citomegalovirus en saliva y orina puede continuar por meses o años en los niños pequeños. Los niños pueden tener altos niveles de citomegalovirus, y frecuentemente, adquieren la infección de otros niños, incluyendo los que acuden a centro de cuidado infantil. (6)

La inmunización pasiva con hiperinmunoglobulina ha sido investigada como un posible recurso para prevenir la transmisión al feto de las madres embarazadas con infección primaria por citomegalovirus. A pesar de que 2 estudios, fase 1 y fase 2 respectivamente, controlados, doble ciego, no aleatorizados, controlados con placebo, un estudio controlado aleatorizado, doble ciego controlado con placebo y dos estudios observacionales reportaron evidencia de beneficio y una tendencia hacia la eficacia de la hiperinmunoglobulina, los resultados de esos estudios son inconsistentes y no definitivos, lo cual puede estar relacionado a dosis subóptimas o al intervalo de aplicación. No se reportaron eventos adversos serios debido a la terapia con hiperinmunoglobulina en los tres estudios mencionados. Los resultados de un ensayo aleatorizado no mostró un beneficio significativo para el tratamiento, pero reportaron complicaciones obstétricas (nacimiento pretérmino, preeclampsia y restricción del crecimiento fetal) en 7 (13%) de 53 mujeres que recibieron la hiperinmunoglobulina, comparado con uno (2%) de 51 mujeres en el grupo placebo ($p=0.06$). (6)

1.1. Asociación entre CMV e hipoacusia

El CMV es una causa infecciosa muy importante de pérdida auditiva en niños. Alrededor del 5% de niños con infección congénita de CMV desarrollan pérdida auditiva bilateral moderada a profunda para los 6 años de edad, y más del 15% de los niños desarrollarán algún grado de hipoacusia sensorineural. Tanto para los niños sintomáticos como asintomáticos, muchos autores han notado que la hipoacusia sensorineural se vuelve más evidente después del primer año de vida, con un deterioro dentro de los primeros cuatro años de vida (hipoacusia sensorineural progresiva).(7)

La patogénesis de la pérdida auditiva causada por CMV aún esta en discusión. Los estudios de autopsia de infantes con infección congénita severa por CMV han mostrado que la

hipoacusia sensorineural están en relación a la estructura del hueso temporal lo cual resulta de una infección viral del oído interno.(8)

1.1.1. Aislamiento viral

El CMV humano no podía ser cultivado hasta que las células humanas pudieran crecer en el cultivo. Esto se volvió posible después de que Enders et al, aislaron poliovirus en cultivos celulares humanos embrionario (3).

2. JUSTIFICACION

La Hipoacusia Sensorineural Severa a Profunda es en la actualidad un problema de gran impacto a nivel mundial. En México según los últimos informes del CENETEC en 2009 la hipoacusia es la anomalía congénita más común en el recién nacido, ocurre en 3 de cada 1,000 nacidos y 20% de estos tienen pérdida profunda de la audición (CENETEC).

El citomegalovirus humano es un virus DNA universal específico y es la principal causa de infección viral congénita en pacientes en desarrollo, llevando a deterioro psicomotor e hipoacusia.(4)

Hasta el momento no existen datos disponibles sobre el costo-efectividad de un tamiz neonatal para infección congénita por CMV seguido de una intervención en nuestro país. Sin embargo, existen datos confiables en cuanto al desarrollo de la enfermedad debido a una infección congénita y el número de niños con secuelas permanentes

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección congénita por CMV es considerada la segunda causa más frecuente de pérdida auditiva, después de los factores genéticos. La incidencia es de 0.2–2.2% en recién nacidos y más del 22% en infantes infectados con problemas de sordera. La mayoría de infantes infectados con CMV (90%) tienen infecciones asintomáticas, el 10% son sintomáticos al nacer y el 40% de estos pacientes desarrolla pérdida auditiva neurosensorial. La pérdida auditiva es la manifestación más común de la infección congénita por CMV. Esta puede variar de unilateral, bilateral, media, progresiva o severa. Por sus diversas manifestaciones la infección congénita por CMV presenta altas tasas de morbilidad y mortalidad.

Es difícil el diagnóstico de estos pacientes, en aquellos que son sintomáticos, los síntomas pueden ser inespecíficos y escapar de la evaluación médica si no se tiene la suficiente información, por otro lado la falta de síntomas no permite detectar a tiempo la infección viral y por lo tanto su tratamiento. La enfermedad progresa y los daños son más severos. Cuando los problemas auditivos son severos, se recurre a los implantes cocleares. Los implantes cocleares pueden mejorar la calidad de vida de los niños con problemas auditivos infectados con CMV, sus capacidades auditivas y de habla pueden mejorar.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es la prevalencia de infección congénita por citomegalovirus en niños con hipoacusia sensorineural evaluados en la clínica de implante coclear del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”?

5. HIPOTESIS

La prevalencia de infección congénita por citomegalovirus en niños mexicanos con hipoacusia sensorineural profunda es comparable a la prevalencia encontrada a nivel mundial, en países en vías de desarrollo

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Detectar la prevalencia de infección congénita por citomegalovirus en niños evaluados en la clínica de implante coclear del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

6.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar las diferencias en cuanto a desarrollo de lenguaje en niños con implante coclear infectados con CMV y los que no están infectados.

Determinar el porcentaje de niños con hipoacusia sensorineural que presentan positividad para ADN viral y que desarrollan manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Determinar la diferencia en el desarrollo psicomotor de los pacientes con hipoacusia y evidencia de infección congénita por CMV y los que no tienen infección.

Determinar las diferencias en el lenguaje posterior a rehabilitación fonológica en pacientes con hipoacusia sensorineural profunda que presentan ADN de CMV y los que no lo presentan .

7. MATERIAL Y MÉTODOS

- 7.1. Lugar de estudio. El estudio se llevará a cabo en el Servicio de Otorrinolaringología del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.
- 7.2. Descripción de la población de estudio. Se estudiaron todos los niños con hipoacusia sensorineural que sean evaluados en el comité de implante coclear o que hayan sido implantados en el periodo previo a la realización del estudio, y cuyas madres hayan aceptado de forma voluntaria la extracción de sangre periférico y hayan firmado el consentimiento informado (anexos).
- 7.3. Tipo de muestra. La muestra se tomó por personal médico o de enfermería altamente capacitado, mediante punción a nivel de venas superficiales de pliegue de codo, con jeringas estériles de 3 o 5 cc, previa antisepsia del sitio anatómico. Se emplearon 3 a 5 ml de sangre por punción venosa y se recolectaron en un tubo de tapa lila con EDTA, las cuales se trasladaron al laboratorio de virología para su procesamiento. La separación de las células de sangre periférica se realizará por medio de centrifugación por un gradiente de densidad usando linfoprep (Invitrogen). Las células se alicuotan y se congelan a -70°C hasta su uso.
- 7.4. Extracción de DNA. La extracción del DNA de las células blancas se realizará por medio de un kit comercial (QIAGEN Mini kit DNA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El DNA será diluido a un volumen de 30 µl con agua DEPC.
- 7.5. PCR para determinar CMV. Los oligonucleótidos que serán usados para detectar al virus de CMV, fueron seleccionados de una región altamente conservada del gen que codifica para la proteína de la envoltura gB: oligo derecho (5'-AGG TCT TCA AGG AAC TCA GCA AGA -3' y oligo izquierdo 5'-CGG CAA TCG GTT TGT TGT AAA- 3'. La PCR se realizará en un aparato (Termociclador, Applied Biosystems). Los oligos se diluirán a una concentración de 50 nM. La mezcla se llevará a cabo con los reactivos de un kit para PCR (Quiagen). Las condiciones serán: incubar 2 minutos a 50°C, 10 min a 95°C, posteriormente por 45 ciclos incubar 15 segundos a 95 °C y 1

minuto a 60°C. Se incluirán controles constitutivos (gen constitutivo (b-globina), positivos.

7.6. Revisión de expediente clínico. Se realizó la revisión del expediente clínico de los pacientes que se incluyeron en el estudio, y se realizó una base de datos en formato Excel para recolectar las siguientes variables: patrón de curvas audiométricas, potenciales evocados auditivos de estado estable, antecedente de manifestaciones clínicas de infección por citomegalovirus, desarrollo psicomotor y desarrollo de lenguaje

8. CONSIDERACIONES ETICAS

Para esta investigación, se requirió la autorización de la donación de 3 a 5 ml de sangre del paciente, es el material biológico con el que se va a trabajar. Se separarán las células del plasma y se hará una extracción de DNA para detectar por PCR al virus de citomegalovirus. Este virus se transmite principalmente al nacer por madres infectadas. De acuerdo con la página y a la del CDC el grupo de riesgo de este patógeno corresponde al nivel 2 (BSN 2).

Las muestras son consideradas como material potencialmente infeccioso y se trabajaran en gabinetes de seguridad tipo BSN2. El riesgo es mínimo, no se forman aerosoles y cuando llega a pasar un derrame o salpicadura de biológicos, inmediatamente se limpia y se descontamina la superficie según los lineamientos del manual de bioseguridad. La mayor parte del material que se utiliza es desechable o se descontamina en cloro, el personal está protegido, para evitar contaminarse.

Este estudio permitirá la detección del virus de CMV en pacientes evaluados en el comité de implante coclear, permitirá asociar la infección con la pérdida auditiva, se determinará la importancia del diagnóstico clínico y molecular de la infección por este virus.

9. RESULTADOS

- 9.1. Características de la población de estudio. Se incluyó un total de 38 niños para la realización del estudio, de ellos, 13 fueron de sexo femenino (34.2%) y 25 de sexo masculino (65.7%). La media de la edad de los pacientes fue de 3 años (rango de 1-6 años).
- 9.2. Positividad de PCR de CMV en niños. De los 38 niños evaluados, 18 presentaron PCR de CMV (47.3%) y 20 no presentaron PCR de CMV (52.7%). Al realizar el análisis de las muestras de sangre periférica de las madres de los pacientes, 15 (39.4%) presentaron PCR de CMV y 23 no presentaron PCR (60.5%)
- 9.3. Evidencia de infección sintomática. Se estableció que los pacientes presentan una infección congénita sintomática si tuvieron alguno de los siguientes signos o síntomas durante el periodo pre o perinatal: retraso de crecimiento intrauterino, microcefalia, corioretinitis, petequias, hepatoesplenomegalia, calcificación intracraneal, hidrocefalia, disfunción hepática severa, hiperbilirrubinemia (a expensas de bilirrubina directa). De los 38 pacientes evaluados, 3 presentaron evidencia de infección (7.8%); dos de ellos por hiperbilirrubinemia y uno de ellos por retraso del crecimiento intrauterino.
- 9.4. Desarrollo de lenguaje. Se evaluó el desarrollo del lenguaje durante la intervención de rehabilitación auditiva (auxiliar auditivo o implante coclear) mediante la clasificación de Nottingham, en las siguientes las categorías: preverbal (no intención verbal comunicativa), periverbal (uso de palabras), funcional (uso de frases y secuencias de palabras basados en reglas morfológicas y sintácticas) las cuales se evaluaron antes del inicio de la rehabilitación auditiva, a los 6 y 12 meses. De los pacientes con PCR positiva para CMV, 8 tuvieron un desarrollo de lenguaje a nivel preverbal (44%), 4 tuvieron un desarrollo periverbal (22.2%) y 6 tuvieron un desarrollo funcional (33.3%).
- 9.5. Desarrollo psicomotor. Se evaluó el desarrollo psicomotor tomando en cuenta los principales hitos del desarrollo durante el primer año de vida, tomando como referencia, el sostén cefálico, la sedestación sin apoyo, la realización de pinza, y la

deambulaci3n. De los 18 ni1os con evidencia de PCR de CMV, 10 ni1os tuvieron retraso del desarrollo psicomotor (55.5%) en al menos unos de los principales hitos de desarrollo, mientras que 8 alcanzaron el nivel de desarrollo psicomotor esperado para su edad (44.4%).

10. DISCUSION

Los niños con hipoacusia sensorineural profunda con infección congénita por citomegalovirus, varían ampliamente en sus características clínicas, resultados audiométricos y necesidades eventuales de soporte educacional. La rehabilitación auditiva temprana de estos infantes, bien sea con auxiliares auditivos o con implantes cocleares, es necesaria para asegurar habilidades adecuadas de percepción, así como el desarrollo de las funciones cognitiva y de lenguaje.(7) Estudios previos de varios laboratorios han demostrado que la evidencia de compromiso del sistema nervioso central al nacimiento es un fuerte predictor de déficit motor y cognitivo en niños con infección congénita sintomática. El hallazgo de que la enfermedad diseminada al nacimiento es predictiva de pérdida auditiva, junto con la observación de que el compromiso único del sistema nervioso central no predice la pérdida auditiva, es útil para proveer una consejería más apropiada a los padres de los niños con infección congénita sintomática. Una proporción significativa de los niños con infección congénita e hipoacusia experimentarán un deterioro posnatal progresivo de la audición. En el presente estudio, 9 de los 18 pacientes con evidencia de ADN de CMV (50%), presentaron un deterioro posnatal de la audición. (9).

11. CONCLUSIONES

- La infección congénita por citomegalovirus es la principal causa de hipoacusia sensorineural neonatal no hereditaria a nivel mundial, y en México, su prevalencia es similar a la encontrada en los países en vías de desarrollo (47.3% de los niños estudiados).
- El desarrollo de lenguaje en los niños con infección congénita por citomegalovirus que recibieron implantación coclear, fue peor que el observado en niños con hipoacusia sin evidencia serológica de ADN viral.
- El desarrollo psicomotor durante el primer año de vida en niños con infección congénita por citomegalovirus fue peor comparado con el desarrollo psicomotor de los pacientes con hipoacusia sensorineural sin evidencia de infección congénita por CMV.

12. BIBLIOGRAFIA:

1. Sijmons S, Van Ranst M, Maes P. Genomic and functional characteristics of human cytomegalovirus revealed by next-generation sequencing. *Viruses*. 2014.
2. Strang BL. Viral and cellular subnuclear structures in human cytomegalovirus-infected cells. *Journal of General Virology*. 2015.
3. Ho M. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Medical Microbiology and Immunology*. 2008.
4. Lanari M. Neonatal Cytomegalovirus Blood Load and Risk of Sequelae in Symptomatic and Asymptomatic Congenitally Infected Newborns. *Pediatrics*. 2006;
5. Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacol Ther*. 2003;
6. Rawlinson WD, Boppana SB, Fowler KB, Kimberlin DW, Lazzarotto T, Alain S, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. *The Lancet Infectious Diseases*. 2017.
7. Ciorba A, Bovo R, Trevisi P, Bianchini C, Arboretti R, Martini A. Rehabilitation and outcome of severe profound deafness in a group of 16 infants affected by congenital cytomegalovirus infection. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2009;
8. Grosse SD, Ross DS, Dollard SC. Congenital cytomegalovirus (CMV) infection as a cause of permanent bilateral hearing loss: A quantitative assessment. *Journal of Clinical Virology*. 2008.
9. Rivera LB, Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Predictors of Hearing Loss in Children With Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics*. 2002;

13. ANEXOS

13.1. DESGLOSE DE RECURSOS HUMANOS Y TÉCNICOS REQUERIDOS PARA EL ESTUDIO

Especificar aquellos que requieran ser autorizados por la Subdirección de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Paramédicos

RECURSO	NÚMERO REQUERIDO	ORIGEN O SITIO DONDE SE REALIZA	FUENTE DEL FINANCIAMIENTO
Kit de extracción de DNA (QUIAGEN)	3	Depto Virología	INER
Kit para PCR (QUIAGEN)	3	Depto. Virología	INER
Linfoprep (Invitrogen)	1	Depto. Virología	INER
TAE (Biorad)	2 L	Depto. Virología	INER
Agarosa (Sigma)	500 gr	Depto. Virología	INER
PBS (Invitrogen)	2 L	Depto. Virología	INER
Gel RED (Biotum)	1	Depto. Virología	INER
Oligonucleótidos para CMV	1 par	Depto. Virología	INER
Oligonucleótidos constitutivos	1 par	Depto. Virología	INER
Tubos vacutainer con heparina	300 pzas	Depto. Virología	INER
Tubos eppendor para PCR	300 pzas	Depto. Virología	INER
Tubos eppendor de 2 ml	300 pzas	Depto. Virología	INER
Tubos falcon de 15 ml	300 pzas	Depto. Virología	INER

13.2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES O TUTORES DE PACIENTES CON HIPOACUSIA SENSORINEURAL PROFUNDA

Prevalencia de infección congénita por Citomegalovirus detectada por análisis de PCR en sangre periférica en niños evaluados en el comité de implante coclear del departamento de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello

Patrocinador: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas"

Sitio de investigación: Departamento de investigación en Virología y Micología

Participantes:

Dra Lisette Cristerna Sánchez, **Médico adscrito al Departamento de Otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello**

Dr. Carlos Cabello Gutiérrez, **Jefe del Departamento de investigación en virología y micología**, carloscginer@gmail.com

M.C. Dora Patricia Rosete Olvera, Investigador en Ciencias Medicas C, Adscrita al Departamento de Investigación en Virología. dorosete67@yahoo.com.mx

Dra María Gabriela Estrella Ortega. **Residente de especialidad de Otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello**, gabiecu23@gmail.com

Datos de contactos: Tel: 54871700 Ext 5121 gabiecu23@gmail.com

Ext. 5123 carloscginer@gmail.com

PREVALENCIA DE INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS DETECTADA POR ANÁLISIS DE PCR EN SANGRE PERIFÉRICA EN NIÑOS EVALUADOS EN EL COMITÉ DE IMPLANTE COCLEAR DEL DEPARTAMENTO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRURGÍA DE CABEZA Y CUELLO

RESUMEN DEL ESTUDIO:

Esta es una invitación para participar como voluntario para la obtención de muestras de sangre periférica, con el fin de determinar la presencia de material genético (ADN) de Citomegalovirus humano (CMV)

Para la realización del presente estudio se obtendrá muestras de sangre del paciente y de la madre (en los casos en que esto sea posible), las muestras se almacenarán en congelación y solo se utilizará para la realización del presente estudio. Este estudio se realizará en el Departamento de Investigación en Virología y Micología y estará registrado como un protocolo de investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” (INER). Ninguna empresa farmacéutica ni alguna otra compañía privada tienen o tendrán participación directa o indirecta en esta investigación. Los datos obtenidos en este estudio servirán para saber cual es la prevalencia del CMV en estos pacientes y tendrán como proposito final la publicación del trabajo en revistas científica arbitrada.

RIESGOS Y MOLESTIAS

Para este proyecto es necesario tomarle al niño/niña y su madre (en el caso en que esto sea posible) una muestra biológica (sangre). La autorización que le estamos solicitando es para hacer uso de las muestras de sangre de ambos (si aplica). Este procedimiento se realizará bajo medidas de asepsia y antisepsia por personal calificado. Todos los instrumentos como agujas, jeringas y tubos son nuevos y estériles que se usan una sola vez y se descartan. En el lugar de la toma de la muestra de sangre puede formarse un pequeño moretón y causar dolor de pequeña intensidad, que desaparece en el trascurso de pocos días.

PREVALENCIA DE INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS
DETECTADA POR ANÁLISIS DE PCR EN SANGRE PERIFÉRICA EN NIÑOS
EVALUADOS EN EL COMITÉ DE IMPLANTE COCLEAR DEL DEPARTAMENTO
DE OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRURGÍA DE CABEZA Y CUELLO

CONSENTIMIENTO

Tengo el documento de la forma de consentimiento informado. Me han explicado los métodos y procedimientos que me realizarán en este estudio. He hablado directamente con _____ quien ha respondido a mi satisfacción todas mis preguntas respecto a este estudio. Todas mis dudas han sido aclaradas. En particular, se me ha informado y acepto donar muestras de sangre.

Doy mi consentimiento de mi participación en esta investigación para que se tome una muestra de sangre de aproximadamente 10 ml. Así mismo, se me ha informado que mi participación es voluntaria, por lo que puedo cancelarla o retirarme en el momento que yo lo decida sin que mi decisión repercute en la atención médica que el instituto me pueda brindar.

Recibo una copia firmada y fechada de este consentimiento

Al firmar este consentimiento, no he renunciado a algunos de mis derechos legales a los que tendría como paciente en un estudio de investigación.

En caso de tener alguna duda, puedo ponerme en contacto con la Dra María Gabriela Estrella Ortega, investigador principal del presente estudio, al teléfono 54871700 Ext 5121.

Autorizo utilizar la muestra de sangre de mi hijo/hija (en caso de que no sea padre o madre lo realizará el representante o tutor legal) para la realización de este estudio únicamente.

SI _____ NO _____

Autorizo utilizar la muestra de sangre de mi persona (aplica únicamente en caso de obtener muestra a la madre)

SI _____ NO _____

PREVALENCIA DE INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS
DETECTADA POR ANÁLISIS DE PCR EN SANGRE PERIFÉRICA EN NIÑOS
EVALUADOS EN EL COMITÉ DE IMPLANTE COCLEAR DEL DEPARTAMENTO
DE OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRURGÍA DE CABEZA Y CUELLO

NOMBRE DEL PACIENTE _____

FIRMA DE MADRE/PADRE/TUTOR O REPRESENTANTE LEGAL _____

NOMBRE DEL TESTIGO 1 _____

RELACION CON EL PACIENTE _____

FIRMA DEL TESTIGO 1 _____ FECHA _____

DIRECCIÓN DEL TESTIGO 1 _____

NOMBRE DEL TESTIGO 2 _____

RELACION CON EL PACIENTE _____

FIRMA DEL TESTIGO 2 _____ FECHA _____

DIRECCIÓN DEL TESTIGO 2 _____

RECIBO UNA COPIA FIRMADA Y FECHADA DE ESTE CONSENTIMIENTO

FECHA _____

NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR _____

TELEFONO DE CONTACTO _____