



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE ENFERMERÍA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA



“DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO
ASOCIADOS A LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS
EN SAN LUIS POTOSÍ”

T E S I S

Para obtener el grado de Maestro en Salud Pública

PRESENTA:

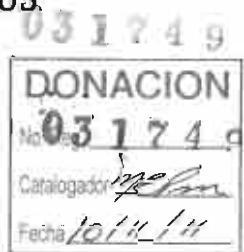
QFB. Sergio Olimpo Rodríguez Vidal

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Daniel E. Noyola Cherpitel

CO ASESORA:

MCA. G. Patricia Muñiz Carreón



Resumen

Objetivo. Determinar la prevalencia de la infección congénita por hCMV en San Luis Potosí y los factores demográficos que se asocian a la presencia de la infección utilizando una técnica de diagnóstico molecular.

Material y métodos. Investigación epidemiológica, descriptiva, transversal y retrospectiva. Se analizó una muestra aleatoria de 1,457 tarjetas de papel filtro seleccionado entre las 26,186 tarjetas de papel filtro recabadas durante el periodo de junio de 2008 a mayo de 2009 por el programa de Tamiz Neonatal de los Servicios de Salud en el Estado para corroborar la presencia de infección congénita por CMV a través de un ensayo de PCR.

Resultados. Se confirmó la presencia de infección por CMV en 10 (0.68%) de las 1,457 tarjetas analizadas. Las características de los niños afectados fueron las siguientes: edad materna de 23.3 años (mediana), peso promedio al nacer de 3,278 gramos, promedio de la talla al nacimiento de 51 cm. Se observó la mayor prevalencia en la Zona del Altiplano (2.8%) en comparación con la Zona Media (1.1%), Zona Huasteca (0.7%) y Zona Centro (0.3%). Las características de los recién nacidos afectados y de sus madres fueron similares a las de los recién nacidos sin infección.

Conclusiones. El uso de sangre seca en papel filtro es útil para el tamizaje de la infección congénita por citomegalovirus.

Palabras clave: Citomegalovirus humano, tamiz neonatal, infección congénita.

Dedicatorias

Dedicado a mi familia por el apoyo incondicional para poder llevar a cabo mis actividades académicas.

Agradecimientos

A mi Director, Co-asesor y Maestros por la ayuda en el cumplimiento de mis metas académicas y el desarrollo de la presente tesis.

A los Servicios de Salud de San Luis Potosí y las autoridades correspondientes involucradas en el otorgamiento de las facilidades para la realización de la Maestría en Salud Pública.

Este proyecto fue realizado con el apoyo del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (Proyecto CONACYT-SALUD-2009-01-115487).

ÍNDICE

		PÁGINA
	Resumen	i
	Dedicatorias	ii
	Agradecimientos	ii
	Índice	iii
	Índice de figuras	iv
	Índice de cuadros y tablas	iv
I	INTRODUCCIÓN	1
II	JUSTIFICACIÓN	4
III	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	5
IV.	MARCO TEORICO	5
	Generalidades	5
	Epidemiología	7
	Transmisión	8
	Patogénesis	9
	Manifestaciones clínicas	9
	Infección congénita por CMV	10
	Pronóstico de la infección congénita por CMV	11
	Diagnóstico de la infección congénita por CMV	12
V.	OBJETIVOS	14
VI.	METODOLOGÍA	14
VII.	CONSIDERACIONES ÉTICAS Y LEGALES	24
VIII.	RESULTADOS	25
IX.	DISCUSIÓN	30
X.	CONCLUSIONES	33
XI.	COMENTARIOS Y RECOMENDACIONES	33
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

XIII. ANEXOS

Instrumento "Base de datos Maestría 2008-2009

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

Figura 1	Distribución geográfica de la infección congénita en SLP	29
----------	----------------------------------------------------------	----

ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS

Cuadro 1	Definición de las variables de estudio	17
Cuadro 2	Mezcla de reacción para la PCR.	21
Tabla 1	Características de los recién nacidos evaluados para detectar la presencia de infección congénita por CMV	25
Tabla 2	Características de los recién nacidos y madres	26
Tabla 3	Distribución geográfica de las muestras estudiadas.	26
Tabla 4	Características de recién nacidos con y sin infección por CMV	27
Tabla 5	Prevalencia de infección congénita por CMV por zona geográfica	28
Tabla 6	Características maternas y del recién nacido en casos con y sin infección por CMV	29
Tabla 7	Distribución de la infección según el número de gesta	29

I. INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus humano (hCMV) fue aislado por primera vez en 1956 por varios grupos de investigadores. Weller lo nombró como se le conoce ahora en 1960 (1). En 1966 se identificó como agente etiológico del síndrome mononucleósico post-transfusional, estableciéndose como una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunosuprimidos en las décadas de los 70's y 80's (2). El hCMV pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Betaherpesvirinae*; su distribución es mundial y no tiene fluctuaciones estacionales. Este virus se encuentra frecuentemente en fluidos corporales como orina, saliva, leche, sangre, lágrimas, semen y fluidos vaginales (3). Como el resto de este tipo de virus, después de la infección primaria el hCMV permanece latente durante toda la vida y puede reactivarse en momentos de inmunosupresión. La infección aguda se caracteriza por ser autolimitada con malestar general y fiebre. El hCMV humano solo infecta a los humanos; por lo tanto, no hay reservorio animal (4). Se encuentra diseminado por todo el mundo en todos los grupos socioeconómicos y geográficos. En México la seroprevalencia reportada en adultos jóvenes es superior al 90%(5).

El hCMV se considera como la causa más común de infección congénita. La prevalencia mundial de la infección en el recién nacido es de 0.2-2.4 %(6, 7). Es la más frecuente de las infecciones virales congénitas en los países de la comunidad Europea y los Estados Unidos y es una de las principales causas de retardo mental y sordera (8). En San Luis Potosí la incidencia reportada de infección congénita por hCMV en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" es de 0.89%(9).

A pesar de ser un virus distribuido ampliamente en la población, el conocimiento del público en general respecto al impacto de este agente sobre el recién nacido es escaso. En un estudio realizado en siete áreas geográficas de los

Estados Unidos (Atlanta, GA; Birmingham, AL; Cleveland, OH; Provo, UT; Richmond, VA; Chicago, IL; y Houston TX) se investigó el conocimiento y conciencia sobre la infección congénita de hCMV (10). Los resultados obtenidos en dicha investigación indican que solamente el 22% de las 643 mujeres encuestadas habían oído hablar del hCMV y que la conciencia sobre este problema aumentaba conforme aumentaban los niveles de educación de una manera significativa. Además encontraron que las personas que habían trabajado como profesionales de la salud tenían una mayor conciencia de la infección que las mujeres que se dedicaban a otras actividades. Las mujeres conscientes de la importancia de esta infección habían obtenido la información de un profesional de la salud. Estos resultados muestran que el conocimiento del público en general respecto al impacto de esta infección es poco, a pesar de que se estima que el número de niños con discapacidades a consecuencia de esta infección es mayor que el producido por otros padecimientos más conocidos, como el Síndrome de Down (10).

Otra investigación realizada recientemente en Europa menciona que la carga de la enfermedad de la infección congénita por hCMV es similar a la de la infección de la rubeola antes de ser implementado un esquema de vacunación (11). Por otro lado, en la década de los noventa el Sistema de Salud de los Estados Unidos estimó un costo de 300,000 dólares por año por niño asociado a la infección por hCMV (11).

En México se cuenta con escasa información respecto a la prevalencia de la infección congénita por hCMV, así como de los factores de riesgo para adquirirla. Estos aspectos son de importancia ya que existen intervenciones que pueden instituirse para reducir el impacto de las secuelas generadas por esta infección. Además, actualmente se estudian diversas estrategias (inmunización pasiva e inmunización activa) para reducir la frecuencia y secuelas relacionadas a este virus. Por lo tanto, es necesario conocer las características y distribución de esta infección en nuestra población que nos permitan establecer el impacto de la enfermedad.

Por lo anterior, se consideró necesario realizar un estudio descriptivo, correlacional, con el fin de determinar la prevalencia de esta infección en el estado de San Luis Potosí, así como la caracterización de los factores de riesgo asociados. Para ello, utilizamos una técnica de biología molecular para la detección del ADN viral en sangre seca en papel filtro de recién nacidos de todas las regiones del estado.

La presente tesis incluye la justificación, la cual describe la magnitud y trascendencia del problema a tratar, la argumentación para la realización de este proyecto, además de abordar la importancia sobre el conocimiento y la conciencia de esta infección en la población con el fin de promover la generación de información que permita tomar decisiones en torno a la factibilidad de implementar intervenciones de prevención en los grupos con mayor riesgo.

El marco teórico detalla generalidades sobre el virus así como aspectos epidemiológicos, transmisión, patogénesis, características de la infección congénita y pronóstico, además de la experiencia previa de investigadores en el diagnóstico utilizando sangre seca en papel filtro, que sirvieron para la argumentación del presente estudio.

Se detallan los objetivos planteados, metodología usada y las consideraciones ético-legales observadas.

Se presentan los resultados de acuerdo a los objetivos planteados además de su discusión, conclusiones y recomendaciones derivadas de los resultados obtenidos en el presente trabajo.

II. JUSTIFICACIÓN

Aproximadamente 1% de todos los niños que nacen cada año en Estados Unidos de América y, en promedio, a nivel mundial tienen la infección congénita por hCMV. En muchos niños con este tipo de infección se producen secuelas neurológicas permanentes como retraso mental, discapacidades motoras, sordera y ceguera (12,13,14,15). Entre los recién nacidos con infección sintomática (10% de aquellos con infección congénita) el riesgo de secuelas es elevado (mayor a 50%). Entre los recién nacidos asintomáticos al momento de nacer (90% de los recién nacidos infectados) el riesgo de secuelas oscila entre 5 y 17%. En este último grupo la secuela más común es la pérdida auditiva neurosensorial progresiva; también se han reportado otras alteraciones neurológicas y del desarrollo entre estos pacientes (16,17).

Actualmente el método de referencia o estándar de oro para el diagnóstico de infección congénita por hCMV sigue siendo la detección de la presencia del virus en cultivo viral de orina o saliva. Sin embargo, el uso de este método cuenta con algunas desventajas: 1) Para la recolección de orina es necesario el uso de bolsas que se encuentran en contacto con la región perineal por muy largo tiempo, lo que dificulta la obtención de orina estéril en los recién nacidos; 2) Se requiere recolectar, transportar y almacenar las muestras utilizando una red fría para que el virus persista viable para su aislamiento en cultivo; 3) Es necesario contar con un laboratorio especializado en cultivo viral; 4) Puede ser necesario de tres a seis semanas para obtener un resultado positivo en cultivo viral. Por lo tanto, el desarrollo e implementación de metodologías alternativas que reduzcan los costos, faciliten el procesamiento de las muestras y proporcionen resultados rápidos para el diagnóstico de la infección congénita por hCMV sería de gran utilidad.

La infección congénita por hCMV es una de las formas más común de infección intra-uterina a nivel mundial. La información sobre la frecuencia, grupos de riesgo y evolución de esta infección en México es muy reducida. Una de las principales

limitantes para obtener esta información es la falta de métodos de diagnósticos rápidos y sensibles para identificar de una manera confiable la infección. Por otro lado, la identificación de factores de riesgo asociados a la infección por hCMV podría permitir una detección oportuna y establecer intervenciones de forma más eficiente con el fin de ofrecer la atención adecuada.

La detección de ADN de hCMV en sangre seca para el diagnóstico de infección por este virus ofrece varias ventajas potenciales: 1) Alta sensibilidad y especificidad para la detección del virus; 2) Rapidez en la obtención de resultados; 3) Permite el estudio retrospectivo de muestras obtenidas al nacimiento y almacenadas en papel filtro; 4) Faculta el estudiar la prevalencia de infección congénita por hCMV en áreas geográficas que no cuentan con laboratorios de virología, ya que las muestras almacenadas en papel filtro no requieren de refrigeración y pueden ser enviadas para su estudio a centros de referencia sin la necesidad de servicios especializados de mensajería; 5) Podrían permitir la incorporación de un programa de tamizaje de infección congénita por hCMV a otros programas de tamizaje neonatal que ya se encuentran instituidos en nuestro país(18,19,20).

III. Pregunta de investigación

¿Cuál es la prevalencia de la infección congénita por CMV en el estado de San Luis Potosí?

IV. MARCO TEÓRICO

El presente apartado resalta el impacto que representa la infección congénita por hCMV en el mundo y, en especial, la poca información que de ésta existe en nuestro país. Asimismo, se sustenta la necesidad de contar con datos sobre su prevalencia y los factores de riesgo asociados a su transmisión y al desarrollo de secuelas en los recién nacidos afectados. Por último, se abordan las dificultades que existen en el diagnóstico de este padecimiento.

1. Generalidades

El hCMV es un microorganismo patógeno humano frecuente, el cual infecta del 0.4 al 2.3% de todos los recién nacidos y, posteriormente, a una gran proporción de la población (5). Aproximadamente entre el 50 y 100% de la población adulta muestra evidencia serológica de infección previa por este organismo (13). Por lo tanto, es un patógeno importante debido a su capacidad de producir infecciones congénitas y adquiridas.

El hCMV es un virus envuelto, de simetría icosaédrica, ADN de doble cadena, de aproximadamente 200 nanómetros de diámetro, cuyo genoma está conformado por aproximadamente 235 Kilobases. Es miembro de la familia *Herpesviridae*. Los *Herpesviridae* se subdividen en tres subfamilias: *Alfaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* y *Gammaherpesvirinae*. Debido al tamaño de su genoma, su contenido de guanosina-citosina, su crecimiento lento y su efecto citomegálico, el hCMV ha sido catalogado como perteneciente a la subfamilia *Betaherpesvirinae*. También es conocido como herpes virus humano 5 (22). Además de los herpesvirus que infectan al humano, existen otros virus de esta familia que afectan a otras especies. Sin embargo, la susceptibilidad a ellos es específica de especie, por lo que el hCMV humano se replica solamente en células humanas. Los fibroblastos, células epiteliales, macrófagos y otras células permiten la replicación del hCMV (21).

La infección por hCMV produce diversas alteraciones en las células afectadas, siendo las más características el desarrollo de citomegalia asociada a la presencia de cuerpos de inclusión. En 1881 Ribbert fue el primero en observar inclusiones dentro de las células. Goodpasture y Talbert en 1921 sugirieron que la citomegalia podría ser causada por un agente viral. En 1950, Smith y Vellios observaron que la infección con las características actualmente conocidas para hCMV podía ocurrir in útero. La utilización de la citología exfoliativa permitió la identificación de células características en la orina de niños infectados. Smith en 1956, Rowe y col. en 1956, y Weller y col. en 1957 aislaron independientemente al hCMV. En 1960,

Weller y col. propusieron el término de “citomegalovirus” y posteriormente aislaron al hCMV de orina de niños con enfermedad generalizada (23).

Una vez que un sujeto padece de infección por hCMV se establece una infección persistente y latente, habitualmente sin provocar síntomas. No existe un sitio único de latencia para este virus; estudios tisulares de biopsias o autopsias han logrado aislarlo de diferentes tejidos, tales como: endotelio, músculo liso, sistema nervioso central (SNC), retina, fibroblastos y macrófagos. El virus puede reactivarse durante episodios de inmunodepresión (por ejemplo, con el uso de corticoides, en pacientes con infección por virus de inmunodeficiencia humana o en pacientes trasplantados). De particular relevancia es la reactivación que puede presentarse durante el embarazo, ya que ésta puede resultar en la transmisión transplacentaria del virus y la afección al feto en desarrollo.

En la mayoría de los casos el virus se replica y se excreta sin provocar síntomas. La replicación del hCMV en las células epiteliales de diversos órganos facilita la secreción del virus en la mayoría de los líquidos corporales (tales como saliva, orina, semen y leche materna), a través de los cuales puede transmitirse. Por otro lado, se ha corroborado que el virus también puede transmitirse mediante transfusiones sanguíneas y trasplante de órganos. La infección causada por el hCMV raramente origina síntomas en el sujeto inmunocompetente; sin embargo, puede dar lugar a una enfermedad grave en el individuo inmunodeficiente, como un paciente con SIDA o en el recién nacido debido a la inmadurez de su sistema inmune (5).

2. Epidemiología

El hCMV humano tiene una amplia distribución mundial, siendo el humano el único reservorio de este virus. La prevalencia de anticuerpos IgG contra el virus se incrementa con la edad, pero puede ser influenciada por la zona geográfica y el estado socio-cultural, encontrándose mayor prevalencia (80-100%) en los adultos de los países subdesarrollados en comparación con los adultos de países desarrollados (40-60%) (24). Estas diferencias son especialmente marcadas

durante la infancia. Datos de México, Sudamérica y África señalan una seroprevalencia en niños preescolares tan alta como del 95-100%, en comparación con la seroprevalencia de países como Inglaterra o Estados Unidos en donde la infección por hCMV para este grupo de edad no sobrepasa el 20%(5). Sin embargo, en países desarrollados se observa un aumento progresivo de la seroprevalencia de anticuerpos contra hCMV a partir de la adolescencia llegando a encontrarse evidencia de infección previa por este virus en cerca del 100% de los adultos mayores (25).

3. Transmisión

Existen muchas vías de transmisión ya que el hCMV se excreta en múltiples secreciones, de ahí la diversidad en las características epidemiológicas y clínicas que pueden presentarse. Puede transmitirse en forma vertical, ya sea durante el periodo prenatal (a través de la placenta), perinatal (por contacto con secreciones vaginales al momento del parto) o posnatal (a través de la leche materna). La prevalencia de la infección congénita por hCMV reportada a nivel mundial oscila del 0.4% al 2.3% en los recién nacidos vivos (35). El riesgo de infección intrauterina ocurre de manera más frecuente durante los primeros meses de embarazo. Asimismo, cuando ocurre una infección primaria en la mujer embarazada el riesgo de transmisión es más elevado, siendo éste del 30-50%; en estos casos el riesgo de que se presenten anomalías en el recién nacido es de aproximadamente 10 a 15%. Cuando se desarrolla una reactivación de la infección durante el embarazo el riesgo de infección fetal es del 0.2 al 1.8%; además, dado que existe un efecto protector de los anticuerpos maternos, se observa una disminución en la morbilidad y mortalidad en los recién nacidos que adquirieron la infección tras la reactivación viral.

Durante el parto puede existir contacto de las secreciones maternas infectadas como la orina, secreciones cérvico-vaginales y la saliva desarrollándose la forma perinatal, la cual se presenta en el 20-40% de los recién nacidos. Además, existe un periodo (dos semanas a dos meses después del parto) en el cual la secreción

viral en la leche materna puede conducir a la transmisión de este virus; ésta ocurre aproximadamente en el 40-60% de los niños en los que la lactancia se prolonga por más de un mes.

Los niños que asisten a guarderías pueden infectarse y excretar el virus hasta por más de un año en orina y 7 meses en saliva. En la infección congénita, perinatal o postnatal la excreción viral puede persistir por varios años; es así como la transmisión horizontal se ve favorecida por el contacto directo o indirecto de persona a persona. Durante el inicio de la actividad sexual en los adolescentes la transmisión sexual, a través de las secreciones cervicouterinas y el semen, explica el aumento en la prevalencia de anticuerpos y puede presentarse la reinfección por otra cepa diferente de hCMV; esto se debe a que no se desarrolla inmunidad cruzada entre las diferentes cepas de hCMV.

La frecuencia de la transmisión de hCMV debida a trasplantes y transfusiones sanguíneas es del 15-17%; en recién nacidos prematuros o hijos de madres seronegativas para hCMV esta cifra puede ser mayor asociándose este mecanismo de transmisión con una alta morbilidad en niños.

4. Patogénesis

Las células epiteliales de la orofaringe suelen ser el sitio de reproducción primaria del hCMV durante la infección primaria de una persona sana. Posteriormente el virus se disemina por vía linfática afectando a los leucocitos; una vez que se han infectado estas células se presenta la viremia. De esta forma la infección puede establecerse en riñón, pulmón, parénquima cerebral, páncreas, hígado, ojos, ganglios linfáticos, corazón, piel, huesos, genitales, esófago, intestino, glándulas salivales y en la placenta de la mujer embarazada. En fetos, neonatos, personas con trasplante y, en general, a aquellos que presentan un compromiso de tipo inmunológico la enfermedad es más frecuente, ya que la respuesta celular juega un papel muy importante en el control de la infección.

5. Manifestaciones clínicas

Una vez producida la infección primaria por hCMV el virus permanece latente por periodos largos y el virus puede ser excretado en forma intermitente en la saliva, leche, heces, semen y cérvix. Los síntomas clínicos en pacientes inmunocompetentes son raros. Las manifestaciones más frecuentes en este grupo de pacientes son las de un cuadro infeccioso de vías aéreas superiores así como el llamado síndrome mononucleósico, el cual es confundido con la infección por el virus de Epstein-Barr.

Los pacientes trasplantados presentan una alta morbilidad a causa de infecciones severas principalmente neumonías y afecciones del tracto gastrointestinal. En pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana la retinitis causada por hCMV puede incluso llevar a la ceguera.

La infección primaria durante el embarazo tiene repercusiones importantes ya que existe un riesgo de 30 a 50% de transmisión del virus al producto (26). La reactivación del virus se asocia a un menor riesgo de transmisión. En estas circunstancias, cuando el virus atraviesa la placenta e infecta al producto, puede producirse daño neurológico y auditivo además de múltiples síntomas en el recién nacido.

6. Infección congénita por hCMV

El hCMV es la causa más frecuente de infección congénita en humanos. Aproximadamente el 0.2-2.4% de todos los recién nacidos padecen de infección por hCMV al momento del nacimiento. El 10% de los niños con infección congénita presentan evidencias clínicas de la enfermedad como manifestaciones neurológicas, hematológicas y retraso del desarrollo (infección congénita por hCMV sintomática) (26).

La infección congénita por hCMV puede seguir a la infección primaria o bien a la reactivación de la infección materna. Sin embargo, la enfermedad clínica en el feto o en el recién nacido se relaciona más frecuentemente con infecciones maternas primarias. Aunque la presencia de anticuerpos maternos contra hCMV se asocia a

una menor probabilidad de enfermedad grave, se desconocen todos los factores que determinan la gravedad de la infección congénita. Una capacidad deficiente para producir anticuerpos neutralizantes y para generar respuestas de células T al hCMV se asocia con una enfermedad de mayor gravedad en el recién nacido (27). En diversos estudios se ha reportado que existe mayor incidencia de infección congénita por hCMV en mujeres jóvenes primigestas, las cuales se encuentran en edad de máxima relación sexual. En países con baja seroprevalencia a hCMV estas mujeres tienen riesgo potencial de padecer infección primaria por hCMV. También se ha observado que mujeres de estratos socio-económicos bajos, así como aquellas que habitan en zonas rurales tienen mayor riesgo de transmitir la infección al recién nacido (9).

La sintomatología en el recién nacido se caracteriza por compromiso en múltiples órganos, principalmente sistema reticuloendotelial y SNC. Los hallazgos más frecuentes son: prematuridad (34%), retraso del crecimiento intra-uterino (50%), petequias (76%), púrpura (60%), hepatoesplenomegalia (67%), ictericia (67%) y alteraciones neurológicas (entre las que se incluyen microcefalia, letargia e hipotonía; 68%) (13).

Los defectos oculares pueden ser diversos; la anomalía ocular más común en recién nacidos con infección congénita es la coriorretinitis, seguida del estrabismo, la atrofia óptica, la microftalmia y las cataratas (13). Estudios de laboratorio reportan, anemia hemolítica, hiperbilirrubinemia con bilirrubina directa >2 mg/dl. La magnitud del daño prenatal es medida por la presencia de microcefalia con o sin calcificaciones cerebrales, retraso del crecimiento intra-uterino y prematuridad.

7. Pronóstico de la infección congénita por hCMV

Las infecciones fetales tienen características variables, desde las menos severas, que suelen pasar desapercibidas, hasta las graves y diseminadas. El pronóstico en los lactantes con infección grave es desfavorable; la tasa de mortalidad es variable, pero se ha reportado entre el 10 y 20% (13). Pocos supervivientes de la

enfermedad sintomática escapan del deterioro intelectual o de la hipoacusia más tarde en la niñez (9).

Existen varios factores presentes durante el nacimiento en niños sintomáticos que pueden establecer un pronóstico en relación al desarrollo neurológico posterior del niño. Por ejemplo, la presencia de microcefalia al nacimiento tiene un 100% de especificidad para predecir el desarrollo de retardo mental y un 92% de especificidad para predecir el desarrollo de déficits motores (28). La presencia de anomalías en estudios de tomografía axial computarizada (TAC) de cráneo es de utilidad para establecer un pronóstico; sin embargo, no todos los niños que presentan anomalías como microcalcificaciones y alteraciones en sustancia blanca van a desarrollar retardo mental (28). Se ha observado que los recién nacidos sin microcefalia y con TAC normal suelen desarrollar un coeficiente intelectual >70; por lo tanto, dichos resultados se relacionan con un desarrollo neurológico normal (28).

8. Diagnóstico de la infección congénita por hCMV

El diagnóstico de infección por hCMV no puede establecerse de forma fiable sólo por el cuadro clínico. El laboratorio cumple una función esencial en la confirmación de la infección congénita por hCMV en el recién nacido. El método diagnóstico de referencia es el aislamiento viral en cultivo de tejidos realizado a partir de muestras de orina o saliva, obtenidas durante los primeros 21 días de vida (19). Resultados positivos para hCMV en muestra de orina recolectada después de las primeras 3 semanas de vida puede ser consecuencia de infección perinatal por exposición a secreciones vaginales al nacimiento, lactancia o transfusiones sanguíneas (20). Una adaptación del cultivo viral es el método de aislamiento rápido conocido como "Shell vial", el cual está basado en la centrifugación que acelera la adhesión del virus a los receptores celulares permitiendo el diagnóstico en 24-48 hrs con una sensibilidad del 94.5% y especificidad del 100% (16). Otra forma de establecer el diagnóstico es a través de histología en donde puede efectuarse el diagnóstico, a través del hallazgo de células citomegálicas

características que contienen un cuerpo de inclusión intranuclear central y densa (ojo de búho). Las inclusiones pueden observarse fácilmente con una tinción de Papanicolaou o hematoxilina–eosina (5).

En los últimos años el desarrollo de técnicas de biología molecular ha permitido contar con alternativas de alta sensibilidad para la detección de hCMV (29). El uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de ADN viral resulta en la confirmación rápida de la presencia del virus y puede ser empleada utilizando diversas muestras biológicas, incluyendo orina, saliva y sangre. Tomando en cuenta que en la mayoría de los recién nacidos con infección congénita es posible detectar la presencia de hCMV en sangre y que existen múltiples programas de tamizaje neonatal, en los cuales se obtiene sangre de recién nacidos para detección de diversas anomalías, ha resultado de interés utilizar sangre almacenada en papel filtro para detectar la presencia de infección congénita por hCMV.

Shibata y col. fueron los primeros en reportar que la infección congénita por hCMV se puede diagnosticar por la presencia de ADN viral por PCR en gotas de sangre seca recolectadas de recién nacidos sobre papel de filtro tomadas para el tamizaje neonatal (30). Sin embargo, este estudio fue retrospectivo por lo que no se estableció la sensibilidad y especificidad de los resultados en comparación con el método de referencia. Barbi y col. compararon los resultados de los cultivos de orina recolectada en las 2 primeras semanas de vida en recién nacidos con sospecha de infección congénita, con la presencia de ADN viral por PCR en gotas de sangre seca en papel filtro obteniendo una sensibilidad de 100% y una especificidad del 99% (19). Johansson y col. analizaron las muestras de sangre seca en papel filtro de niños en quienes la enfermedad había sido diagnosticada al nacimiento y confirmó la presencia de hCMV en la sangre de 13 de 16 pacientes (sensibilidad del 81%), sin resultados positivos para los no infectados (especificidad del 100%) (31). Yamamoto y col. compararon la presencia del ADN viral de hCMV en muestras de orina en papel filtro y gotas de sangre seca en papel filtro obteniendo una sensibilidad del 71.4% y una especificidad del 100%

(20). Oriane Soetens y col. evaluaron protocolos de extracción manual y automatizada con los siguientes resultados: de un total 55 muestras positivas a la infección congénita en neonatos obtuvieron 36 positivas (66%) cuando utilizaron una extracción manual y PCR convencional, mientras que cuando se utilizó un método automatizado para la extracción de DNA y PCR convencional se obtuvieron 25 positivas de un total de 55 (45%) (32). Más recientemente, Boppana y col. reportaron una sensibilidad de 34.4% y especificidad de 99.9% para la prueba de detección de hCMV en sangre seca en papel filtro (33).

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la prevalencia de la infección congénita por hCMV en San Luis Potosí y los factores demográficos que se asocian a la presencia de infección utilizando una técnica de diagnóstico molecular.

Objetivos específicos

- 1) Determinar la prevalencia de infección congénita por hCMV en San Luis Potosí.
- 2) Describir las características demográficas de las madres de niños con infección congénita por hCMV (edad, región geográfica de origen y paridad).
- 3) Describir las características clínicas: edad gestacional, peso y talla de los recién nacidos infectados.
- 4) Comparar las características demográficas de los recién nacidos infectados con la de aquellos sin infección congénita.

VI. METODOLOGÍA

Tipo de estudio: Cuantitativo, descriptivo, relacional.

Diseño metodológico: Transversal, retrospectivo.

Límites de tiempo y espacio.

La población de estudio quedó conformada por los recién nacidos en el estado de San Luis Potosí, participantes en el programa de Tamiz Neonatal para la detección de hipotiroidismo congénito durante el periodo de un año (1 de junio de 2008 a 31 de mayo de 2009).

Cálculo del tamaño de la muestra y selección de la población de estudio.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó el programa estadístico Epi-Info (TM) 3.4 7/17/2008.

Los siguientes factores fueron tomados en consideración:

- a) La prevalencia de infección congénita por hCMV es 1%.
- b) Se consideró como valor mínimo aceptable un valor 50% menor al esperado.
- c) El número de muestras enviadas al programa de Tamiz Neonatal en el periodo de tiempo para el análisis fue de 26,186.

Tomando en cuenta un nivel de confianza del 95%, se estimó un tamaño muestral de 1,438 pacientes para corroborar la prevalencia de infección congénita por hCMV en nuestra población. Considerando la posibilidad de casos perdidos basados en los criterios de exclusión y eliminación, se decidió seleccionar 1,500 muestras para el estudio.

Para la selección de las muestras incluidas en el estudio se utilizó una tabla de números aleatorios generada por una computadora y se identificó a las muestras de acuerdo al número de folio presente en la tarjeta de tamiz neonatal ordenadas de forma ascendente.

Recolección de información.

Se analizaron las características socio-demográficas de las madres incluidas en el estudio para tratar de identificar posibles factores de riesgo para la transmisión de

hCMV al recién nacido. La información que se utilizó (tales como edad, sitio de residencia, características de la gestación) se obtuvo del registro contenido en las tarjetas de papel filtro del programa de Tamiz Neonatal.

Criterios de inclusión:

- 1) Sujetos en los cuales se cuente con una muestra de sangre seca en papel filtro obtenida a través del programa de Tamiz Neonatal.
- 2) Sujetos en los cuales se cuente con la información relacionada al estado de la República Mexicana de residencia de la madre en la tarjeta de Tamiz Neonatal.

Criterios de exclusión:

- 1) Sujetos en los cuales el sitio de residencia habitual de la madre no sea el estado de San Luis Potosí.

Criterios de eliminación:

- 1) Aquellos casos en que no sea posible extraer ácidos nucleicos para la detección de hCMV de la muestra de sangre seca.

Variables.

Variable de interés: Presencia de infección congénita por hCMV.

Posibles variables explicativas:

Edad materna.

Primigesta.

Información adicional que se registró:

Número de embarazo.

Peso al nacimiento.

Talla al nacimiento.

Prematurez.

Sexo del recién nacido.

Fecha de nacimiento.

Presencia de malformaciones congénitas.

Municipio de residencia habitual de la madre.

Región geográfica del estado.

La información demográfica se adquirió de las tarjetas del programa de Tamiz Neonatal. En el siguiente cuadro se muestra la forma en que se codificaron las variables.

Cuadro 1. Definición de las variables de estudio.

Variable	Escala de medición	Definición conceptual	Definición operacional	Codificación
Presencia de infección congénita por Hcmv	Cualitativa Nominal Dicotómica	Detección de hCMV en líquidos corporales durante las primeras tres semanas de vida	Detección de hCMV utilizando PCR en sangre seca sobre papel filtro	Positivo Negativo
Prímigesta	Cualitativa Nominal Dicotómica	Madre que cursa su primer embarazo	Recién nacido hijo de una madre que cursó su primer embarazo	Si No
Edad de la madre	Cuantitativa Razón	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de la madre	Edad (en años cumplidos) al momento del parto	Número de años cumplidos
Número de embarazo	Cuantitativa Razón	Número de embarazos (incluyendo el actual) que la madre ha tenido	Número del embarazo del cual el recién nacido es producto	Número de embarazo
Longitud al nacimiento	Cuantitativa Razón	Longitud en centímetros del recién nacido al momento del nacimiento	Medición en cm. al momento de nacer reportada en el registro de solicitud del Tamiz Neonatal	Centímetros
Peso al nacimiento	Cuantitativa Razón	Peso en gramos del recién nacido al momento del nacimiento	Peso en gramos al momento de nacer reportada en el registro de solicitud del Tamiz Neonatal	Gramos
Sexo del recién nacido	Cualitativa Nominal Dicotómica	Características fenotípicas que distinguen al hombre y a la mujer	Según sexo biológico de pertenencia	Masculino Femenino
Fecha de nacimiento	Cualitativa Nominal	Día, mes y año al momento del nacimiento	Fecha de nacimiento del recién nacido	Año, mes, día
Presencia de malformaciones congénitas	Cualitativa Nominal Dicotómica	Presencia de malformaciones congénitas evidentes macroscópicamente al nacimiento	Presencia de malformaciones congénitas de acuerdo al registro de solicitud de Tamiz Neonatal	Si No
Municipio de residencia habitual de la madre	Cualitativa Nominal	Área geográfica definida de acuerdo a la división política del estado de San Luis Potosí	Nombre del municipio de residencia habitual de la madre	Nombre del municipio
Región geográfica del estado	Cualitativa Nominal	Área geográfica definida de acuerdo a las características del clima, suelo, actividades económicas, entre otras	Región geográfica del estado	Región Altiplano, Centro, Media, Huasteca

Métodos de laboratorio.

Muestras biológicas.

Se utilizó sangre seca almacenada en papel filtro, la cual se obtiene de forma rutinaria en los recién nacidos dentro del programa de Tamiz Neonatal. Las muestras se encontraban almacenadas en el Laboratorio Estatal de Salud Pública después de haber sido utilizadas para el tamizaje de hipotiroidismo congénito; estas muestras habitualmente son desechadas.

Preparación de reactivos:

Buffer de lisis ó solución de lisis (Tris HCl 10 mM, EDTA 2mM, NaCl 400 mM, pH 8.0) para 50 ml:

0.5 ml de Tris-HCl 1 M pH 8.0

0.2 ml de EDTA 0.5 M pH 8.0

4.0 ml de NaCl 5 M

Aforar a 50 ml con agua desionizada estéril, o también esterilizar en autoclave.

Extracción de ADN.

De cada papel filtro se obtuvieron tres discos de 6mm de diámetro. Los tres discos fueron sometidos a extracción de ácidos nucleicos de acuerdo a técnicas previamente estandarizadas. El ADN obtenido fue almacenado en un tubo Eppendorff y almacenado a -20°C para después ser usado para la detección de hCMV mediante técnica de PCR.

Protocolo de extracción en papel filtro.

1.- Cortar 3 círculos de 6mm de diámetro de la muestra de sangre seca en papel filtro con el puncher; depositarlos en un microtubo de 1.6 ml.

2.- Agregar 400 µl de solución de lisis (TrisHCl10 mM, EDTA 2mM, NaCl 400mM, pH 8.0), 20µl proteínasa k (en agua desionizada) y 50 µl de SDS al 10 % (en agua desionizada); agitar durante 1 minuto en el vortex.

- 3.- Incubar durante 2 horas en el thermomixer a 800 rpm y 56°C.
- 4.- Agitar en vortex durante un minuto; transferir el sobrenadante a un microtubo estéril.
- 5.- Agregar 400µl de buffer de lisis; agitar durante un minuto en vortex.
- 6.- Centrifugar durante 3 min a 16,000 g.
- 7.- Recuperar el sobrenadante y mezclar junto con el primer volumen recuperado.
- 8.- Transferir el papel filtro a un microtubo de 300µl con una aguja estéril previamente perforado y estéril.
- 9.- Colocar el tubo Eppendorf de 300µl dentro del microtubo de 1.6 ml y centrifugar durante 5 minutos.
- 10.- Recuperar el sobrenadante por decantación, agregar 400 µl de NaCl y agitar durante 1 minuto en vortex.
- 11.- Incubar durante 5 minutos a -20°C.
- 12.- Agitar durante 1 minuto en vortex.
- 13.- Incubar durante 2 minutos a -20°C.
Centrifugar durante 3 minutos a 16000xg (13000rpm). Recuperar el sobrenadante en un microtubo de 1.5 ml, estéril y etiquetado. Desechar el precipitado (proteína) y continuar con el sobrenadante.
- 14.- Agregar 400 µl de isopropanol; agitar por inversión suavemente.
- 15.- Incubar a 37°C durante 10 minutos. Centrifugar 10 minutos a 16000 xg (13000rpm).
- 16.- Decantar el sobrenadante, el DNA se encuentra en el fondo del tubo en una pequeña pastilla. Colocar el microtubo sobre papel absorbente estéril durante 5 minutos.
- 17.- Agregar 1 ml de alcohol etílico al 70% y lavar por inversión durante 3 minutos.
- 18.- Centrifugar a 16000 xg (13000rpm) durante 5 min, y decantar el sobrenadante; dejar secar el tubo durante 20 minutos.
- 19.- Hidratar el DNA con 50 µl de TE (Tris-HCl 10 mM/EDTA 1 mM pH 8.0) almacenar a 4°C para realizar enseguida PCR o a -20 °C por periodos largos.

Detección de hCMV mediante PCR.

La detección de DNA de hCMV se llevó a cabo utilizando un protocolo de PCR anidada. Se utilizan dos pares de oligonucleótidos iniciadores específicos que amplifican un segmento del gen que codifica para la proteína temprana inmediata-1 de hCMV. Los oligonucleótidos que se utilizaron han sido previamente descritos (34); la secuencia de los dos pares de oligonucleótidos son las siguientes:

Par externo:

Oligonucleótido sentido:

hCMV CAA-F 5' GTC AAA CAG ATT AAG GTT CGA GTG G 3'

Oligonucleótido antisentido:

hCMV CAA-R 5' TGT ACT CAT TAC ACA TTG TTT CCA CAC 3'

Par interno:

Oligonucleótido sentido:

hCMV CAB-F 5' ACT GGC GCC TTT AAT ATG ATG GG 3'

Oligonucleótido antisentido:

hCMV CAB-R 5' GAG CAC TGA GGC AAG TTC TGC 3'

Se llevaron a cabo dos reacciones de PCR, cada una utilizando un volumen total de 12.5 microlitros. La composición de la mezcla de reacción de PCR se presenta a continuación:

Cuadro 2. Mezcla de reacción para la PCR.

Reactivos	Volumen μ l	Concentración final
Agua	6.7	
Buffer 5X	2.5	1X
MgSO ₄ 25mM	1	2.0 mM
dNTP's 10 mM	0.25	0.2 mM
Oligonucleótido sentido	0.5	0.5 μ M
Oligonucleótido antisentido	0.5	0.5 μ M
EnzimaTfIDNA polim 5 U/ μ l	0.0625	0.3 U/reacción
Muestra	1	

Para la primera reacción de PCR se utilizó un microlitro del DNA obtenido del papel filtro. Para la segunda reacción de PCR se utilizó un microlitro del producto de amplificación obtenido durante la primera PCR.

Para ambas reacciones se utilizó el mismo programa de termociclado, el cual consiste en un paso inicial de 5 min de desnaturalización a 94°C, seguido de 30 ciclos de PCR (desnaturalización a 94°C durante 1 min, hibridación a 60°C durante 1 min, extensión a 72°C durante 1 min) y un paso final a 94°C durante 5 min. Los productos de amplificación se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.2% teñido con bromuro de etidio, se visualizaron bajo luz ultravioleta y se archivaron mediante fotografía electrónica.

Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos se hizo mediante el software SPSS. Se utilizó estadística descriptiva como frecuencias, porcentajes, medias y medidas de dispersión. Se determinó la proporción de recién nacidos con infección congénita, las características demográficas de la población de estudio, así como de los recién nacidos infectados. Las variables categóricas se describieron en frecuencias

mientras que para las variables cuantitativas se expresaron utilizando las medidas de tendencia central y dispersión.

Para evaluar los posibles factores de riesgo se compararon las características de las poblaciones con y sin infección congénita. Se utilizaron las pruebas estadísticas apropiadas, de acuerdo al tipo de datos y su distribución: chi-cuadrada o prueba exacta de Fisher, para las variables categóricas; t de Student (peso al nacer, talla y edad materna) y U de Mann Whitney (No.de gesta)

Para las variables edad gestacional y muestras tomadas dentro de los 21 días de nacido se perdieron 16 y 28 registros respectivamente.

RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

- 1) Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología y Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- 2) Laboratorio Estatal de Salud Pública.

GRUPO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Medicina, UASLP.

- 1) Dr. Daniel E. Noyola.

Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UASLP.

- 2) Dr. Christian A. García.

Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, UASLP.

- 3) QFB Alba E. Hernández Salinas.

Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UASLP.

4) Lorena Matienzo Serment, Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UASLP.

Laboratorio Estatal de Salud Pública.

1) Dr. Uciel R. Ochoa Pérez.

Departamento de Vigilancia Epidemiológica.

2) QFB Sergio Olimpo Rodríguez Vidal.

Laboratorio de Virología.

3) QFB Juan Miguel Piña Granja.

Laboratorio de Tamiz Neonatal.

PROCEDIMIENTO

1) El protocolo de investigación fue registrado ante el Comité Académico de la Maestría en Salud Pública y aprobado por los Comités de Ética e Investigación de la Facultad de Enfermería y de los Servicios de Salud del Estado de San Luis Potosí. Así mismo, se contó con la aprobación para su implementación por los directivos del Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, UASLP y El Laboratorio Estatal de Salud Pública de San Luis Potosí perteneciente a los Servicios de Salud del Estado.

2) Se obtuvieron las muestras de sangre seca en papel filtro de niños nacidos en el periodo comprendido de junio de 2008 a mayo de 2009, las cuales fueron proporcionados por el programa de Tamiz Neonatal de la Secretaría de Salud.

3) Se identificaron (a través de los números de folio) las muestras comprendidas en la población de estudio y se seleccionaron a través de una tabla de números aleatorios generada por una computadora.

4) Las muestras seleccionadas fueron utilizadas para la detección de hCMV utilizando la técnica de PCR.

- 5) Se generó una base de datos utilizando el número de folio como identificador para correlacionar los datos demográficos con los resultados de detección de hCMV. La información demográfica se obtuvo de la tarjeta del programa de Tamiz Neonatal. Los datos se capturaron en una hoja de Excel 2007 y posteriormente se procesaron en el programa SPSS versión 15.
- 6) Se llevó a cabo el análisis estadístico y la redacción de reportes.

VII. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

Se trató de una investigación sin riesgo, ya que solo se hizo una revisión retrospectiva de información demográfica y se efectuarán estudios de laboratorio en muestras previamente tomadas y archivadas en el Laboratorio Estatal de Salud Pública. La información obtenida en el proyecto fue manejada con confidencialidad reportándose los resultados por grupos y sin hacer referencia a identificadores personales.

El proyecto fue sometido para revisión por el Comité Académico de la Maestría en Salud Pública y por el Comité de Investigación de los Servicios de Salud en el Estado de San Luis Potosí previo a su ejecución.

VIII. RESULTADOS

Características de la población de estudio

De un total de las 1,500 muestras seleccionadas para el estudio, en el 0.9% (12) no se obtuvo la tarjeta quedando un total de 1,488. Entre éstas se encontró que 31 pertenecían a hijos de madres residentes de otro estado de la República Mexicana, por lo cual fueron excluidas del estudio; de esta forma, se incluyeron 1,457 muestras en el análisis del estudio.

De los pacientes incluidos en el análisis el 49.8% fueron niñas (725), mientras que el 50.2% fueron niños (732). El peso promedio al nacer de los recién nacidos incluidos en el estudio fue de 3,161.34 gramos con una talla promedio de 50.22 cm. Las principales características de la población se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de los recién nacidos evaluados para detectar la presencia de infección congénita por hCMV

Característica	Frecuencia
Edad gestacional	
Término	1391 / 1441 (96.5%)
Pretérmino	50 / 1441 (3.5%)
Sexo	
Femenino	725 / 1457 (49.8%)
Masculino	732 / 1457 (50.2%)
Malformación congénita	
Presente	13 / 1457 (0.9%)
Ausente	1444 / 1457 (99.1%)
Presencia de enfermedad	
Si	23 / 1457 (1.6%)
No	1434 / 1457 (98.4%)
Toma de muestra	
Antes de 3 semanas de nacido	1379 / 1429 (96.5%)
Después de 3 semanas de nacido	50 / 1429 (3.5%)

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009

En la Tabla número 2 se muestran las características de las madres y de los recién nacidos incluidos en el análisis.

Tabla 2. Características de los recién nacidos y madres

Característica	Promedio	Desviación estándar	Mediana	Rango
Edad materna	24.79	6.39	24	14-53
Número de gesta	2.36	1.58	2	1-10
Peso al nacer	3,161.34	492.54	3,180	730-5,040
Talla al nacer	50.23	2.71	50	32-60

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009

La Tabla número 3 describe la distribución de las muestras utilizadas en el presente estudio de acuerdo al área geográfica del estado.

Tabla 3. Distribución geográfica de las muestras estudiadas.

Región Geográfica	Frecuencia
zona Centro	762 / 1457 (52.3%)
zona Huasteca	410 / 1457 (27.3%)
zona Media	176 / 1457 (12.1%)
zona Altiplano	109 / 1457 (7.5%)

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009

Detección de infección congénita por hCMV.

De las 1,457 muestras estudiadas, se detectó la presencia de hCMV en 10 (0.68%). Las características de los recién nacidos con y sin infección congénita por hCMV se detallan en la Tabla número 4.

Tabla 4. Características de recién nacidos con y sin infección por hCMV

Característica	Sin infección	Infección congénita por hCMV	P	P.estadística
Sexo				Chi
Femenino	720 / 1447 (49.8%)	5 / 10 (50%)	NS	cuadrada
Masculino	727 / 1447 (50.2%)	5 / 10 (50%)		
Edad gestacional				Chi
Término	1381 / 1431 (96.5%)	10 / 10 (100%)	NS	cuadrada
Pretérmino	50 / 1432 (3.5%)	0 / 10 (0%)		
Malformación congénita				Chi
Ausente	1434 / 1447 (99.1)	10 / 10 (100%)	NS	Cuadrada
Presente	13 / 1447 (0.9%)	0 / 10 (0%)		
Edad al momento de la toma de la muestra				Chi
Toma < 3 semanas	1369 / 1419 (96.5%)	10 / 10 (100%)	NS	cuadrada
Toma > 3 semanas	50 / 1419 (3.5%)	0 / 10 (0%)		

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009 NS: No significativo

Las 10 muestras positivas fueron tomadas durante las primeras tres semanas de vida de los recién nacidos. El 100% de las muestras que resultaron positivas para la PCR fueron de niños de término. Por otro lado, ninguno de los recién nacidos con infección por hCMV presentó malformaciones congénitas al nacer.

En la Figura 1 se muestran los municipios de los cuales provenían los casos en quienes se detectó la infección por hCMV. Las regiones geográficas en las que se presentó la mayor frecuencia de la infección por hCMV fueron el altiplano y la huasteca con tres casos en cada una de estas regiones. La región geográfica con mayor en que la prevalencia de la infección por hCMV fue mayor fue la zona altiplano (2.8% de los recién nacidos estudiados de esta zona); la prevalencia en las otras regiones geográficas se muestra en la Tabla 5.

Figura 1. Distribución geográfica de la infección congénita en SLP.

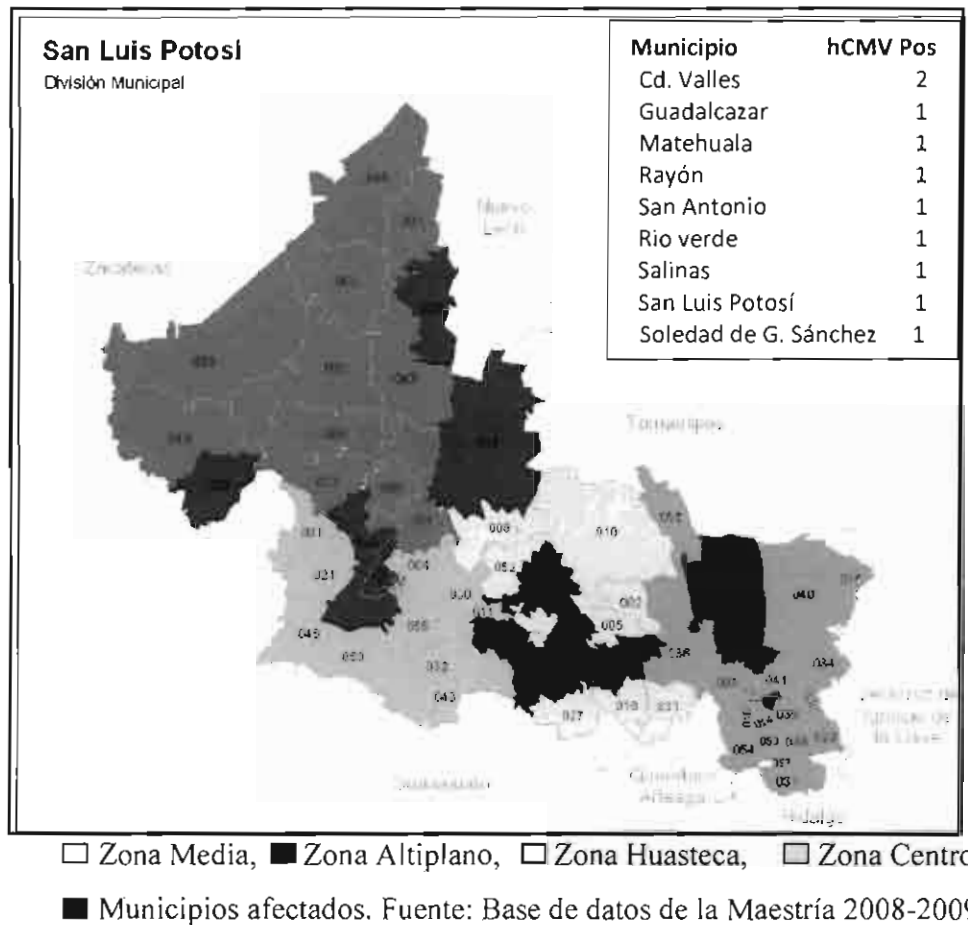


Tabla 5. Prevalencia de infección congénita por hCMV por zona geográfica

Región	Prevalencia
Zona Altiplano	3 / 107 (2.8%)
Zona Huasteca	3 / 409 (0.7%)
Zona Media	2 / 176 (1.1%)
Zona Centro	2 / 761 (0.3%)

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009

No se observaron diferencias significativas entre las características maternas o del recién nacido entre los casos de infección por hCMV y aquellos recién nacidos sin infección (ver Tablas 6 y 7).

Tabla 6. Características maternas y del recién nacido en casos con y sin infección por hCMV

Característica	Sin infección	Infección congénita por hCMV	Prueba estadística	P
Peso al nacer	3,160.54 (491.59)	3,278 (636.41)	t Student	NS
Talla	50.22 (2.72)	51 (2.4)	t Student	NS
Edad materna	24.8 (6.39)	23.3 (6.91)	t Student	NS
No. embarazo	2.36 (1.59)	1.9 (1.29)	t Student	NS

Fuente: Base de datos Maestría 2008-2009 NS: No significativo

Tabla 7. Distribución de la infección según el número de gesta.

No. embarazo	Sin infección	Infección congénita por hCMV
1	539 / 1417 (38%)	5 / 10 (50%)
2	363 / 1417 (25.6%)	3 / 10 (30%)
3-10	515 / 1417 (36.4%)	2 / 10 (20%)

La mayor parte de las infecciones por hCMV se encontraron en hijos de madres que cursaban su embarazo número 1 y 2; sin embargo, no se observó una diferencia significativa en comparación con el grupo de mujeres en cuyos hijos no se detectó la presencia de este virus.

IX. DISCUSIÓN

Ha sido generalizado el uso de sangre seca en papel filtro para el diagnóstico de enfermedades congénitas. Por lo tanto, ha resultado de interés utilizar este tipo de muestras para evaluar la presencia de la infección congénita por hCMV. De esta forma, en este estudio hemos estudiado la frecuencia de la esta infección en nuestra población. La prevalencia encontrada en el presente estudio (0.68%) es similar a la reportada en el estudio realizado en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" (0.89%) para la infección congénita por hCMV. Además, el resultado obtenido está dentro del rango encontrado a nivel mundial.

Según la estimación oficial, en el año 2008 ocurrieron alrededor de 57,808 nacimientos en el estado de San Luis Potosí; esto significa que alrededor de 393 niños nacieron con infección congénita por hCMV.

Esta prevalencia da pie a considerar la instalación del uso de sangre obtenida de recién nacidos para la detección rutinaria de la infección congénita por hCMV. Sin embargo, este tipo de muestra puede tener limitaciones en relación a la cantidad de material biológico disponible para estudio. Aunque Barbi y col. reportaron una sensibilidad del 100% y especificidad del 99% para el diagnóstico de la infección por hCMV con el uso de sangre seca en papel filtro, Yamamoto y col. obtuvieron un 71.4% de sensibilidad y Boppana y col. reportaron una sensibilidad de 34.4%. Resaltando el hecho de que a pesar que el último estudio mencionado utilizó una técnica de amplificación muy sensible (PCR en tiempo real), obtuvo una prevalencia muy baja de detección. Esto pudiera ser explicado por el método de extracción que utilizaron, ya que Soetenes y col. valoraron diferentes métodos de extracción y llegaron a la conclusión de que los métodos manuales dan mejores resultados que los automatizados para esta aplicación. Otra posible explicación pudiera ser que la carga viral que se encuentra en sangre de recién nacidos con infección congénita no sea la suficiente para lograr su detección en todos los casos. Cabe señalar que en el presente estudio no se realizaron estudios adicionales en los recién nacidos que permitan establecer la sensibilidad

diagnóstica de nuestra prueba de detección molecular. Por lo tanto el impacto de la infección puede ser mayor al encontrado. Sin embargo, el valor predictivo positivo de esta técnica, junto con la facilidad en la toma y transporte de la muestra, nos permite considerar que esta metodología puede ser utilizada en el cribado de este padecimiento en la población general. Aun así, sería conveniente evaluar estrategias adicionales de detección que permitieran contar con una mayor sensibilidad diagnóstica. Así mismo, será necesario evaluar el balance de costo beneficio en relación a los resultados de detección y las intervenciones que puedan estar disponibles para mejorar el pronóstico de las lesiones producidas por el hCMV.

En el análisis de los posibles factores de riesgo antes reportados (edad materna, primigesta y región geográfica) no se encontró asociación con significancia estadística en nuestra población. Es posible que no se haya establecido ninguna asociación debido al bajo número de casos positivos. Sin embargo, los resultados obtenidos del análisis de las características socio-demográficas de la población son de utilidad, ya que nos permiten concluir que no es posible acotar la población que debe ser evaluada para detectar la infección congénita por hCMV utilizando criterios demográficos.

Hablando del impacto en salud pública de nuestros resultados, éstos son relevantes y deben tomarse en cuenta, ya que el número de casos estimados cada año de infección congénita por hCMV es elevado. Como la mayoría de las infecciones son asintomáticas y las secuelas suelen aparecer tiempo después, el estudio molecular realizado tempranamente permitiría la evaluación de recién nacidos en riesgo para identificar la presencia de sordera tempranamente y establecer las medidas terapéuticas adecuadas para prevenir su progresión. Además, estos resultados apoyan la implementación de medidas educativas para reducir la exposición al virus en mujeres en edad fértil. Por otro lado, el poder contar con una herramienta de diagnóstico confiable, evita el uso de medicamentos inadecuados y lo que esto implica en el recién nacido. Considero que es necesario desarrollar metodologías que permitan el diagnóstico con cargas

virales bajas a fin de mejorar la sensibilidad de esta prueba; además, investigar posibles factores de origen genético que influyan en el establecimiento de la infección.

Para entender un poco mejor el impacto de esta infección como causa de morbilidad en el recién nacido contrastamos nuestros resultados con información epidemiológica sobre hipotiroidismo congénito, patología que de forma rutinaria se detecta en nuestro país. Al hacer una comparación con el programa de tamiz neonatal para hipotiroidismo congénito, encontramos que la prevalencia de este padecimiento en el 2002 fue del 0.04% en México y para San Luis Potosí fue 0.077%. Nuestros resultados hacen evidente que la infección congénita por hCMV es mucho más frecuente que el hipotiroidismo congénito. Si bien es cierto que la mayoría de los recién nacidos con infección congénita por hCMV no tendrán secuelas y que actualmente no existe un tratamiento para evitar la aparición de las mismas, es posible que en el futuro se cuente con ellas. Por lo tanto, el conocer la prevalencia de la infección congénita por hCMV en nuestra población nos da la pauta para realizar estudios adicionales en este tema. Entre los objetivos que se pueden plantear podemos mencionar los siguientes: desarrollar herramientas de diagnóstico más sensibles y confiables que nos permitan ofrecer un diagnóstico oportuno a los pacientes afectados con el fin de reducir el impacto de las secuelas que pudieran presentarse (sordera) y así disminuir al máximo el impacto en el desarrollo del niño; establecer un programa de seguimiento para los casos en que se detecte la infección congénita por hCMV para definir la frecuencia de secuelas y reducir el impacto de las mismas en nuestra población; implementar campañas que aumenten el conocimiento de conciencia de la infección congénita por hCMV para aumentar la capacidad de ofrecer medidas de prevención como serían intervenciones educativas encaminadas a mejorar las medidas de higiene en la población.

X. CONCLUSIONES

El uso de sangre seca en papel filtro es adecuado para la detección de la infección congénita por hCMV. La prevalencia de la infección congénita por hCMV es de 0.68% en el estado de San Luis Potosí.

Los resultados obtenidos en el análisis de características socio-demográficas de la población no permiten establecer un grupo en el cual se concentre este padecimiento, por lo que un programa de tamizaje neonatal debería de abarcar a toda la población.

XI. COMENTARIOS Y RECOMENDACIONES

Sería conveniente contar con una metodología de extracción de DNA y detección molecular de ADN que permita facilitar el procesamiento de las muestras a la vez que mejorar la sensibilidad en el diagnóstico de esta patología.

Es necesario realizar investigaciones que aborden el impacto de la carga de la enfermedad expresado en años de vida saludable, así como de las medidas preventivas disponibles para definir el costo-beneficio de establecer un programa de cribado neonatal universal.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. - Griffiths P, Zuckerman A, Banatvala J, et al. Principles and practice clinical virology. Fourth Edition. John Wiley & Sons Ltd. 2000. pp 97-116.
2. - Bedoya V, Correa J, Gómez J F, et al. Fundamentos de Pediatría, tomo II. Segunda Edición. Medellín. CIB. 1999. pp 699-706.
3. - Centers for Disease Control and Prevention. Consultado marzo 2009 disponible en [http:// www.cdc.gov/CMV/facts.htm](http://www.cdc.gov/CMV/facts.htm)
4. - Noyola DE, Murguía de Sierra MT, Mancilla Ramírez J, Neonatología-1; Libro 7, Infectología neonatal 1. Intersistemas S.A. de C.V. 2003. pp 449-452.
5. - Echániz-Avilés G, Tamayo-Legorreta E, Cruz-Valdez A, et al. Prevalencia de anticuerpos contra citomegalovirus en mujeres en edad reproductiva. Salud Pública Mex 1993; 35:20-26.
6. - Plotkin SA. Vaccination against cytomegalovirus, the changeling demon. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:313-325.
7. - Primache V, Clerici D. Congenital cytomegalovirus infection in a Northern Italian region. *Eur J Epidemiol* 1998; 14: 791-6.
8. - Rivera L, Boppana S, Fowler K, et al. Predictors of hearing loss in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection . *Pediatrics* 2002; 110:762-767.
9. - Noyola DE, Mejía Elizondo AR, Canseco Lima JM, et al. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:89-90.
10. - Jeon J, Victor M, Adler SP, et al. Knowledge and awareness of congenital cytomegalovirus among women. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 2006;1-7.
11. - Arvin AM, Fast P, Myers M, et al. Vaccine development to prevent cytomegalovirus disease: report from the National Vaccine Advisory Committee. *Clin Infect Dis*. 2004;39(2):233-9
12. - Dobbins JG, Stewart JA, Demmler G. Surveillance of congenital cytomegalovirus disease, 1990-1991. Collaborating Registry Group. *Morbidity and Mortality Weekly Report. CDC Surveillance Summaries*. 1992;41:35-39.

13. - Boppana SB, Fowler K, Britt WJ, et al. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics*. 1999;104:55–60.
14. - Fowler K, Stagno S, Pass RF, et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992; 326:663–667.
15. - Demmler GJ. Infectious Diseases Society of America and Centers for Disease Control: summary of a workshop on surveillance for congenital cytomegalovirus disease. *Rev Infect Dis* 13:315–329.
16. - Williamson WD, Demmler GJ, Percy AK, et al. Progressive hearing loss in infants with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1992;90:862–866.
17. - Stagno S, Whitley RJ. Herpesvirus infections of pregnancy. Part II. Herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections. *N Engl J Med* 1985;313:1327–1330.
18. - Distéfano AL, González CA, Pardón F, et al. Diagnóstico de la infección congénita por citomegalovirus en muestras de sangre seca de recién nacidos en la tarjeta de Guthrie. Una técnica promisoriosa. *Arch Argent Pediatr* 2008;106:132-137.
hCMV infection via dried blood spots. *Rev Med Virol* 2006;16:385-392.
20. - Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM, Pinto PCG, et al. Usefulness of blood and urine samples collected on filter paper in detecting cytomegalovirus by the polymerase chain reaction technique. *J Virol Methods* 2001;97:159-164.
- 21.- Sandoval C C. Infecciones Intrauterinas. En: *Temas Selectos en Pediatría*. Segunda Edición. Bucaramanga. UIS. 2005. pp 79-102.
22. - Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. *Medical Microbiology*, ed 2. pp 468-469, 485-489.
23. - Riley, HD Jr. History of the cytomegalovirus 1997. *Southern Med J*. 90:184-190 .

24. -Stagno S, Britt W. Cytomegalovirus infections. En: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editores. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Sixth Edition. Elsevier-Saunders. 2006. pp 739-782.
25. - Staras SA, Dollard SC, Radford KW, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States 1988-1994. Clin Infect Dis 2006; 43:1143–51.
- 26.- Gan dhi M, Khanna R. Human cytomegalovirus: Clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. Lancet Infect Dis. 2004; 4: 725-38.
27. - Llorente Molina D, Cedeño Llorente S, Guzmán García J et al, Actualidad en infecciones de transmisión sexual de etiología viral Archivos de medicina 2009; 5 No. 2:2 pp 7-10.
28. - Noyola DE, Demmler GJ, Nelson CT, et al. Early predictors of neurodevelopmental outcome in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. J Pediatr 2001; 138:325-331.
29. - Nelson CT, Ista AS, Wilkerson MK, et al. PCR Detection of cytomegalovirus DNA in serum as a diagnostic test for congenital cytomegalovirus infection. J Clin Microbiol 1995;33:3317-3318.
30. - Shibata S, Kiroki T, Takashi T, et al. Detection of human cytomegalovirus DNA in dried newborn blood filter paper. J Virol Methods 1994;46:279-285.
31. - Johansson, P J, M. Jonsson, Ahlfors K, et al. Retrospective diagnostics of congenital cytomegalovirus infection performed by polymerase chain reaction in blood stored on filter paper Scand J Infect Dis 1997 29:465–468.
- 32.- Soetens O, Vauloup-Fellous C, Foulon I, et al. Evaluation of different cytomegalovirus (hCMV) DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of neonates with congenital infections. J Clin Microbiol 2008;46:943-946.
33. - Boppana SB, Ross S A, Novak Z, et al. Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assay to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection. JAMA 2010;304:1375-1382.

34. - Monsivais Urenda A, Noyola Cherpitel DE, Hernández Salinas A, et al. Influence of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire in children. *Eur J Immunol* 2010;40:1418-1427.
35. - Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol* 2007;17:353–63.