



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“FRANCISCO BATTISTINI CASALTA”
DPTO. DE PARASITOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA**

**SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VIRUS
VARICELA ZOSTER Y ANTI-CITOMEGALOVIRUS EN
PACIENTES VIH/SIDA. CIUDAD BOLÍVAR,
ESTADO BOLÍVAR.**

ASESOR:

Dra. Ixora Requena de Castillo

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO POR:

Farías Sanabria, Reynaldo José.

C.I.: 17.214.284

**Como requisito parcial para obtener el Título De
Médico Cirujano**

Ciudad Bolívar, Junio de 2009.

ÍNDICE

ÍNDICE	ii
RESUMEN.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	25
OBJETIVOS.....	28
Objetivo General	28
Objetivos Específicos.....	28
METODOLOGÍA	29
Diseño de Investigación	29
Universo y Muestra	29
Procesamiento de las Muestras Clínicas	29
Recolección de los Datos clínicos.....	30
Técnicas Utilizadas	30
Análisis e interpretación de resultados.....	33
RESULTADOS.....	34
TABLA 1	36
TABLA 2	37
TABLA 3	38
TABLA 4	39
TABLA 5	40
TABLA 6	41
TABLA 7	42
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

APÉNDICE	62
ANEXOS	65

RESUMEN

La siguiente investigación se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus y Anti-Virus Varicela Zoster en pacientes VIH/SIDA que asistieron a la Consulta de Inmunología del Hospital “Julio Criollo Rivas”, de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante el período Septiembre 2008 - Febrero de 2009. Se evaluaron 88 pacientes seropositivos para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana o con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), de ambos sexos con una edad media de 34,4 años $\pm$ 10,7 años. Las muestras séricas fueron procesadas mediante la técnica de ELISA para determinar anticuerpos IgM e IgG, anticitomegalovirus y antivariela zoster respectivamente, según las pautas y criterios estandarizado por Laboratorios Diagnostic Automation (Estados Unidos), especificado en el protocolo del kit comercial (Catálogo 1202 para IgM Anticitomegalovirus, catálogo 1201 para IgG Anticitomegalovirus, catálogo 1413 para IgM Antivaricela zoster y catálogo 1412 para IgG Antivaricela zoster). Se identificaron 30 casos positivos con IgM anticitomegalovirus (34,09%), predominando en el sexo masculino con un 23,86% (n=21), sin diferencias estadísticamente significativas. Todos los pacientes presentaron IgG anti CMV positivos (88/100%). La IgM antivariela zoster fue positiva en 33 pacientes (37,50%), prevaleciendo en el sexo masculino (n=20; 22,73%), sin diferencias estadísticamente significativas; mientras que la IgG antivariela zoster se demostró en 30 pacientes (34,09%), distribuyéndose de forma homogénea en ambos sexos, sin diferencias significativas. 4/88 pacientes (4,55%) presentaron coinfección para los tres virus (VIH, VZV y CMG). Se observaron 48 casos (54,55%) de pacientes VIH positivos, (categorías A1, B1, A2 y B2) y 40 pacientes (45,55%) con SIDA (categorías A3, B3, C1, C2 y C3); basado en la determinación del conteo, relación linfocitaria y carga viral. La mayoría de los pacientes afectados por la infección aguda por CMV y VZV provenían del estado Bolívar, particularmente de Ciudad Bolívar. En conclusión se observó una alta prevalencia de infección aguda por CMV y VZV y bajo porcentaje de coinfección de ambos virus en los pacientes evaluados.

Palabras Claves: VIH, SIDA, seroprevalencia, Citomegalovirus, Virus de la Varicela Zoster

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen del Valle, por haberme dado la dicha de vivir bajo el seno de mi familia y por la oportunidad de cursar los estudios de la carrera de Medicina.

A mis padres por su ayuda y colaboración para con la realización de este proyecto.

A los Doctores Héctor Castillo e Ixora Requena, por ser mis maestros y amigos; muchas gracias por cada una de sus enseñanzas y lecciones impartidas y por ser partícipes en este trabajo.

A la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta, muy especialmente al Departamento de Microbiología y Parasitología.

A la Doctora Anny Rodríguez, por su participación y sus enseñanzas para con la realización de este proyecto.

Al Doctor Rodolfo Devera, por sus conocimientos impartidos en clases y por su cooperación en la ejecución de este proyecto.

A la Dra. Julman Cermeño, por la colaboración prestada en esta investigación.

Al Técnico Carmelo Luces por la colaboración proporcionada en el Laboratorio de Virología para la elaboración de este proyecto.

Al Servicio de Inmunología del Hospital Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar, muy especialmente a la Dra. Norka Balliache y a la Sra. Milagros por la colaboración prestada en la realización de este proyecto.

A todos los pacientes quienes con su consentimiento y apoyo me permitieron realizar este proyecto.

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de Investigación-UDO. Frecuencia de infecciones virales oportunistas en pacientes VIH positivos o con SIDA, estado Bolívar (Código: CI-5-040101-1208/05), desarrollado por el Grupo de SIDA e infecciones oportunistas de Los Departamentos de Medicina y Parasitología y Microbiología de la Escuela de Ciencias de la Salud, coordinado por La Dra. Maria Milagros Silva y del cual también forman parte el Profesor Rodolfo Devera y la Profesora Ixora Requena de Castillo.

DEDICATORIA

A Dios y a mi Virgen del Valle.

A mi abuela CARMEN por ser mi tesoro máspreciado. Eres mi más grande orgullo y motivo de inspiración. Te quiero muchísimo abuela.

A mis padres Rufo y Elvira por la confianza depositada en mí y porque esta meta la alcanzamos juntos.

A mis hermanos: Hernán y Gustavo, porque juntos podremos alcanzar cada una de nuestras metas propuestas.

A mi tía Mirla, mi tío Miguel Ángel y a mis primos Gabriela, Miguel, Gabriel y Miguel Enrique, por su apoyo y sus enseñanzas y por haberme recibido en su hogar. Les estaré eternamente agradecido.

A mi tía Reina, a mis primas María José y María Alejandra y a mis dos ahijados César y Sarait, por el cariño, el amor y las atenciones brindadas.

A toda mi familia, Carmen María, Milagros, Hilda, Pastrán, Víctor, Gustavo, Alvaro, Alfredo, Mileydis, César, Carmen... a todos por su apoyo y su cariño.

A Diana C. Carreño V. y a su familia, por el amor, el cariño y las atenciones recibidas de manera excepcional y sincera. Estarás siempre en mi corazón mi amor.

A la Familia Castillo Requena Certad; muy especialmente a Andrea y Angel Gabriel, por haberme abierto las puertas de su hogar y recibirme como un miembro

más de su familia. Gracias por su apoyo, su cariño, su confianza y por todos los momentos vividos.

A Isabel Requena, por la amistad y por el apoyo que de manera sincera y humilde recibí de su persona durante estos años. Mil gracias.

A todos mis amigos y compañeros de clases por el apoyo brindado y por todos los momentos compartidos en el desarrollo de mis estudios universitarios.

A todo el personal obrero, administrativo, de enfermería del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez de Ciudad Bolívar y del Hospital Universitario Manuel Núñez Tovar de Maturín.

A la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, especialmente a la Escuela de Ciencias de la Salud Doctor Francisco Battistini Casalta.

A todos los PACIENTES, quienes me brindaron su apoyo y confianza, y pusieron esperanzas en mí, en beneficio de su salud. Además me permitieron a través del interrogatorio, anamnesis y examen físico aprender el abordaje y comportamiento de muchas patologías y enfermedades. Definitivamente el mejor libro con el que cuenta un médico es su paciente.

A todos, Gracias.

INTRODUCCIÓN

El origen y descubrimiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) ha originado controversias y muchas de sus hipótesis al respecto continúan siendo el tema de estudio para diversos investigadores actualmente. En 1981 para el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta en Estados Unidos, fue motivo de estudio un brote detectado entre Los Angeles y Nueva York, que comprendía cinco casos de neumonías producidas por *Pneumocystis carinii* (actualmente *P. jiroveci*) y 26 casos de Sarcoma de Kaposi, siendo éstas afecciones poco común para aquel entonces. Llamaba la atención que los pacientes involucrados eran jóvenes varones adolescentes que para el momento aparentaban estar sanos y no presentaban ningún tipo de patología previamente conocida, coincidían que eran en su mayoría homosexuales y adictos al consumo de drogas parenterales. Posteriormente, se encontraron nuevos casos en receptores de transfusiones y derivados sanguíneos, en hemofílicos y en individuos provenientes de Haití (Fauci y Lane, 2006).

Cuando estos individuos se sometieron a evaluación clínica exhaustiva, se detectó que padecían de una inmunodeficiencia celular de tipo adquirida, la cual estaba sustentada por una disminución de la subpoblación de linfocitos T CD₄. A partir de este momento se denominó a este conjunto de manifestaciones clínicas como SIDA, para diferenciarlo de las inmunodeficiencias de tipo congénitas ya conocidas para la época. Bajo esta polémica diferentes investigadores y sociedades científicas comenzaron una ardua labor en la detección e identificación de este nuevo agente etiológico, el cual según la epidemiología se trataba de un agente infeccioso de transmisión sexual y sanguínea (Gallo y Montagnier, 2003).

Es así como Wong-Staal y Gallo (1979) quienes investigaban el potencial oncogénico de los retrovirus aislaron, el primer retrovirus humano, el HTLV-I (por sus siglas en inglés Human T-cell Lymphotropic Virus-I), que más tarde se identificaría como agente causal de una leucemia de células T, endémica en Japón. Para 1982 se descubrió un segundo retrovirus humano, el HTLV-II, a partir de células provenientes de una leucemia de células peludas (Carrillo y Villegas, 2004).

Por su parte, Montagnier *et al.*, (1984) a partir de biopsia de ganglio linfático de un paciente joven homosexual con linfadenopatía, separaron los linfocitos T y prepararon un cultivo con interleuquina 2 (IL-2) y con anticuerpos contra interferón, este último conocido por ellos sobre su efecto en inhibir la replicación viral. Posteriormente, se detectó en el sobrenadante de los cultivos, la enzima transcriptasa reversa, lo cual señalaba la presencia de un retrovirus, confirmándose así la hipótesis formulada por Gallo (1984). Montagnier *et al.* (1993), llamaron a este nuevo virus LAV (por sus siglas en inglés Lymphadenopathy Associated Virus) debido a las características del paciente en quien fue aislado. Levy *et al.*, (1984) informaron de un virus similar al que denominó ARV (por sus siglas en inglés AIDS-Related Virus). En 1986, Montagnier *et al.*, aislaron un nuevo retrovirus en pacientes con SIDA provenientes de África Occidental, por lo cual deciden llamarlo VIH-2, para diferenciarlo del primer virus previamente identificado, que se denominó VIH-1 (Dosne, 2003).

En 1985 se llevó a cabo la clonación y secuenciación del genoma del virus, y una caracterización precisa de las proteínas de su envoltura. Para el año siguiente existían diversos nombres para el virus en cuestión. Por lo que el Subcomité de Retrovirus Humanos (del Comité Internacional sobre Taxonomía de los Virus) presidido por Harold Varmus, publicó en mayo de 1986 una carta en Science donde se propuso el nombre Virus de Inmunodeficiencia Humana, el cual fue aceptado

ampliamente por la comunidad internacional (Varmus, 1988; Carrillo y Villegas, 2004).

Para el año de 1986, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en conjunto con el Centro de Control y Prevención de Infecciones (CDC) de Atlanta, aportaron la definición del SIDA como una *entidad caracterizada por enfermedades oportunistas indicativas de inmunodeficiencia celular, en ausencia de otras causas conocidas de inmunodeficiencia distintas a la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Adquirida (VIH)* (WHO, 1986).

Así mismo debe considerarse la enfermedad por VIH como un espectro que partiendo de la primoinfección con o sin síndrome agudo pasa a un estadio asintomático y evoluciona hacia la enfermedad avanzada (Fauci y Lane, 2006).

Desde un punto de vista taxonómico y filogenético el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) pertenece a la Familia: *Retroviridae*, Género: *Lentivirus*: VIH – 1, VIH – 2. Se conocen siete subfamilias: los *Alfaretrovirinae*, *Betaretrovirinae*, *Gammaretrovirinae*, *Oncovirinae*, *Epsilonretrovirinae*, *Lentivirinae* y *Espumaretrovirinae*. Los Oncovirus están asociados a la leucemia de células T y leucemia de células peludas (HTLV -1 y HTLV- 2) y los Lentivirus al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Estos son los únicos retrovirus que hasta este momento se han asociado con enfermedad en humanos (Sierra, 2004).

El descubrimiento de correceptores involucrados en la infección por el VIH ha permitido dilucidar aspectos involucrados con el tropismo del virus. Existen dos cepas distintas involucradas en la infección por VIH y en la progresión de la enfermedad hasta la etapa de SIDA, las cuales se dividen dependiendo del tipo de célula diana para la cual tienen tropismo, siendo las cepas R5 las que infectan a los monocitos, macrófagos y linfocitos T; mientras que las cepas X4 tienen tropismo

exclusivamente para linfocitos T. Este tropismo depende del correceptor que la célula exprese. Las cepas R5 son reconocidas por el correceptor CCR5, el cual es expresado por los monocitos/macrófagos y linfocitos T, siendo esta cepa la involucrada en el proceso de transmisión e infección por el VIH y la que predomina en las primeras etapas de la enfermedad. A diferencia de las cepas X4 que son reconocidas por el correceptor CXCR4, quien solamente lo expresan los linfocitos T, y son las cepas que predominan en la etapa final de la enfermedad y quienes determinan la progresión y evolución hacia SIDA (Mild *et al.*, 2007).

En la replicación del VIH existe la conjugación de diversas proteínas tanto de tipo estructurales como regulatorias y la asociación de un conjunto de enzimas. Todas son codificadas por cada uno de los genes que constituyen al virión del VIH, siendo el gen *env* quien codifica una proteína precursora glucosilada, la gp160, la cual mediante un proceso de escisión constituye la glicoproteína extracelular, gp120, que participa en el reconocimiento y la unión a los receptores del virión del VIH a las células diana, además codifica una proteína transmembrana hidrofóbica, llamada gp41, que participa en la fusión de membranas. La replicación del VIH, busca invertir la transcripción de ARN del genoma viral, para formar una doble cadena de ADN intermedia, que puede ser integrada en forma estable al ADN cromosómico, resultante en el provirus. Para iniciar el proceso replicativo debe expresarse los genes virales y el reconocimiento del virión (Ferguson *et al.*, 2002).

El primer paso en la replicación viral es el reconocimiento y unión del virión a través de la glicoproteína gp120 al receptor CD4, expresado en la superficie de los linfocitos T ayudadores, monocitos y macrófagos. Esta unión genera cambios conformacionales en la gp120 originando la exposición de nuevos epítomos, que permitan la interacción con correceptores de citoquinas, surgiendo la interacción con la glicoproteína gp41 para que ocurra el proceso de fusión de membranas entre el virión y la célula diana, originándose así la liberación del virión en el citoplasma

celular. En el interior celular, el virión se asocia a la transcriptasa reversa y dirige la síntesis de una doble cadena de ADN lineal a partir del genoma viral en un complejo proceso conocido como transcripción inversa, formándose el provirus. Es en este paso crucial, cuando ocurre la variabilidad genética, dando lugar a nuevas variantes inmunes a través de mutaciones (Ferguson *et al.*, 2002).

Tras la formación del provirus surge el complejo de preintegración, el cual debe ser transportado desde el citoplasma al núcleo a través de poros, a nivel nuclear es reconocido el ADN viral mediante terminaciones específicas del genoma denominadas LTR, con el fin de que la proteína integrasa pueda integrar el ADN viral en el genoma de la célula infectada. Formándose así el ARNm del VIH, que posteriormente será transcrito en los ribosomas de la célula huésped. Por último debe surgir la expresión génica de proteínas reguladoras (Tat, Nef y Rev) y sea codificada, organizada y estructurada la partícula viral (Derdeyn y Silvestri, 2005).

Durante todo este proceso, en el interior de la célula blanco se activan factores de resistencia que tratan de limitar la replicación del virus tales como: TRIM (TRIM5a), que restringe la entrada de la capsida viral; y la APOBEC3G, miembro de la citidin desaminasa, que se asocia con el virion nascente e incorpora mutaciones que impiden su replicación (Xu y Screaton, 2001; Derdeyn y Silvestri, 2005; Sierra *et al.*, 2005).

Las etapas clínicas de la infección producida por el VIH se clasifican en: Primoinfección, etapa de latencia clínica y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (Picker, 2006).

Para Leal y Pulido (2006), la primoinfección (PI) por el VIH puede definirse como el conjunto de fenómenos inmunológicos y virológicos que se desarrollan desde el momento en que una persona se infecta hasta que la viremia y el recuento en

sangre periférica de linfocitos CD4 se estabilizan. El conjunto de signos y síntomas que pueden aparecer durante la PI se conoce como síndrome retroviral agudo (SRA) (Cooper *et al.*, 1985), PI sintomática o infección aguda por el VIH. Este complejo sintomático no debe confundirse con el período de infección reciente, un concepto cronológico que sólo hace referencia a los primeros 6 o 12 meses de la infección.

La PI se caracteriza por un período habitualmente de larga duración, clínicamente silente, conocido como fase asintomática; durante esta fase existe replicación viral, de intensidad variable, y un descenso progresivo del número de linfocitos CD4, paradigma de esta fase de la infección. Finalmente, cuando el número de estas células desciende por debajo de un nivel crítico (habitualmente 200 linfocitos/ μ l) entra en escena la fase final de la historia natural de la infección por VIH, cuyo paradigma lo constituyen las infecciones y tumores oportunistas que configuran el SIDA. Sin tratamiento antirretroviral, el paciente infectado por el VIH cae en un colapso del sistema inmune irreversible y mortal (Daar *et al.*, 2001; Leal y Pulido, 2006).

Dentro de los acontecimientos inmunológicos y virológicos durante la primoinfección destacan que cuando el inóculo viral penetra en el organismo directamente, bien sea a través de la sangre (transfusiones o hemoderivados, inyección con material contaminado entre los adictos a drogas, relaciones sexuales traumáticas con sangrado) o a través de las mucosas (vagina, uretra, recto, tracto digestivo alto). A las pocas horas de producirse el contagio, el virus emigra a los órganos linfoides secundarios (colonizando principalmente los linfocitos de la pared intestinal) (Mehandru *et al.*, 2005) y primarios (glándula tímica) (Suzuki *et al.*, 2005), donde se replica muy activamente. Cuando la replicación alcanza un nivel crítico, se produce una fuerte elevación de la viremia y la rápida diseminación del virus por el organismo (Leal y Pulido, 2006).

El significado clínico de estos acontecimientos es el SRA. En esta fase se produce un descenso transitorio del número de linfocitos CD4 en sangre periférica ocasionado por emigración de estas células a territorios linfoides (un mecanismo conocido como redistribución) y/o destrucción por efecto citopático del VIH; excepcionalmente el descenso de linfocitos CD4 puede ser tan marcado que pueden aparecer eventos oportunistas (Pilcher *et al.*, 2004).

Según Rosenberg *et al.*, (1997), la generación de una respuesta inmune, tanto celular como humoral, y posiblemente la disminución de células susceptibles de ser infectadas, acaban conteniendo la replicación viral, aproximadamente a las 12 semanas de la infección, coincidiendo con la resolución del SRA. Se inicia entonces la fase de infección reciente, donde la viremia se estabiliza a un nivel variable entre los pacientes (Phillips, 1996).

Los acontecimientos biológicos que se producen durante la PI son críticos para el subsiguiente desarrollo de la infección: a) el virus queda definitivamente integrado en el genoma de la célula hospedadora con un grado de replicación variable; la capacidad del VIH para integrarse (provirus) es el obstáculo más importante para su erradicación con los tratamientos antirretrovirales hoy disponibles; b) la estabilización de la concentración vírica (*set point*) que se establece tras la PI tiene valor pronóstico, de forma que los valores más elevados de viremia se asocian a mayor progresión a SIDA; c) la infección del timo y el posible deterioro de su función homeostática puede limitar la recuperación de los linfocitos CD4, cuando se instaure el tratamiento antirretroviral, y d) dado el uso extenso de antirretrovirales es posible que el aislado viral transmitido tenga mutaciones que confieren resistencia a estos fármacos; esto es importante si se decide tratar al paciente con SRA o en fase de infección reciente (De la Rosa y Leal, 2003; Ramesh y Paranjape, 2005).

Según Picker (2006), en la etapa de latencia clínica fundamentalmente se observa una respuesta inmunitaria específica que controla parcialmente la infección y la producción de virus. Descenso de la viremia hasta el setpoint, secuestro del VIH en el tejido linfoide, presencia de $<0,01\%$ de linfocitos TCD4 de sangre periférica y evidencia de nódulos linfáticos con ADN viral integrado. En esta etapa, los reservorios celulares son los responsables de mantener una producción constante de virus. Además se observa una destrucción continua de células T CD4+, deterioro en la producción de nuevas células, con la subsecuente disminución de conteo y por último un deterioro severo de la respuesta inmunitaria (O'Brien *et al.*, 1996; Levy *et al.*, 2003).

Los reservorios son importantes porque además de mantener una producción constante del virus, representa la principal barrera para la erradicación del virus a pesar de la terapia antirretroviral de alta eficacia (TARVAE). Entre los reservorios para el VIH destacan los macrófagos, células dendríticas, células dendríticas foliculares, células T CD4 de memoria, y reservorios anatómicos como el sistema nervioso central (SNC) y los testículos (Cooper *et al.*, 1985; Ramesh y Paranjape, 2005).

Los macrófagos tienen la capacidad de expresar el correceptor CCR5. Las células dendríticas pueden ser infectadas por el VIH, pero pocas veces destruidas, presentan el receptor DC-SIGN. Igualmente las células dendríticas foliculares atrapan al VIH recubierto con anticuerpos a través de receptores FC y promueven la infección de macrófagos y linfocitos T CD4+ (Amitinder *et al.*, 2000; Levy *et al.*, 2003; Noursadeghi *et al.*, 2006).

En el SIDA está demostrado que existe una destrucción severa del tejido linfoide periférico, con aparición de cepas más patogénicas como CXCR4 (X4). El recuento de células T CD4+ es menor de 200 cel/mm^3 . Se produce un incremento de

la replicación viral, con pérdida de células T CD4⁺ colaboradoras (*helper*), esenciales tanto para las respuestas inmunitarias humoral y celular, lo que conllevan a un aumento en la susceptibilidad a infecciones, (microorganismos intracelulares), y neoplasias (virus oncógenos) (Amitinder *et al.*, 2000; McCune, 2001; Ramesh y Paranjape, 2005).

El huésped infectado por el VIH desarrolla una respuesta inmunitaria frente al virus, desde un punto de vista celular y humoral. La inmunidad celular desarrollada por la célula T colaboradoras, quienes actúan en la fase aguda de la infección primaria; sin embargo, puede observarse por acción del virus, anormalidades funcionales, delección clonal selectiva de células T colaboradoras específicas con una elevada tasa de replicación viral, disminución de los linfocitos T Th1 y aumento de la subpoblación Th2. La proliferación, activación y expansión de células T CD4⁺ específicas para el VIH, en presencia de altos niveles de viremia conduce a una infección y delección de estas células antes que se establezcan las células de memoria específicas al virus (O'Brien *et al.*, 1996; Levy *et al.*, 2003).

Por otro lado, en la población de linfocitos citotóxicos se produce una expansión masiva de los CTL CD8⁺ específicos al VIH, con asociación temporal entre la disminución en la carga viral y aparición de linfocitos T citolíticos (CTL) específicas. Al final existe una correlación entre altos niveles de CTL específicas con baja carga viral y progresión de la enfermedad (Cooper *et al.*, 1985; Levy, 2003).

Con relación a la respuesta humoral se ha demostrado la presencia de anticuerpos (Ac) detectables a las 6 a 9 semanas de la infección, sin embargo, no parece haber correlación entre los Ac neutralizantes y el control de la replicación viral. En el virus, las moléculas más inmunógenas son la gp120 (asa V3) y gp41. Los Ac contra la envoltura no inhiben la infectividad del virus o los efectos citopáticos. Asimismo se ha descrito que otros Acs antiVIH como los productos de *gag* (p55, p39,

p24, p17) y *pol* (p66, p51, p31) también son detectados por las pruebas de ELISA y Western Blot (Ljunggren *et al.*, 1989; Ramesh y Paranjape, 2005).

Los mecanismos de evasión inmunitaria que pone en funcionamiento el VIH son principalmente: destrucción e inactivación de células T CD4+, alta tasa de mutación (cuasiespecies), producción de aproximadamente 10^{10} partículas por día durante replicación viral, generación de errores de la transcriptasa reversa, recombinación entre las dos cadenas de ARN genómico presentes en cada virión, regulación negativa de la expresión de las moléculas MHC clase I, evasión de las CTL CD8+ (proteína *nef* del VIH), y predominio del patrón de Th2 sobre Th1 (Fiala *et al.*, 1991).

Existen pautas organizadas y establecidas como patrón para categorizar y clasificar a un paciente infectado por el Virus de Inmunodeficiencia Humana a nivel mundial, siendo una clasificación excluyente entre sí y que refleja una progresión de la enfermedad, de tal forma que una vez que un paciente es clasificado e introducido a un grupo o categoría no podrá ser reclasificado posteriormente en un grupo inferior (Lupo, 2003).

Los criterios vigentes de definición del SIDA son los formulados por Castro *et al.*, (1993), basándose en un sistema tanto clínico como inmunológico por el que los infectados se categorizan en función de su eventual sintomatología y el recuento de Linfocitos T CD₄. A continuación se muestra:

Clasificación de la Infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana y criterios de definición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida para adultos y adolescentes mayores de 13 años (Castro <i>et al.</i> , 1993)				
Categorías según la cifra de Linfocitos T CD ₄ /mm ³		A	B	C (SIDA)
1	> 500 (>29%)	A1	B1	C1
2	200 – 499 (14 - 28%)	A2	B2	C2
3	<200 (<14%)	A3	B3	C3

- Categoría A: primoinfección y asintomáticos, con o sin linfadenopatía generalizada persistente.
- Categoría B: engloba a pacientes que presenten o hayan presentado síntomas debidos a enfermedades no pertenecientes a la categoría C, pero relacionadas con la infección por el VIH o cuyo manejo y tratamiento suelen verse complicados debido a la presencia de esta última.
- Categoría C: pacientes que presentan o han presentado alguna de las complicaciones incluidas en la definición de SIDA.

Según Amitinder *et al.*, (2000) la infección producida por el VIH trae consigo serias alteraciones en la memoria inmunológica, lo que induce un incremento en la susceptibilidad a padecer infecciones oportunistas y el SIDA. Estas infecciones son producidas por los microorganismos que se encuentran en su flora normal o con los que entra en contacto, y que pueden variar según la localización y/o infecciones previas ya establecidas. A este conjunto de infecciones se les llaman Oportunistas, ya que se presentan cuando existe un sistema inmunitario debilitado, por lo que mientras

mayor sea la inmunosupresión existirá más vulnerabilidad y susceptibilidad a padecerlas (Fauci y Lane, 2006).

Se puede definir una infección oportunista como aquella infección causada por microorganismos parasitarios, bacterianos, micóticos o virales, que comúnmente puedan estar presente en el organismo humano o en el ambiente, pero que sólo producen enfermedad en las personas que no presentan condiciones óptimas de salud y aparece en el individuo aprovechando la oportunidad que tiene de multiplicarse al disminuir las defensas del organismo entre otras causas por el empleo de la quimioterapia, uso de medicamentos inmunosupresores como los corticosteroides o por la acción del VIH (Fundación Huésped en Acción Contra el SIDA, 2006).

El sistema nervioso suele ser comúnmente un órgano blanco de asiento para las infecciones oportunistas con mucha frecuencia en pacientes portadores del VIH, tomando en cuenta que entre un 40% al 70% de éstos pacientes tendrán al menos un cuadro clínico neurológico en el desarrollo evolutivo de su enfermedad (Cabrera, 2005).

Es conveniente destacar que no todas las infecciones oportunistas se desarrollan ante el mismo grado de inmunosupresión, tal es el caso de la candidiasis esofágica que se presenta cuando el paciente tiene recuentos de Linfocitos T CD₄ no menores de 200/mm³, mientras que las infecciones producidas por el Citomegalovirus se presenta en un conteo inferior a los 50/mm³ (Carbajal-Martel *et al.*, 2002).

Por ende, la probabilidad de que un paciente infectado por el VIH desarrolle una infección oportunista, dependerá del estado de inmunosupresión, representado por el recuento de linfocitos T CD₄, de la exposición al patógeno potencial y de la relativa virulencia del patógeno potencial en relación con el estado inmune del paciente (González y Tobón, 2006).

Para la Organización de las Naciones Unidas para el VIH/SIDA, entre las infecciones oportunistas más frecuentes en el mundo figuraban:

- Enfermedades bacterianas, como la tuberculosis (causada por *Mycobacterium tuberculosis*), las infecciones por el complejo *Mycobacterium avium* (CMA), la neumonía bacteriana y la septicemia.
- Enfermedades parasitarias, como la toxoplasmosis, la microsporidiosis, la criptosporidiosis, la isosporiasis y la leishmaniasis.
- Enfermedades micóticas, como la neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, la candidiasis, la criptococosis (meningitis criptocócica).
- Enfermedades víricas, como las causadas por el citomegalovirus (CMV) y los virus del herpes simple y del herpes zoster.
- Neoplasias asociadas al VIH, como el sarcoma de Kaposi, el linfoma y el carcinoma de células escamosas (ONU-SIDA, 1999).

Familia Herpesviridae

Típicamente un Herpesvirus está constituido de adentro hacia afuera, por un *core* que contiene una doble hebra de ADN, un nucleocápside icosaédrico de aproximadamente 100-110 nm y compuesto por 162 capsómeros, una estructura amorfa de naturaleza proteica, denominada tegumento, y una envoltura que contiene numerosas espículas glucoproteicas que protruyen hacia el exterior. Actualmente se reconocen 7 tipos distintos de Herpesvirus humanos entre los más de 100 que han sido aislados y caracterizados por el momento, entre ellos se citan (Rodés y Guardia, 1997; Stone *et al.*, 2006):

- Subfamilia α : Virus del Herpes Simple Tipo 1 y 2. Virus de la Varicela Zoster.
- Subfamilia β : Citomegalovirus.
- Subfamilia γ : Virus de Epstein-Barr; Virus del Herpes Humano Tipo 6 y Virus del herpes humano tipo 7 (Rodés y Guardia, 1997).

Las características de los Herpesvirus son:

- a) Son agentes ubicuos y pocas personas escapan a la infección producida por ellos, y a excepción del virus varicela zoster, la infección por los herpesvirus suele ser asintomática.
- b) Son capaces de permanecer latentes después de infectar al individuo.
- c) En su mayoría los virus del grupo herpes tienen propiedad y capacidad para transformar células (Fauci y Lane, 2006).

Las infecciones por virus miembros de la familia *Herpesviridae* son frecuentes en la población general desde la infancia (Virus herpes simplex tipo 1, virus Epstein-Barr y virus varicela-zoster), en la adolescencia y adultez joven (Virus herpes simplex tipo 2) y en la edad adulta (Virus varicela-zoster, citomegalovirus), caracterizándose por la aparición de lesiones vesiculares pruriginosas, dolorosas, asociadas a hipertermia y malestar general, con tendencia al polimorfismo por su diferente velocidad de aparición y evolución, en algunos casos pueden sobreinfectarse secundariamente por microorganismos piógenos o complicarse al afectar órganos (neumonía) y sistemas (meningitis, síndrome adenomegálico) (Corey, 2000; Whitley, 2000).

Las manifestaciones clínicas que provoca la infección por los herpesvirus son benignas en su mayoría, sobretodo en individuos inmunocompetentes, pero en personas inmunosuprimidas como las infectadas por el VIH desarrollan la formas graves de estas enfermedades, con periodos de incubación más rápidos y con una duración mayor, la cual progresa fácilmente a complicaciones. Muestra de ello se observa en las infecciones por el Virus de la Varicela-Zoster y el Citomegalovirus que en pacientes con SIDA pueden provocar una enfermedad diseminada y con una alta morbilidad (Vignale *et al.*, 2005).

El Virus de la Varicela Zoster (VVZ) origina dos entidades clínicas diferentes en el individuo, siendo la varicela el cuadro clínico producido en la primoinfección, y el herpes zoster, la reactivación viral (Pantoja y Candela, 2002). Es importante destacar que el VVZ cursa con una forma única de latencia y reactivación, que los diferencia de las formas recurrentes características del Virus Herpes Simple tipo 1 y 2 (Weller, 1983).

La varicela es muy frecuente en la infancia, un 90% de los casos en niños menores de 3 años y sólo el 10% en mayores de 14 años, sin distinción de raza ni sexo. El período de incubación es de aproximadamente 2 semanas, con un intervalo extendido desde 10 hasta 20 días en pacientes inmunocompetentes, pero cuando se presenta en los pacientes con VIH puede ser menor el periodo de incubación. La infección se adquiere por contacto directo, bien sea a través del contacto con el líquido vesicular o bien por inhalación de las secreciones respiratorias infectadas. La tasa de infectividad en individuos susceptibles es del 70-90%, lo que convierte a la varicela en una de las enfermedades infecciosas más contagiosas. Un paciente con varicela debe considerarse como contagioso desde 2 días antes de la aparición del exantema hasta que todas las lesiones cutáneas se hayan costrificado (Rodés y Guardia, 1997).

Una vez adquirida la infección, el virus se replica en la nasofaringe con diseminación posterior al sistema reticuloendotelial, donde ocurre la primera y segunda viremia, con afectación difusa de la piel. Las vesículas afectan a la epidermis y dermis con cambios degenerativos: balonización, células gigantes multinucleadas e inclusiones intranucleares eosinófilas. En circunstancias especiales, la infección puede afectar los vasos de la piel, provocando necrosis y hemorragia. Es evidente que el virus se disemina a todo el organismo y no solo a la piel, pero las manifestaciones clínicas de esta diseminación orgánica extra-cutánea solo son ocasionalmente evidentes en algunos pacientes inmunodeprimidos (Picazo *et al.*, 2000).

Clínicamente en pacientes inmunocompetentes, la varicela es una enfermedad benigna que se manifiesta con fiebre de intensidad moderada y malestar general, que pueden preceder en 1-2 días a la aparición del exantema (máculas, pápulas, vesículas y costras). El exantema aparece en el tronco y la cara y se extiende rápidamente por el resto del cuerpo, afectando inclusive al cuero cabelludo, mucosa oral y genital. El número de lesiones es muy variable, con tendencia a ser mayor en adultos y en pacientes inmunodeprimidos. En éstos, además, las nuevas lesiones se originan durante más tiempo y tienen una base hemorrágica. La complicación más frecuente de la varicela en el niño es la sobreinfección bacteriana de las lesiones cutáneas, generalmente por *Staphylococcus aureus*. Mientras que en pacientes inmunodeprimidos las complicaciones cutáneas pueden ser muy graves e incluyen lesiones purpúricas extensas (púrpura fulminante), fascitis necrosante y vesículas hemorrágicas (Fauci y Lane, 2006).

Las complicaciones neurológicas en la varicela son, después de las cutáneas, las más frecuentes. Siendo la más grave de ellas la encefalitis, que en adultos e inmunosuprimidos puede incluso ser mortal (35% de mortalidad) y que se caracteriza por letargia, crisis comiciales y signos neurológicos focales. Otras complicaciones neurológicas excepcionales asociadas a la infección por varicela incluyen la meningitis y la mielitis transversa. La neumonía varicelosa puede presentarse en huéspedes susceptibles inmunodeficientes como complicación durante la primera semana tras el inicio del exantema y se manifiesta con tos, disnea, fiebre y, más raras veces, con dolor pleurítico y hemoptisis. Los hallazgos exploratorios son mínimos y el examen radiológico muestra un infiltrado nodular parcheado o difuso de distribución peribronquial (Rodés y Guardia, 1997).

La reactivación por el Virus Varicela Zoster es una enfermedad relativamente común, estimándose que del 15 al 20 % la desarrollan a lo largo de su vida, cuya incidencia se incrementa con la edad. Las razones de esta asociación no están del todo claras, especulándose con una gradual disminución de la inmunidad frente al VVZ.

Este hecho está fundamentado en estudios *in vitro* que demuestran una reducción progresiva con la edad de la respuesta inmunitaria celular (pero no de la humoral) frente a antígenos del VVZ. Del mismo modo, se constata en pacientes con neoplasias de estirpe linfoide, en infectados con VIH, en individuos sometidos a tratamientos inmunodepresores. Actualmente los mecanismos patogénicos por los cuales el VVZ se reactiva no son claramente conocidos, en donde el VVZ permanece latente en los ganglios dorsales raquídeos y desde allí migra a las raíces nerviosas para desencadenar el cuadro clínico característico (Picazo *et al.*, 2000).

El herpes zoster se caracteriza por la aparición de una erupción vesiculosa sobre una base eritematosa, que sigue la distribución anatómica de un dermatoma y que se acompaña de intenso dolor. Los dermatomas en los que con mayor frecuencia se manifiesta la infección son los dorsales y los primeros lumbares, e incluso al dermatoma del trigémino que ocasiona un herpes zoster oftálmico. En el individuo normal, el cuadro es autolimitado y no suele durar más de 2 semanas, caso contrario ocurre en pacientes con VIH (Lazarte *et al.*, 2005).

Cuando el herpes zoster afecta los nervios craneales suele producirse afectación de la cara, la faringe, las amígdalas y los ojos. Cuadro clínico característico es el denominado síndrome de Ramsay-Hunt, en donde están alterados tanto el VII como el VIII par craneal; caracterizado clásicamente por hipoacusia neurosensorial, vesículas en el oído externo, pérdida del sentido del gusto en los dos tercios anteriores de la lengua con o sin parálisis facial ipsolateral periférica (Gundín *et al.*, 2006).

En pacientes inmunodeprimidos como en los infectados por VIH, el herpes zoster tiene un curso más grave que en el individuo normal. En general, la lesión cutánea afecta con cierta frecuencia más de un dermatoma y tiene un curso más tórpido. Además, en algunos casos, el VVZ se disemina a partir de la piel,

produciendo cuadros de afectación visceral entre los que destacan la neumonía, encefalitis o pancreatitis (Nuño *et al.*, 2003).

Las complicaciones neurológicas del herpes zoster son numerosas, siendo la neuralgia postherpética la más común. Esta complicación es poco frecuente en individuos jóvenes, pero puede presentarse en mayores de 50 años de edad. Otras menos frecuentes son: neuropatía motora periférica, parálisis craneales, mielitis, encefalitis, vasculopatía trombótica cerebral, polirradiculitis ascendente aguda y meningitis (Sanz *et al.*, 2002).

El diagnóstico para el Virus de la Varicela – Zoster se basa primordialmente en los datos clínicos característicos y propios de la infección. Generalmente, el diagnóstico diferencial debe hacerse con las infecciones producidas por el Virus del Herpes Simple y con infecciones cutáneas bacterianas como el impétigo. Puede recurrirse al aislamiento del virus, a partir de las lesiones cutáneas, mediante el cultivo en líneas celulares susceptibles. En el caso de la varicela puede demostrarse una seroconversión entre muestras de suero obtenidas durante la enfermedad y en la convalecencia. Las técnicas serológicas empleadas con mayor frecuencia en el diagnóstico de la infección por VVZ son las pruebas de ELISA y la detección de anticuerpos fluorescentes frente a antígenos de membrana (Fauci y Lane, 2006).

Además, debe tomarse en cuenta al test de Tzanck como una prueba diagnóstica alternativa y una herramienta útil para corroborar y confirmar el diagnóstico clínico de infecciones virales herpéticas, con gran aplicabilidad en pacientes con lesiones mucocutáneas tanto típicas como atípicas, siendo de igual utilidad en lesiones ulcerosas y vesiculares, además de ser una técnica económica, rápida y de fácil implementación. (Marcano *et al.*, 2006).

El citomegalovirus (CMV) humano es un agente ubicuo, de distribución cosmopolita. En los Estados Unidos, aproximadamente el 81% de los individuos mayores de 35 años de edad ya han estado expuesto al virus (Glenn, 1981). Aunque la mayoría de los infectados por el CMV permanecen asintomáticos, algunos grupos de riesgo se ven afectados por serias complicaciones, entre ellos destacan los neonatos, los que adquieren la infección por transfusión y los infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV).

Este virus es considerado el herpesvirus oportunista por excelencia. Luego de la infección inicial, el CMV puede permanecer de forma latente, sin replicarse y ser detectable en plasma (Jordan, 1983). Esta característica es común a otros miembros de la familia *Herpesviridae*. El CMV puede emerger de su estado de latencia para producir una reactivación endógena asintomática o sintomática de la infección. Aunque los factores que controlan la latencia y reactivación del virus no está dilucidado en su totalidad, se ha comprobado que la inmunosupresión es un factor que influye en la latencia y reactivación (Pass, 1985). La latencia ocurre en muchos tipos celulares, como granulocitos, macrófagos, células dendríticas entre otros (Kondo y Mocarski, 1995; Hahn *et al.*, 1998; Stone *et al.*, 2006).

Evidencias clínicas, epidemiológicas, patológicas, inmunológicas y moleculares permiten explicar la patogénesis del SIDA como causante inicial de la reactivación del CMV. El momento en que se produce la reactivación, aún no se ha podido precisar, sin embargo, se infiere que quizás se deba a la transición de la forma clínica del VIH al SIDA, estado en el cual, interactúan los determinantes antigénicos del CMV y el VIH. Se ha descrito que la posible vía de inducción del inicio de la transcripción de VIH para iniciar la infección por CMV viene dado por el factor de necrosis β . En los pacientes con SIDA e infección diseminada por CMV se ha demostrado la presencia del antígeno p24 y el déficit de linfocitos T CD8. Así los

defectos en las células CD4 y CD8, tanto en la infección por el VIH y CMV son factores cruciales en la progresión al SIDA (Fiala *et al.*, 1991).

Los resultados arrojados de investigaciones en modelos animales experimentales, infectando el *Maccacus rhesus* con el virus de la inmunodeficiencia simia (VIS), permiten entender las repercusiones que provoca el VIH sobre la memoria inmunológica, acelerando la reactivación de virus latentes como el CMV. La infección aguda por el SIV induce una disminución de los linfocitos T CD4, linfocitos citotóxicos y la capacidad de neutralizar anticuerpos dirigidos al CMV. Se ha demostrado que la reactivación del CMV está asociada con niveles altos de replicación del SIV y supresión de los linfocitos colaboradores y citotóxicos contra el CMV. Al extrapolar estos datos a la infección por VIH, se observa en los infectados por el CMV, un aumento de la antigenemia p24 (lo que habla a favor de una activa replicación) y disminución de los linfocitos CD4 y CD8 (Amitinder *et al.*, 2000; Getachew *et al.*, 2002).

Los linfocitos T citotóxicos juegan un papel preponderante en la protección inmunológica y clínica contra el CMV (Gratama *et al.*, 2001; Stone, 2006). En los individuos sanos y seropositivos al CMV, los linfocitos T CD8 responden a múltiples antígenos del virus, como pp65 e IE1, antígenos tempranos y tardíos e inmunomoduladores como pp28, pp50, pp150, IE2 gH, gB, US2, US3, US6 y UL18 (Elkington *et al.*, 2003; Khan *et al.*, 2005; La Rosa *et al.*, 2005). En individuos con el Antígeno Leucocitario Humano (HLA) A-02 se han identificado epítopes inmunodominantes para el reconocimiento de linfocitos T CD8 (Wills *et al.*, 1996; Khan *et al.*, 2002).

El número de células T CD8 dirigidas al CMV se incrementa después de los 10 años de edad y en los individuos inmunocompetentes mayores de 65 años se observa un aumento de células T efectoras de tipo CD28-CD45RA con una capacidad

reducida de proliferación *in vitro*, en comparación con los seronegativos de la misma edad (Almanzar, *et al.*, 2005).

Según Bronke *et al.*, (2005), el número de linfocitos T CD8 dirigidos específicamente contra CMV aumenta en los pacientes VIH positivos no tratados, pudiendo progresar a enfermedad invasora, de hecho se ha demostrado que el conteo de células citotóxicas permanece elevado en todo paciente seropositivo para VIH con enfermedad invasora por CMV (Stone, 2005; 2006).

Aproximadamente el 95% de los individuos seropositivos para el VIH están infectados con el CMV. La introducción de la terapia antirretroviral ha reducido la incidencia del síndrome vírico por CMV y la enfermedad invasora (Deayton *et al.*, 2004). Se ha demostrado que no en todos los pacientes VIH positivos, la reactivación del CMV progresa a enfermedad invasora (Springer y Weinberg, 2004).

La infección por este virus produce una gran variedad de síndromes clínicos, desde la infección sintomática, el síndrome mononucleósico en los individuos sanos hasta la enfermedad diseminada en el receptor de un trasplante y en el paciente infectado por el VIH estudios demuestran un riesgo incrementado para enfermedad por CMV en pacientes con VIH que tengan un recuento de Linfocitos T CD₄ inferiores a 100/mm³. El virus produce en los tejidos que infecta un agrandamiento característico de las células, cuya replicación conlleva a la producción de grandes inclusiones intranucleares y de pequeñas inclusiones intracitoplasmáticas, es por ello que se debe su denominación como citomegalovirus (Rodés y Guardia, 1997).

La infección ocurre en los primeros años de la vida, sobre todo en ambientes socioeconómicos deprimidos. El hacinamiento y la escasa higiene personal favorecen su propagación. Aunque el virus no se transmite fácilmente por contactos fortuitos, sino que requiere de una exposición íntima repetida o prolongada, estudios

serológicos demuestran que al llegar a la edad adulta aproximadamente el 50-100 % de los individuos han tenido contacto con el CMV. El virus está presente en la saliva, la orina, secreciones vaginales y el semen. Además de estas vías, el CMV puede transmitirse por transfusiones sanguíneas y a través de injertos en los receptores de trasplantes de órganos (Fauci y Lane, 2006).

Dentro de su patogenia, una vez que una persona es infectada por citomegalovirus es probable que sea portador por el resto de su vida, que en su mayoría suele permanecer en estado de latencia, sin embargo los síndromes de reactivación del CMV aparecen cuando se produce un deterioro de la inmunidad mediada por Linfocitos T, la cual está asociada muy frecuentemente a inmunodeficiencias adquiridas como lo es el SIDA. Además, el CMV por sí mismo contribuye a una hiporreactividad y disminución del número de Linfocitos T CD₄, aumento de los Linfocitos T CD₈, formación de inmunocomplejos, alteraciones en la respuesta celular de linfocitos y monocitos a la Interleucina 1 e Interleucina 2, conllevando así al desarrollo de sobreinfecciones agregadas o infecciones oportunistas. (Rodés y Guardia, 1997).

Dentro del espectro de las manifestaciones clínicas de la infección por CMV frecuente en los pacientes con SIDA se encuentra la retinitis, siendo la primera causa de ceguera en esta población. La cual consiste en una lesión granular formada por infiltrado de color blanco-amarillento y grisáceo, con hemorragias de distribución perivascular y vascular (vasculitis), pudiendo afectar desde un comienzo al nervio óptico o papila (papilitis). Mientras el borde del área afectada se vea blanco y edematoso, la enfermedad está activa; cuando se pigmenta o toma el color de la retina, la enfermedad está inactiva. (Lupo, 2003).

En pacientes con SIDA, las afecciones digestivas por CMV son formaciones de úlceras en esófago, estómago, intestino delgado y colon que pueden evolucionar a

una hemorragia o hacia una perforación, además se destacan con mucha frecuencia cuadros de colecistopancreatitis. En la esfera neurológica, el citomegalovirus produce cuadros de encefalitis que pueden llevar a una demencia progresiva, ventriculoencefalitis caracterizada por déficit de los pares craneales, nistagmo, desorientación, letargo y ventriculomegalia, además también puede provocar una polirradiculopatía subaguda progresiva (González y Verdejo, 1998).

Clásicamente, el diagnóstico de la infección por CMV se ha basado en la presencia de un cuadro clínico compatible junto con el aislamiento del virus por cultivo de alguna muestra. De todas las muestras clínicas, la presencia del virus en la sangre (leucocitos) es la que ofrece mejor correlación con la presencia de la infección sintomática por CMV. Por el contrario, el aislamiento de CMV en otras muestras, como orina o frotis faríngeo, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos, carece de la especificidad diagnóstica necesaria. En el paciente inmunocompetente, la presencia de anticuerpos tipo IgM o el aumento de 4 veces en el título de IgG es aceptado por muchos autores como evidencia de infección reciente. En los pacientes inmunodeprimidos, sin embargo, la serología no es una prueba suficientemente sensible ni específica como para el diagnóstico de enfermedad (Fauci y Lane, 2006). Jääskeläinen *et al.*, (2009) determinaron que la técnica de enzimoimmunoanálisis es excelente, por su buena sensibilidad y especificidad, en la determinación de anticuerpos dirigidos al virus.

En la actualidad se recomienda las técnicas moleculares basadas en tecnologías de PCR cuantitativa, especialmente la PCR en tiempo real utilizando la cuantificación del ADN y ARNm del CMV en sangre, lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo y amniótico, con una elevada sensibilidad (Yoshida, 2008).

Basado en lo anteriormente escrito se realizó la siguiente investigación para determinar la prevalencia de anticuerpos anticitomegalovirus y anti virus varicela

zoster en pacientes portadores del VIH o con SIDA, para así aportar datos epidemiológicos de estas infecciones en la Región y que sirvan de base para investigaciones futuras.

JUSTIFICACIÓN

En el año 2008, la Organización de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) refiriéndose a la epidemia mundial del SIDA, informó que en los países más afectados, el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) ha reducido la expectativa de vida de la población en más de 20 años, afectando el crecimiento económico e incrementado la pobreza de muchos hogares (ONUSIDA, 2008).

Para el año 2007, se registraron 2,7 millones de nuevos casos de infección por el VIH y 2 millones de fallecimientos relacionados con el SIDA. Donde el África Sub-Sahariana continúa siendo la región más afectada y, en el 2007, le correspondieron el 67% de todas las personas que viven con el VIH y el 72% de los fallecimientos a causa del SIDA. Sin embargo, algunos de los aumentos más preocupantes en el número de nuevas infecciones se registran en países muy poblados de otras regiones, como Indonesia, la Federación de Rusia y diversos países de ingresos altos (ONUSIDA, 2008).

Citando nuevamente al caso del África Subsahariana, la epidemia ha dejado huérfanos a casi 12 millones de niños y adolescentes menores de 18 años, sesgando así drásticamente la distribución etaria natural en muchas poblaciones subsaharianas, lo que potencialmente plantea peligrosas consecuencias para la transferencia de conocimiento y valores de una generación a la siguiente, haciendo más vulnerable aún la propagación del VIH. Mientras que en Asia, donde las tasas de infección son mucho más bajas que en África, el VIH genera una disminución de la productividad mayor que cualquier otra enfermedad; y probablemente arrastre a otros 6 millones de hogares a la pobreza para el año 2015, a menos que se intensifiquen las respuestas nacionales (CEPAL, 2006).

Es importante acotar que las mujeres representan la mitad de las personas que viven con el VIH en todo el mundo, y más del 60% de las infecciones por el VIH en África subsahariana. Mientras que los jóvenes entre 15 y 24 años representan el 45% estimado de las nuevas infecciones por el VIH en todo el mundo (CEPAL, 2006).

Para los países del Caribe se estima que, en el 2007, unas 230.000 (210.000-270. 000) personas vivían con el VIH (alrededor de tres cuartos de estas personas en la República Dominicana y Haití), que unas 20.000 (16.000 - 25.000) personas se infectaron con el VIH en esta región y que unas 14.000 (11.000 – 16.000) fallecieron a causa del SIDA. En Latinoamérica, excluyendo los países del Caribe, el total estimado de nuevas infecciones por el VIH para el año 2007 fue de 140.000 (88.000-190.000) y, en consecuencia, el número de personas que viven con el VIH asciende a 1,7 millones (1,5 millones - 2,1 millones). Según las estimaciones, aproximadamente 63.000 (49 000 - 98 000) latinoamericanos fallecieron a causa del SIDA durante el pasado año 2007 (UNESCO, 2008).

Venezuela no escapa de la pandemia del VIH/SIDA, que según declaraciones emitidas por el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) en su último Anuario, la Tasa de Mortalidad General por VIH/SIDA correspondía para el año 2005 al 5,6 por cada 100.000 habitantes. Del mismo modo, se expone que para el año 2006 en Venezuela la Mortalidad General registrada según enfermedades por VIH ocasionaron 1.567 personas fallecidas, donde más del 75% correspondieron al sexo masculino y además la población más afectada fue la comprendida entre 25 y 44 años de edad (63% del total de fallecidos en el país). De este total de fallecidos, al Estado Bolívar correspondieron 174 fallecidos (MPPS, 2006).

Debido a que en el Estado Bolívar existen pocas investigaciones acerca de la prevalencia de anticuerpos anticitomegalovirus y anti virus varicela zoster, en la

población VIH/SIDA se diseñó el siguiente estudio para aportar datos epidemiológicos de estas infecciones en la Región.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus y Anti-Virus Varicela Zoster en pacientes VIH/SIDA. Consulta de Inmunología. Hospital “Julio Criollo Rivas” Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante Septiembre 2008 - Febrero de 2009.

Objetivos Específicos

- Clasificar los pacientes VIH/SIDA según edad y sexo. Consulta de Inmunología. Hospital “Julio Criollo Rivas” Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante Septiembre 2008 - Febrero de 2009.
- Establecer la prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus en pacientes VIH/SIDA según sexo. Consulta de Inmunología. Hospital “Julio Criollo Rivas” Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante Septiembre 2008 - Febrero de 2009.
- Determinar la prevalencia de anticuerpos Anti-Virus Varicela Zoster en pacientes VIH/SIDA según sexo. Consulta de Inmunología. Hospital “Julio Criollo Rivas” Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante Septiembre 2008 - Febrero de 2009.
- Determinar la prevalencia de coinfección entre el Virus Varicela Zoster y Citomegalovirus en pacientes VIH/SIDA.

METODOLOGÍA

Diseño de Investigación

Transversal.

Universo y Muestra

El universo estuvo representado por todos los pacientes seropositivos para el VIH o con SIDA, que acudieron a la Consulta de Inmunología del Hospital “Julio Criollo Rivas”, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante el período Septiembre 2008 - Febrero de 2009.

La muestra fueron todos los pacientes VIH/SIDA, que aceptaron colaborar en esta investigación y expresaron su consentimiento por escrito (apéndice A). Aportando la muestra clínica un total de 88 pacientes.

Procesamiento de las Muestras Clínicas

Prevía autorización de la Dra. Norka Balliache, Jefe del Servicio de Inmunología del Hospital “Julio Criollo Rivas”, para la realización del presente estudio, se obtuvieron las muestras de sangre, de pacientes portadores del VIH o con SIDA, que aceptaron participar en el estudio. Las muestras fueron recogidas en tubos estériles venojet identificados con número correlativo. Cada muestra se conservó a temperatura ambiente y se procedió a la separación del suero, dentro de las siguientes 6 horas. Una vez separado el suero, éste se distribuyó en dos tubos de eppendorf, en volúmenes de 100 µl cada uno. Posteriormente, las muestras fueron refrigeradas a -

70°C hasta su posterior procesamiento mediante la técnica de ELISA, descartándose todos aquellos sueros con algún grado de hemólisis.

Las muestras fueron procesadas mediante la técnica de ELISA para determinar anticuerpos IgM e IgG, anticitomegalovirus y anti virus varicela zoster respectivamente (Diagnostic Automation, 2005).

Recolección de los Datos clínicos

De cada paciente se investigaron datos de identificación clínicos y epidemiológicos de interés (sexo, edad, procedencia, fecha diagnóstica con infección por el VIH, carga viral, consumo de drogas antirretrovirales, conteo de células Linfocitos T CD₄ e infecciones oportunistas padecidas).

Técnicas Utilizadas

Técnica de detección de IgM Anticitomegalovirus, IgM e IgG anti virus varicela –zoster (Diagnostic Automation, 2005).

Esta técnica se realizó siguiendo las pautas y criterios estandarizado por Laboratorios Diagnostic Automation (Estados Unidos), especificado en el protocolo del kit comercial (Catálogo 1202 para IgM Anticitomegalovirus, catálogo 1413 para IgM Antivaricela zoster y catálogo 1412 para IgG Antivaricela zoster) (Anexos 1-3).

Procedimiento:

1. Se preparó la solución buffer necesaria para el lavado, añadiéndose 100 ml de solución buffer en 900 ml de agua destilada.
2. Cada suero, se diluyó 1:40, añadiendo 5 µl de la muestra más 200 µl de la solución diluyente.

3. Los controles positivos y negativos y el calibrador también se diluyeron 1:40, añadiendo 200 µl de solución diluyente, para cada uno respectivamente.

4. En cada pocito de las microplacas se dispensaron 100 µl de las diluciones ya preparadas correspondientes al suero, al control positivo, al control negativo y al calibrador.

5. Se asignó al pocito 1A el reactivo blanco, añadiéndose 100 µl de la solución diluyente.

6. Se dejó reposar a temperatura ambiente, durante un período de 30 minutos.

7. El volumen de cada pocito fue lavado en tres oportunidades consecutivas, con 350 µl de la solución buffer, con un intervalo de tiempo de 30 segundos cada uno.

8. Luego, se dispensó en cada pocito, 100 µl del conjugado enzimático y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente.

9. Se lavó nuevamente en tres oportunidades consecutivas, con 350 µl de la solución buffer, con un intervalo de tiempo de 30 segundos para cada uno.

10. Se añadió 100 µl del sustrato cromógeno TMB en cada pocito y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegiéndolo de la luz.

11. Se adicionó 100 µl de ácido clorhídrico 2N (solución stop) para finalizar la reacción enzimática

12. Posteriormente, se procedió a leer la onda de absorvancia, mediante un espectrofotómetro automatizado, a una longitud de onda de 450 nm.

Todo resultado fue considerado positivo cuando el index de cada suero fue mayor o igual a 1, demostrándose la presencia de las inmunoglobulinas.

Técnica de detección de IgG Anticitomegalovirus (Diagnostic Automation, 2005).

Esta técnica se realizó siguiendo las pautas y criterios estandarizado por Laboratorios Diagnostic Automation (Estados Unidos) para el respectivo

procedimiento, especificado en el protocolo del kit comercial (Catálogo 1201 para IgG Anticitomegalovirus (Anexo 4).

1. Para el lavado se preparó la solución buffer, añadiendo 100 ml de solución buffer en 900 ml de agua destilada.
2. Para cada suero, se prepararon diluciones de 1:40, añadiendo 5 µl de la muestra más 200 µl de la solución diluyente.
3. Con la misma dilución (1:40) se prepararon los control positivo, control negativo, calibrador negativo a 0,1 UI/ml, calibrador positivo a 6 UI/ml y 18 UI/ml respectivamente.
4. En cada pocito de las microplacas se dispensaron 100 µl de las diluciones ya preparadas correspondientes al suero, al control positivo, al control negativo y al calibrador.
5. Se dispensó en el pocito 1A asignado como reactivo blanco, 100 µl de la solución diluyente.
6. Se dejó reposar a temperatura ambiente, durante un período de 30 minutos.
7. Posteriormente cada pocito fue lavado en tres oportunidades consecutivas, con 350 µl de la solución buffer, con un intervalo de tiempo de 30 segundos cada uno.
8. Se dispensó en cada pocito, 100 µl del conjugado enzimático y se dejó incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
9. Se lavó nuevamente en tres oportunidades consecutivas, con 350 µl de la solución buffer, con un intervalo de tiempo de 30 segundos cada lavado.
10. Se añadió 100 µl del sustrato cromógeno TMB en cada pocito y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegiéndolo de la luz.
11. Se adicionó 100 µl de ácido clorhídrico 2N (solución stop) para finalizar la reacción enzimática
12. Por último, se procedió a leer la onda de absorvancia, mediante un espectofotómetro automatizado, a una longitud de onda de 450 nm

Se consideró la presencia de IgG anticitomegalovirus cuando el index de cada suero evaluado sea igual o mayor a 1 o mayor o igual a 1,2 UI/ml.

Cabe destacar que fue necesario calcular de forma cuantitativa, siguiendo el protocolo establecido por el kit comercial, los resultados de los pacientes positivos para IgG anticitomegalovirus. Para ello se procedió a realizar una gráfica con el sistema cartesiano para la obtención del valor de la regresión o desviación estándar según la línea de dispersión, colocándose en el eje de las ordenadas (eje Y) las ondas de absorbancias obtenidas por los controles positivos, calibrador y el control blanco; mientras que en el eje de las abscisas (eje X) se expresó las concentraciones a 0, 1.2, 6 y 18 UI/ml correspondientes a los controles según sugerencia del kit. Se utilizó el programa SigmaPlot 8.0 para el cálculo de las concentraciones en UI/ml de las Ig G para cada paciente según sus absorvancias (Apéndice B).

Para realizar el cálculo del index de cada una de las IgG e IgM, para ambos virus estudiados, se procedió a dividir los valores de las ondas de absorvancias obtenida para cada paciente entre el valor de la media de los calibradores (X_c) según sugerencia del kit.

Análisis e interpretación de resultados

Los resultados fueron analizados mediante frecuencias relativas. Diseñándose una base de datos mediante el SPSS, 5.0 para el cálculo del Ji cuadrado (χ^2), valorándose así la independencia de las variables.

RESULTADOS

En total se evaluaron 88 pacientes seropositivos para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana o con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). La edad de los pacientes estudiados osciló entre 18 y 62 años, siendo la media de 34,4 años $\pm$ 10,7 años. La mayoría (32,95%) pertenecían al grupo de 18-27 años. El 64,77% (n=57) eran del sexo masculino, mientras que el 35,23% (n=31) eran del femenino (Tabla 1).

De los 88 pacientes evaluados, se identificaron 30 casos positivos para IgM anticitomegalovirus (34,09%), predominando en el sexo masculino con un 23,86% (n=21), sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2). Todos los pacientes presentaron IgG anti CMV (88/100%).

La IgM anti virus varicela zoster fue positiva en 33 pacientes (37,50%), prevaleciendo en el sexo masculino (n=20; 22,73%), sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3). La IgG antivariela zoster se demostró en 30 pacientes (34,09%), distribuyéndose de forma homogénea en ambos sexos, sin diferencias significativas (Tabla 4). Cabe mencionar que 23 pacientes tuvieron positivas ambas inmunoglobulinas.

Se observó que 4/88 pacientes (4,55%) presentaron coinfección para ambos virus (Tabla 5). Tomando en consideración, la clasificación de Castro *et al.* (1993), en esta investigación se observaron 48 casos (54,55%) de pacientes VIH positivos, (categorías A1, B1, A2 y B2) y 40 pacientes (45,55%) con SIDA (categorías A3, B3, C1, C2 y C3); basado en la determinación del conteo de linfocitos y carga viral (Tabla 6). La mayoría de los pacientes afectados por la infección aguda por

CMV y VZV provenían del estado Bolívar, particularmente de Ciudad Bolívar (Tabla 7).

TABLA 1
PACIENTES VIH/SIDA EVALUADOS SEGÚN EDAD Y
SEXO. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO
CRIOLLO RIVAS”. ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

Edad (años)	Sexo				Total	
	Femenino		Masculino			
	nº	%	nº	%	nº	%
18-27	10	11,36	19	21,59	29	32,95
28-37	13	14,77	13	14,77	26	29,55
38-47	4	4,55	19	21,59	23	26,14
48-57	3	3,41	4	4,55	7	7,95
58 y más	1	1,14	2	2,27	3	3,41
Total	31	35,23	57	64,77	88	100,00

TABLA 2
PREVALENCIA DE IgM ANTICITOMEGALOVIRUS EN
PACIENTES VIH/SIDA SEGÚN SEXO. CONSULTA DE
INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO CRIOLLO RIVAS”.
ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

IgM	Sexo				Total	
	Femenino		Masculino			
	nº	%	nº	%	nº	%
Positivo	9	10,23	21	23,86	30	34,09
Negativo	22	25,00	36	40,91	58	65,91
Total	31	35,23	57	64,77	88	100,00

p>0,05

TABLA 3
PREVALENCIA DE IgM ANTIVARICELA ZOSTER EN
PACIENTES VIH/SIDA SEGÚN SEXO. CONSULTA DE
INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO CRIOLLO RIVAS”.
ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

IgM	Sexo				Total	
	Femenino		Masculino			
	nº	%	nº	%	nº	%
Positivo	13	14,77	20	22,73	33	37,50
Negativo	18	20,45	37	42,05	55	62,50
Total	31	35,23	57	64,77	88	100,00

p>0,05

TABLA 4
PREVALENCIA DE IgG ANTIVARICELA ZOSTER EN
PACIENTES VIH/SIDA SEGÚN SEXO. CONSULTA DE
INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO CRIOLLO RIVAS”.
ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

IgG	Sexo				Total	
	Femenino		Masculino			
	nº	%	nº	%	nº	%
Positivo	13	14,77	17	19,32	30	34,09
Negativo	18	20,45	40	45,45	58	65,91
Total	31	35,23	57	64,77	88	100,00

p>0,05

TABLA 5
PACIENTES VIH/SIDA SEGÚN COPATOGENICIDAD CMV
Y VZV. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO
CRIOLLO RIVAS”. ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

COPATOGENICIDAD	n° (88)	%
IgG antiCMV/IgG VZV	30	34,09
IgM antiCMV/IgGVZV	7	7,95
IgM anti CMV/IgMVZV	4	4,55
IgG antiCMV/IgMVZV	3	3,41
Todos positivos	4	4,55

TABLA 6
PACIENTES VIH/SIDA SEROPOSITIVOS PARA CMV Y
VZV SEGÚN CONTAJE, RELACIÓN LINFOCITARIA Y CARGA
VIRAL. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA. HOSPITAL “JULIO
CRIOLLO RIVAS”. ESTADO BOLÍVAR. 2008-2009.

Seropositivos	Cuenta y Relación Linfocitaria				Carga Viral	
	CD4/CD8*		CD4		< 50/μL	>50 /μL
	< 0,960	0,960-2,400	< 200 /μL	>200 /μL		
IgM antiCMV	19	11	10	20	19	11
IgG antiCMV	23	65	20	68	43	45
IgM antiVZV	27	6	30	3	14	19
IgG antiVZV	10	20	8	22	26	4

*** Valores Normales:** CD4/CD8: 0,960-2,400

CMV: Citomegalovirus

VZV: Virus de la Varicela Zoster

TABLA 7
PACIENTES VIH/SIDA SEROPOSITIVOS PARA CMV Y
VZV SEGÚN PROCEDENCIA. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA.
HOSPITAL “JULIO CRIOLLO RIVAS”. ESTADO BOLÍVAR.
2008-2009.

PROCEDENCIA	IgM CMV	IgM VZV	IgG CMV/IgG VZV
Ciudad Bolívar	9	12	10
Caicara del Orinoco	1	2	3
Upata	1	1	1
El Tigre	1	2	3
La Paragua	0	1	1
Puerto Ayacucho	0	1	1
Soledad	0	1	1
Otros	0	0	1

Otros: El Pao, Guasipati y Santa Elena

DISCUSIÓN

Este estudio se realizó con la finalidad de determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus y Anti-Virus Varicela Zoster en pacientes VIH/SIDA. Consulta de Inmunología. Hospital “Julio Criollo Rivas” Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante Septiembre 2008 - Febrero de 2009.

Wang *et al.* (2004) evaluaron una muestra de 50 pacientes, 15 del sexo masculino y 35 del femenino, con una edad promedio de $35,5 \pm 16,2$ años. En esta investigación, la media de los pacientes fue similar a la anterior, sin embargo los pacientes del sexo masculino fueron más evaluados que los del femenino, esto probablemente pudiera ser explicado a que sería el grupo más expuestos a las vías de transmisión del VIH, inferencia que podría ser motivo de investigación para futuros estudios en el estado Bolívar.

En esta investigación se demostró que el 34,09% (n=30) de los pacientes evaluados padecían infección aguda por CMV, mientras que el 37,5% (n=33) la tenían para el virus de la varicela zoster. La coinfección se observó en el 4,55% (n=4). Ambas infecciones fueron diagnosticadas por la presencia de la IgM. Seymour *et al.* (1986) han descrito altos títulos de anticuerpos anti CMV, VHS y VZV; lo que podría explicarse por una elevada respuesta humoral ante estos virus, pero con escasa capacidad de neutralización.

Recientemente Tao *et al.* (2008), describieron títulos de IgM anti CMV similares a los informados en este estudio (30,4%/n=96), aunque en esa investigación sólo se estudiaron pacientes con SIDA. Sin embargo, otros autores han descrito resultados menores. Es así como Lazzarotto *et al.* (1992), informan una seroprevalencia de anticuerpos de tipo IgM antiCMV del 8% (n=4/50), en pacientes

VIH/SIDA. Wang *et al.* (2004) demostraron una prevalencia de positividad para la IgM del 68,3% (n=39); esta cifra se explica debido a que de los 50 pacientes evaluados, 39 tenían manifestaciones agudas de la infección por CMV.

Se observó que los títulos de IgM anti VZV superó en tres casos a la IgG anti VZV, quizás debido a que la muestra clínica fue tomada en el período agudo de la infección, en el cual no han aparecido las inmunoglobulinas G.

En esta investigación se observaron 48 casos (54,55%) de pacientes HIV positivos, (categorías A1, B1, A2 y B2) y 40 pacientes (45,55%) con SIDA (categorías A3, B3, C1, C2 y C3). Entre las complicaciones incluidas en la definición de SIDA observada en este grupo de pacientes destacan las infecciones por herpes zoster, citomegalovirus, síndrome de desgaste orgánico, meningitis criptocócica, neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, entre otras. Weinberg *et al.*, (2006) refieren cifras semejantes a la descritas en este estudio, además añaden que la aparición de las complicaciones está en estrecha relación con el bajo conteo de linfocitos CD4 y la disminución del Interferon gamma, el cual actúa como protector inmunitario contra la viremia por CMV y contra el síndrome invasivo en pacientes VIH positivos.

En la actualidad, se ha referido que el descenso del interferon γ se relaciona con una disminución en la replicación del VIH *in vitro* y conversión de cepas monotrópicas (R5) a linfotrópicas (X4) (Springer y Weinberg, 2004). Por ello, se han establecido marcadores inmunológicos y virológicos que se relacionan contra la infección producida por CMV, en un paciente VIH positivo, sobre todo sometidos a TARVAE. Los mismos se clasifican como marcadores inespecíficos: linfocitos T CD4+ T > 100 cells/mm³ y una carga viral < 10.000 RNA copias/mL. Los marcadores específicos para el CMV son producción cualitativa de interferon γ en abundante cantidad en cultivos celulares mononucleares, aparición de células

circulantes T CD4 y T CD8 productoras de interferon γ y ausencia del ADN del CMV en sangre (Salmon-Ceron *et al.*, 2000; Springer y Weinberg, 2004).

El recuento de linfocitos T CD4 es uno de los indicadores más útiles del estado del sistema inmunitario y del avance de la infección por el VIH/SIDA. Se utiliza para determinar cuándo el paciente debe comenzar, interrumpir o discontinuar el tratamiento contra el VIH; administrar un tratamiento preventivo para las infecciones oportunistas; y medir la respuesta al tratamiento. Se considera que en las personas infectadas por el VIH, un recuento de linfocitos T CD4 de 200 mm³ ó menos es característico del SIDA. La carga viral es la cantidad de ARN del VIH en una muestra de sangre, notificada como el número de copias de ARN del VIH por mililitro de plasma sanguíneo. Proporciona información sobre el número de células infectadas por el VIH y es un indicador importante del avance de la infección por el VIH y de la eficacia del tratamiento (Lupo, 2003).

En esta investigación se observó como resultado importante que los pacientes con IgM antiCMV tenían deprimido el intervalo CD4/CD8 y una carga viral menor de 50 y los que presentaban sólo IgG antiCMV se observó sólo alteración de la carga viral (<50). En los primeros, puede ser explicado por un mecanismo que se ha venido estudiando en los últimos años y de hecho explica el por qué algunos autores consideran al CMV como un cofactor en la progresión al SIDA (Griffiths, 2006). Evidencias han revelado que la terapia antirretroviral de alta eficacia (TARVAE) es capaz de controlar la progresión a la enfermedad invasora por CMV, pero a pesar de ello, no ha podido limitar la progresión a SIDA, aunque la carga viral sea baja.

Otras hipótesis se asocian con el tipo de tratamiento, específicamente la toxicidad de la didanosina. Algunos pacientes en regímenes con tenofovir/didanosina, presumiblemente presenta una inhibición de la purina fosforilasa (PNP), en el caso de tenofovir; mientras eleva la toxicidad de la didanosina. El ganciclovir y su prodroga,

valganciclovir también inhibe el PNP e incrementa la concentración de didanosina. Esto podría explicar la disminución de la carga viral y del conteo CD4/CD8. En estos casos se recomienda disminuir la dosis de didanosina o sustituirlo por otro antirretroviral (Tseng, 2007).

Por otro lado, se ha sugerido, que en todo pacientes con IgG antiCMV y carga viral > 50 copias/mL se debe considerar una nueva infección por CMV, sobre todo en pacientes que estén siendo tratados con TARVAE (Erice *et al.*, 2003).

En los pacientes afectados por infección aguda por el VZV, se observó una depresión de la relación CD4/CD8, conteo de CD4 y carga viral; a diferencia de los que sólo presentaban IgG anti VZV, donde tienden a la normalidad en todos los parámetros. En revisiones de bases de datos bibliográficas no se consiguió alguna investigación que pudiera servir de base para discutir este resultado, por lo que habría tomarse en cuenta en futuras investigaciones.

Es conveniente acotar que existen numerosos factores que pueden afectar negativamente el objetivo terapéutico de los pacientes seropositivos al VIH, como son el estadio clínico, la cepa viral infectante, la historia de tratamientos previos, la viremia basal y los factores farmacocinéticos, pero entre ellos cabe destacar por su importancia, la incorrecta adhesión al tratamiento. Este es un potente signo indicador de la respuesta a la terapéutica antirretroviral. La adhesión incorrecta no se limita a la omisión de tomas, sino que incluye otros aspectos como la reducción de la dosis prescrita, no respetar los intervalos de administración, no ajustarse a los requerimientos del tratamiento en cuanto a su relación con las comidas u otras circunstancias (Knobel *et al.*, 2000). En esta investigación, quizás esta fue una de las razones que explique la prevalencia de infección por CMV y VZV, pues el grado de inmunosupresión se correlacionó con pacientes que no estaban tomando el tratamiento de forma adecuada ($n=31$; 35,22%).

Wang *et al.*, (2004) y Tao *et al.*, (2008) demostraron la presencia de retinitis por CMV en pacientes con contajes de linfocitos T CD4 menores a 200 mm^3 . En esta investigación se determinó a diferencia de las anteriores, un caso de herpes zoster diseminado en un paciente con infección aguda diseminada por VZV.

El hecho que existan varios casos de pacientes con infección aguda por el VZV y crónica por el CMV puede ser explicado por evidencias demostradas desde un punto de vista inmunológico, entre ellas destacan la expresión de linfocitos CD8, los cuales se han observado en enfermedades asociadas a la exposición crónica de antígenos, incluyendo VIH, mieloma múltiple, artritis reumatoide, infección por CMV y la asociada a transplante, entre otras. Además se ha descrito la expresión del antígeno CD57 y la pérdida del CD28. Al parecer estos determinantes antígenos provocan una alteración de la habilidad proliferativa de los linfocitos citotóxicos y aceleración de la apoptosis (Salmen *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2007; Wood *et al.*, 2009).

Los avances alcanzados en los últimos años han disminuido notablemente la morbimortalidad de los pacientes infectados por el VIH, permitiéndole en muchos casos, una mejor calidad de vida. La determinación de la carga viral plasmática, el empleo de nuevas combinaciones de fármacos antirretrovirales, la mejora en las técnicas diagnósticas y el desarrollo de estrategias preventivas han permitido que la enfermedad por este virus pueda ser considerada en la actualidad, como un proceso crónico (Galvez y Villanueva, 2003).

Con relación a las técnicas diagnósticas, el test de ELISA se utiliza para valorar a presencia de anticuerpos de tipo IgM e IgG anticitomegalovirus, tanto en suero como en otros fluidos tipo intraocular. Específicamente cuando se evalúa el fluido intraocular y se compara su uso con otras técnicas como el PCR, autores como Madhavan y Priva (2003) refieren que el ELISA es capaz de detectar anticuerpos

contra el CMV y VZV en un 76% y 80% de los casos respectivamente. Sin embargo, aunque el PCR afina el diagnóstico del genoma viral y por lo tanto detecta mayor número casos, el ELISA se recomienda sobre todo en laboratorios donde no se dispongan los equipos necesarios para realizar Biología Molecular.

Para Jääskeläinen *et al.*, (2009) la técnica de ELISA en la determinación de IgG e IgM anticitomegalovirus por su buena especificidad. Sin embargo la sensibilidad varía dependiendo del herpesvirus aislado, en el caso de CMV es excelente.

En el caso de las infecciones de la varicela zoster en pacientes VIH son pocos los estudios que valoran la sensibilidad y especificidad de las técnicas diagnósticas. Al respecto Arvin y Koropchak (1980), concluyen que la técnica ELISA tiene una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de los anticuerpos dirigidos contra el virus, en pacientes VIH/SIDA.

El estado Bolívar se encuentra ubicado en el quinto caso en cuanto número de casos de VIH/SIDA, después de los estados Vargas, Zulia y Región Central (Nieto, 2008). Balliache *et al.* (2004) refirieron que en el estado Bolívar se evidencia un aumento en la morbilidad de esta infección. Para el año 2001, se registró un total de 736 casos de seropositivos al VIH, predominando en el sexo masculino (60%); tendencia que se sigue observando en este estudio. En el año 2004, la infección estuvo distribuida en todos los distritos sanitarios del estado Bolívar, siendo mayor en el N° 2 (58,2%), seguido del distrito sanitario N° 1 (34,6%). Cuando se aprecia la procedencia de los casos VIH/SIDA en este estudio la mayoría provienen del Distrito Sanitario N° 2, sin embargo, los casos de infecciones agudas por CMV y VZV son de Ciudad Bolívar, quizás porque el lugar de referencia de los casos se sitúa en esa ciudad y porque se aplicó la determinación de anticuerpos anti VZV en un período de tiempo determinado.

Es importante destacar, en cuanto a esta última hipótesis, que en el Distrito Sanitario N° 2 hasta el año 2005 existían 2400 personas infectadas con el VIH. Sin embargo, no se puede asegurar completamente que sea explicado a un incremento real de personas infectadas, puesto que también los encargados del Programa del VIH han elevado esfuerzos en el área de diagnóstico, lo que reforzaría recomendar la determinación serológica del VZV para mejorar y exponer la situación real de esta infección en pacientes VIH/SIDA.

CONCLUSIONES

- Se demostró una alta prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus (IgM anti CMV 34,09% e IgG antiCMV 100%) y Anti-Virus Varicela Zoster (IgM 37,50% e IgG 34,09%) en pacientes VIH/SIDA, destacando sobre todo las cifras de los anticuerpos dirigidos al VZV, pues en la Región hasta los momentos no se había realizado su determinación.

- No hubo relación estadísticamente significativa entre los afectados con infección aguda por CMV y VZV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjei, A., Armah, H., Gbagbo, F., Boamah, I., Adu-Gyamfi, C., Asare, I. 2008. Seroprevalence of HHV-8, CMV, and EBV among the general population in Ghana, West Africa. *BMC Infectious Diseases*. 8:111.
- Almanzar, G., Schwaiger, S., Jenewein, B. 2005. Long-term cytomegalovirus infection leads to significant changes in the composition of the CD8+ T cell repertoire, which may be the basis for an imbalance in the cytokine production in elderly persons. *J. Virol.* 79: 3675–3683.
- Amitinder, K., Michael, R., Johnson, P. 2000. Immunological memory and acquired immunodeficiency syndrome pathogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 355: 381-390.
- Arvin, A., Koropchak, C. 1980. Immunoglobulins M and G to Varicella-Zoster Virus Measured by Solid-Phase Radioimmunoassay: Antibody Responses to Varicella and Herpes Zoster Infections. *J. Clin. Microbiol.* 12: 367-374.
- Baliache; N., Belisario, M., Rivera, M., Sandoval, M., Coraspe, C., Mata, A., *et al.* 2004. Perfil epidemiológico de la infección por VIH/SIDA en el estado Bolívar. Programa de VIH/SIDA. UDO. Bolívar. Foro (Resumen). pp.62.
- Bolokadze, N., Gabunia, P., Ezugbaia, M., Gatserelia, L., Khechiashvili, G. 2008. Neurological complications in patients with HIV/AIDS. *Georgian Medical News*. 165: 34-38.
- Bronke, C., Palmer, N., Jansen, C. 2005. Dynamics of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells in HIV-1-infected individuals progressing to AIDS with CMV end-organ disease. *J. Infect. Dis.* 191: 873-880.
- Cabrera, S., Klyger, G., Dutra, A., Sosa, A., Lombardo, K., Savio, E., *et al.*, 2005. Linfoma primario del Sistema Nervioso Central de un paciente con SIDA. *Rev. Med. (Uruguay)*. 21: 68-74.

- Carbajal-Martel, B., Bu-Figueroa, E., Sierra-Santos, M. 2002. Prevalencia de infecciones oportunistas en pacientes VIH positivo asociados al conteo disminuido de Células Linfocitos CD4+. Hospital Escuela Mayo-Septiembre, 2001. Rev. Med. Post UNAH (Honduras). [Serie en Línea] 7:10-14. Disponible: <http://www.bvs.hn> [Septiembre, 2008].
- Carrillo, E., Villegas, A. 2004. El descubrimiento del VIH en los albores de la epidemia del Siglo. Rev. Invest. Clín. (México). 56: 130-133.
- Castro, K., Ward, J., Slutsker, L., Buehler, J., Jaffe, H., Berklman, R. 1993. Revised Classification System For HIV infection Nad expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR. 41: 39-40.
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe. 2006. Social panorama of Latin America. Naciones Unidas. Santiago, Chile. pp. 422.
- Cooper, D., Gold, J., Maclean, P., Donovan, B., Finlayson, R., Barnes, T. 1985. Acute AIDS retrovirus infection. Definition of clinical associated with seroconversion. Lancet. 1: 537-540.
- Corey, L. 2000. Herpes Simplex Virus. In: Mandell, G., Bennett, J., Dolin, R. (edits). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infection diseases. Vol. II. 5ª ed. New York: Churchill Livingstone Inc. pp.1580.
- Daar, E., Little, S., Pitt, J. 2001. Diagnosis of primary HIV-1 infection. Ann. Inter. Med. 134: 25-29.
- De la Rosa, R., Leal, M. 2003. Thymic involvement in immune recovery among chronic HIV-infected adults under highly active antiretroviral therapy. J. Antimicrob. Chemother. 52:155-158.
- Deayton, J., Sabin, C., Johnson, M. 2004. Importance of cytomegalovirus viraemia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. Lancet. 363: 2116-2121.
- Derdeyn, C., Silvestri, G. 2005. Viral and host factors in the pathogenesis of HIV infection. Curr. Opin. Immunol. 17: 366-373.

- Diagnostic Automation, 2005. Microwell ELISA, CMV IGM. Catálogo 1202. California. pp 2.
- Diagnostic Automation, 2005. Microwell ELISA, CMV IGG. Catálogo 1201. California. pp 2.
- Diagnostic Automation, 2005. Microwell ELISA, VZV IGM. Catálogo 1413. California. pp 2.
- Diagnostic Automation, 2005. Microwell ELISA, VZV IGM. Catálogo 1412. California. pp 2.
- Dosne, C. 2003. Cronología del descubrimiento del HIV como causa del SIDA. Medicina (Buenos Aires). [Serie en Línea] 63: 183-186. Disponible: <http://www.scielo.org.ar> [Octubre, 2008].
- Elkington, R., Walker, S., Crough, T. 2003. Exvivo profiling of CD8+Tcell responses to human cytomegalovirus reveals broad and multispecific reactivities in healthy virus carriers. J. Virol. 77: 5226–5240.
- Erice, A., Tierney, C., Hirsch, M. 2003. Cytomegalovirus (CMV) and human immunodeficiency virus (HIV) burden, CMV endorgan disease, and survival in subjects with advanced HIV infection. AIDS Clinical Trials Group Protocol 360. Clin. Infect. Dis. 37: 567–78.
- Fauci, A., Lane, C. 2006. Enfermedad por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana: SIDA y procesos relacionados. In: Braunwald, E., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., Jameson, L. Harrison: Principios de Medicina Interna. Edit. MC Graw Hill. Nueva York. 16ª ed. Tomo I. Cap. 173: 1164-1265.
- Ferguson, M., Rojo, D., Von Lindern, J., O'Brien, W. 2002. HIV-1 replication cycle. Clin. Lab. Med. 22: 611-635.
- Fiala, M., Mosca, J., Barry, P., Luciw, P., Vinetrs, H. 1991. Multi-step pathogenesis of AIDS-role of cytomegalovirus. Res. Inmunol. 142: 87-95.
- Fundación Huésped en Acción Contra el SIDA. 2006. Guía para la cobertura del VIH/SIDA. [Serie en Línea]. pp. 8. Disponible: <http://www.huespes.org.ar> [Diciembre, 2008].

- Gallo, R. 1984. The family of human lymphotropic retroviruses called HTLV: HTLV-I in adult T-cell leukemia (ATL), HTLV-II in hairy cell leukemias, and HTLV-III in AIDS. Princess Takamatsu Symp. 15:13-38.
- Gallo, R., Montagnier, L. 2003. The Discovery of HIV as the Cause of AIDS. N. Engl. J. Med. 349: 2283-2285.
- Galvez, J., Villanueva, J. 2003. Evaluación inicial y evolutiva del paciente infectado por el VIH. [En línea]. Disponible en: <http://saei.org/hemerot/libros/guía2003.asp>. [2009, Abril].
- Getachew, S., Britt, W., Lakeman, F., Lockridge, K., Tarara, L., Canfield, D., *et al.* 2002. Experimental Coinfection of Rhesus Macaques with Rhesus Cytomegalovirus and Simian Immunodeficiency Virus: Pathogenesis. J. Virol. 76: 7661–7671.
- Gratama, J., van Esser, J., Lamers, C. 2001. Tetramer-based quantification of cytomegalovirus (CMV)-specific CD8+ T lymphocytes in T cell-depleted stem cell grafts and after transplantation may identify patients at risk for progressive CMV infection. Blood. 98: 1358–1364.
- Griffiths, P. 2006. CMV as a cofactor enhancing progression of AIDS. J. Clin. Virol. 35: 489-492.
- González, A., Tobón, A. 2006. Infecciones micóticas oportunistas en pacientes con VIH/SIDA. Rev. Infectio. [Serie en Línea] 10: 279-288. Disponible: <http://www.revistainfectio.org> [Noviembre, 2008].
- González, J., Verdejo O. 1998. Infecciones Víricas en pacientes VIH positivos. Medicine (Madrid, España). [Serie en Línea] 7: 3883-3888. Disponible: <http://www.sepeap.es> [Octubre, 2008]
- Gundín, G., Monedero, J., Teba, L., Pérez, E., Sanz R. 2006. Infección por herpes zoster con afectación cocleovestibular aislada (sin parálisis facial). Acta Otorrinolaringología (España). [Serie en Línea] 57:189-192. Disponible: <http://acta.otorrinolaringol.esp.medynet.com> [Diciembre, 2008].

- Hahn, G., Jores, R., Mocarski, E. 1998. Cytomegalovirus remains latent in a common precursor of dendritic and myeloid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95: 3937–3942.
- Heeney, J., Dalgleish, A., Weiss, R. 2006. Origins of HIV and the evolution of resistance to AIDS. *Science*. 313: 462–466.
- Holland, G. 2008. AIDS and ophthalmology: the first quarter century. *Am. J. Ophthalmol.* 145: 397–408.
- Jääskeläinen, A., Moilanen, K., Bühler, S., Lappalainen, M., Vapalahti, O., Vaheri, A. *et al.* 2009. Serological microarray for detection of HSV-1, HSV-2, VZV, and CMV antibodies. *J. Virol. Methods*. 35: 11–16.
- Khan, N., Bruton, R., Taylor, G. 2005. Identification of cytomegalovirus specific cytotoxic T lymphocytes in vitro is greatly enhanced by the use of recombinant virus lacking the US2 to US11 region or modified vaccinia virus Ankara expressing individual viral genes. *J. Virol.* 79: 2869–2879.
- Khan, N., Cobbold, M., Keenan, R. 2002. Comparative analysis of CD8+ T cell responses against human cytomegalovirus proteins pp65 and immediate early 1 shows similarities in precursor frequency, oligoclonality, and phenotype. *J. Infect. Dis.* 185: 1025–1034.
- Kedhar, S., Jabs, D. 2007. Cytomegalovirus retinitis in the era of highly active antiretroviral therapy. *J. IHMF*. 14: 66–71.
- Knobel, H., Codina, C., Miró, J., Carmona, A., García, B., Antela, A., *et al.* 2000. Recomendaciones GESIDA/SEFH/PNS para mejorar la adherencia al tratamiento antiretroviral. *Enferm. Infecc. Microb. Clín.* 18: 27–39.
- Kondo, K., Mocarski, E. 1995. Cytomegalovirus latency and latency-specific transcription in hematopoietic progenitors. *Scand. J. Infect. Dis.* 99: 63–67.
- Kumar, H., Gupta, P., Kumar, S., Sarkar, R. 2008. Is seroprevalence of anti-Ig. M CMV among blood donors relevant in India. *Indian J. Pathol. Microb.* 51: 351–352.

- La Rosa, C., Wang, Z., Lacey, S. 2005. Characterization of host immunity to cytomegalovirus pp150 (UL32). *Hum. Immunol.* 66: 116–126.
- Lazarte, S., Bravo, F., Samalvides, F., Del Solar, M., Guerra, O., Verdonck, K. *et al.* 2005. Frecuencia de infección por VIH en pacientes con episodio agudo de Herpes Zóster. *Rev. Med. Hered.* 16:19-25.
- Lazzarotto, T., Dal Monte, P., Boccuni, M., Ripalti, A., Landini, M. 1992. Lack of Correlation between Virus Detection and Serologic Tests for Diagnosis of Active Cytomegalovirus Infection in Patients with AIDS. *J. Clin. Microbiol.* 30: 1027-1029.
- Leal, M., Pulido, I. 2006. Cuando sospechar una primoinfección por el VIH. *JANO.* 16: 21-27.
- Levy, J. 2003. The search for the CD8+ cell anti-HIV factor (CAF). *Trends Immunol.* 24: 628-632.
- Levy, J., Hoffman, A., Kramer, S., Landis, J., Shimabukuro, J., Oshiro L. 1984. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science.* 225: 840-842.
- Levy, J., Scott, I., Mackewicz, C. 2003. Protection from HIV/AIDS: the importance of innate immunity. *Clin. Immunol.* 108:167-174.
- Ljunggren, K., Karlson, A., Fenyo, E., Jondal, M. 1989. Natural and antibody-dependent cytotoxicity in different clinical stages of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin. Exp. Immunol.* 75:184-189.
- Lupo, S. 2003. Clínica y Terapéutica de la infección por VIH y SIDA. Edit. UNR. Argentina. 1ª ed. Cap. 5:81-89.
- Nuño, E., García, E., Fernández, S., Gutiérrez, V. 2003. La infección por el VIH: Guía Práctica. En: Pachón, J., Pujol, E., Rivero, A. (Edit). Edit. Sociedad Andaluza de Infecciones Infecciosas. 2ª ed. España. Cap 22: 265-274.
- Madhavan, H., Priva, K. 2003. The diagnostic significance of enzyme linked immuno-sorbent assay for herpes simplex, varicella zoster and cytomegalovirus retinitis. *Indian J. Ophthalmol.* 51: 71-75.

- Marcano, M., Serrano, N., Urrestarazu, M. 2006. El Test de Tzanck como herramienta diagnóstica en lesiones de piel: Estudio preliminar. *Rev. Soc. Microbiología. (Venezuela)*. 26: 27-30.
- Martínez, P., Díaz, R., González, D., Oropesa, L., González, R., Pérez, L., Viera, J., Kourí, V. 2007. The effect of highly active antiretroviral therapy on outcome of central nervous system herpesviruses infection in Cuban human immunodeficiency virus-infected individuals. *J. Neurovirol.* 13: 446-451.
- McCune, J. 2001. The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. *Nature*. 410: 974-979.
- Mehandru, S., Tenner-Racz, K., Racz, P., Markowitz, M. 2005. The gastrointestinal tract is critical to the pathogenesis of acute HIV-1 infection. *J. Allergy Clin. Immunol.* 116: 419-422.
- Mild, M., Esbjörnsson, J., Fenyö, E., Medstrand, P. 2007. Frequent Intrapatient Recombination between Human Immunodeficiency Virus Type 1 R5 and X4 Envelopes: Implications for Coreceptor Switch. *J. Virol.* 81: 3369-3376.
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). 2006. Anuario de Mortalidad 2006. República Bolivariana de Venezuela. [Serie en Línea] Disponible: <http://www.mpps.gob.ve> [Febrero, 2009].
- Montagnier, L., Chermann, J., Barré-Sinoussi, F., Klatzmann, D., Wain-Hobson, S., Alizon M, et al. 1984. Lymphadenopathy associated virus and its etiological role in AIDS. *Princess Takamatsu Symp.* 15: 319-331.
- Montagnier, L. 1986. Lymphadenopathy associated virus: its role in the pathogenesis of AIDS and related diseases. *Prog. Allergy.* 37: 46-64.
- Mujtaba, S., Varma, S., Sehgal S. 2003. Cytomegalovirus co-infection in patients with HIV/AIDS in north India. *Indian J. Med. Res.* 117: 99-103.
- Nieto, R. 2008. Luchar contra el VIH/SIDA. [En línea]. Disponible en: <http://www.correodelcaroní.com/content/view/31516/155>. [2009, Enero].

- O'Brien, W., Hartigan, P., Martin, D., Esinhart, J., Hill, A., Benoit, S., *et al.* 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progressive to AIDS. *N. Engl. J. Med.* 334: 426-431.
- Organización de las Naciones Unidas-SIDA (ONU-SIDA). 1999. Enfermedades oportunistas relacionadas con el VIH. Colección Prácticas Óptima del ONUSIDA. pp. 12.
- Organización de las Naciones Unidas-SIDA (ONUSIDA). 2008. Resumen Mundial sobre la Pandemia VIH/SIDA. Informe del grupo de trabajo ONUSIDA OMS sobre la vigilancia mundial del VIH/SIDA y las ITS. Colección Prácticas Óptima del ONUSIDA. pp. 29.
- Pantoja, J., Candela, J. 2002. Infección por Virus Varicela Zóster en niños con infección VIH-SIDA en el Instituto de Salud del Niño, 1989 – 1999. *Pediátrica*. [Serie en Línea] 4(2):7-14. Disponible: <http://sisbib.unmsm.edu.pe> [Septiembre, 2008].
- Phillips, A. 1996. Reduction of HIV concentration during acute infection: independence from a specific immune response. *Science*. 271: 497-499.
- Picazo, J., Abad, P., Rodríguez, J. 2000. Tratamiento antiviral del Herpes Zóster. *Emergencias*. [Serie en Línea] 12:S29-S34. Disponible: <http://www.semes.org> [Septiembre, 2008]
- Pilcher, C., Eron, J., Galvín, S., Gay, C., Cohen, M. 2004. Acute HIV revisited: new opportunities for treatment and prevention. *J. Clin. Invest.* 113: 937-945.
- Picker, L. 2006. Immunopathogenesis of acute AIDS virus infection. *Current Opinion Immun.* 18: 399-405.
- Ramesh, S., Paranjape, I. 2005. Immunopathogenesis of HIV infection. *Indian. J. Med. Res.* 121: 240-255.
- Rodés, J., Guardia, J. 1997. *Medicina Interna*, Tomo I. Edit. Masson, S.A. Barcelona, España. Parte XII, Cap.52:1934-1938.
- Rosenberg, E., Billingsley, J., Caliendo, A. 1997. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. *Science*. 278: 1447-1450.

- Sanz, B., Quintana, J., Martín, I. 2002. Manejo del episodio agudo de Herpes Zóster y la neuralgia post-herpética. Medifam. [Serie en Línea] 12: 175-183. Disponible: <http://scielo.isciii.es> [Diciembre, 2008].
- Salmen, S., Guillermo, C., Colmenares, M. 2005. Papel del virus de la inmunodeficiencia humana en la apoptosis de leucocitos de pacientes infectados. Invest. Clin. 46: 289-305.
- Salmon-Ceron, D., Mazon, M., Chaput, S. 2000. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS. 14: 1041-1049.
- Seymour, H., Kiefer, D., Friedman-Kien, A., Poiesz, B. 1986. Antibody Levels for Cytomegalovirus, Herpes Simplex Virus, and Rubella in Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. J. Clin. Microbiol. 23: 318-321.
- Sharvadze, L., Tsertsvadze, T., Gochitashvili, N., Bolokadze, N., Dolmazashvili, E. 2006. Peculiarities of herpes zoster in immunocompetent and immunocompromised hosts. Georgian Medical News. 41: 50-53.
- Sharvadze, L., Tsertsvadze, T., Gochitashvili, N., Stvilia, K., Dolmazashvili, E. 2006. HIV prevalence among high risk behavior group persons with herpes zoster infection. Georgian Medical News. 132: 60-64.
- Sierra, J. 2004. Taxonomía y Virus de la inmunodeficiencia Humana. Rev. Patol. Clin. (México). 51: 37-41.
- Sierra, S., Kupfer, B., Kaiser, R. 2005. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. J. Clin. Virol. 34: 233-244.
- Singh, K., Howard, J., Wild, S., Jones, S., Hoy, J., Lewin, S. 2007. Human cytomegalovirus (CMV)-specific CD8⁺ T cell responses are reduced in HIV-infected individuals with a history of CMV disease despite CD4⁺ T cell recovery. Clin. Immunol. 124: 200-206.

- Springer, K., Weinberg, A. 2004. Cytomegalovirus infection in the era of HAART: fewer reactivations and more immunity. *J. Antimicrob. Chemother.* 54: 582–586.
- Steininger C, Puchhammer-Stöckl E, Popow-Kraupp T. Cytomegalovirus disease in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART). *J. Clin. Virol.* 37: 1-9.
- Stone, S., Price, P., French, M. 2006. Cytomegalovirus (CMV)-specific CD8+ T cells in individuals with HIV infection: correlation with protection from CMV disease. *J. Antimicrob. Chemother.* 57: 585–588.
- Stone, S., Price, P., Khan, N. 2005. HIV patients on antiretroviral therapy have high frequencies of CD8+ T cells specific for immediate early protein-1 of cytomegalovirus. *AIDS.* 19: 555–562.
- Suzuki, H., Motohara, M., Miyake, A. 2005. Intrathymic effect of acute pathogenic SHIV infection on T-lineage cells in newborn macaques. *Microbiol. Immunol.* 49: 667-679.
- Tao, M., Ye, J., Kuang, J. 2008. Twenty-three cases of cytomegalovirus infection in acquired immunodeficiency syndrome. *Chinese J. Int. Med.* 47: 802-804.
- Tseng, A. 2007. CD4+ Cell Count Decline Despite HIV Suppression: A Probable Didanosine-Valganciclovir Interaction. *Ann. Pharmacoth.* 41: 512-517.
- UNESCO, 2008. UNESCO studies: HIV and AIDS prevention. París. pp. 127.
- UNICEF, UNESCO-OMS. 1998. El VIH/SIDA en Venezuela. Análisis de la situación y recomendaciones ONUSIDA. Banco Mundial, Venezuela. pp. 35.
- Varmus, H. 1988. Retroviruses. *Science.* 240: 1427-1435.
- Vignale, R., Paciel, J., Abulafia, J. 2005. Presentación clínica infrecuente de infección por VVZ en un paciente inmunocompetente. *Med. Cutan Iber Lat Am.* [Serie en Línea] 33:119-123. Disponible: <http://www.medcutan-ila.org> [Octubre, 2008].

- Wang, H., Qiu, Z., Sheng, R., Zhao, Y., Zhu, X., Hao Y. *et al.* 2004. Clinical analysis of 50 cases of cytomegalovirus disease. *Zhonghua Nei. Ke. Za. Zhi.* 43: 600-603.
- WHO. 1986. WHO/CDC case definition for AIDS. *Wkly. Epidem. Rec.* 61: 69-76.
- Wills, M., Carmichael, A., Mynard K. 1996. The human cytotoxic T-lymphocyte (CTL) response to cytomegalovirus is dominated by structural protein pp65: frequency, specificity, and T cell receptor usage of pp65-specific CTL. *J. Virol.* 70: 7569-7579.
- Weinberg, A., Tierney, C., Kendall, M., Bosch, R., Patterson-Bartlett, J., Erice, A. 2006. Cytomegalovirus-Specific Immunity and Protection against Viremia and Disease in HIV-Infected Patients in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *J. Infect. Dis.* 193: 488-493.
- Weller, T. 1983. Varicella and herpes zoster. Changing concepts of the natural history, control and importance of a not sobenign virus. *N. Engl. J. Med.* 309: 1362-1368.
- Whitley, R. 2000. Varicella Zoster Virus. In: Mandell, G., Bennett, J., Dolin, R. (edits). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infection diseases.* Vol. II. 5^a ed. New York: Churchill Livingstone Inc. pp: 1580-1586.
- Wong-Staal, F., Gallo, R. 1985. Human T- lymphotropic retroviruses. *Nature.* 317: 395-403.
- Wood, K., Twigg, H., Doseff, A. 2009. Dysregulation of CD8+ lymphocyte apoptosis, chronic disease, and immune regulation. *Front Biosci.* 14: 3771-3781.
- Wu, L., Kewal-Ramani, V. 2006. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. *Nat. Rev. Immunol.* 6: 859-868.
- Yoshida, A. 2008. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infections and disease. *Rinsho Byori.* 56: 1034-1042.
- Xu, X., Screaton, G. 2001. HIV-1 Nef: negative effector of Fas? *Nat. Immunol.* 2: 384-385.

APÉNDICE

APÉNDICE A
UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NUCLEO BOLIVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DPTO. DE PARASITOLOGIA Y MICROBIOLOGIA

Estimado Paciente:

Actualmente en el Departamento de Parasitología y Microbiología, de la Universidad de Oriente, se está desarrollando un estudio denominado SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VARICELA ZOSTER Y ANTI-CITOMEGALOVIRUS EN PACIENTES VIH/SIDA. CIUDAD BOLÍVAR, ESTADO BOLÍVAR, como parte de un proyecto de investigación subvencionado por el Consejo de Investigación, de la Universidad de Oriente. Es llevado a cabo por los Dres. Rodolfo Devera e Ixora Requena de Castillo. Sólo requerimos su autorización por escrito y una muestra de sangre y nos comprometemos a realizar el estudio totalmente gratuito y entregar el resultado a la brevedad posible al servicio de Inmunología, Hospital Julio Criollo Rivas.

Fecha:

AUTORIZACIÓN

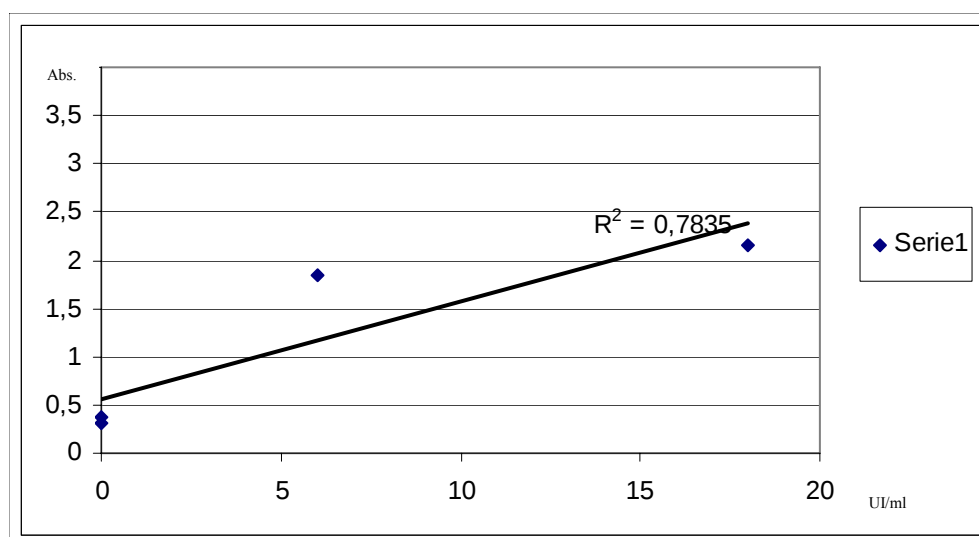
Yo

_____**C.I.**_____

Acepto que participar en el estudio denominado SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-VARICELA ZOSTER Y ANTI-CITOMEGALOVIRUS EN PACIENTES VIH/SIDA. CIUDAD BOLÍVAR, ESTADO BOLÍVAR, bajo las condiciones explicadas en la parte anterior

APENDICE B

Estimación cuantitativa en UI/ml Vs. Onda de Absorvancia de IgG anti-citomegalovirus en pacientes VIH/SIDA. Consulta de Inmunología. Hospital Julio Criollo Rivas. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar.



ANEXOS

ANEXO 2

DIAGNOSTIC AUTOMATION INC. **MICROWELL ELISA** **VZV IgM**

Catalog No. 1413
[96 tests]

SUMMARY OF ASSAY PROCEDURE

Step	(25-25°C Room Temp.)	Reagents	Incubation Time
1	Sample dilution 1:40 + 5 µl / 200 µl		
2	Diluted samples, calibrator & controls	100 µl	30 minutes
3	Washing buffer (3 times)	100 µl	
4	Enzyme conjugate	100 µl	30 minutes
5	Washing buffer (3 times)	100 µl	
6	TMB Chromogenic Substrate	100 µl	30 minutes
7	Stop solution	100 µl	
8	Reading OD value		

NAME AND INTENDED USE

The **DIAGNOSTIC AUTOMATION ELISA, VZV IgM** is intended for use in evaluating a patient's serologic status to VZV infection. It is also used to evaluate panel sera for the presence of a significant increase in specific IgM as indicative of a primary or reactivated VZV infection.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Varicella, more commonly known as chickenpox, and herpes zoster are known clinical manifestations of infection with varicella-zoster virus (VZV) [1,2].

Chicken pox, the classic syndrome usually produced as a result of the primary infection with VZV, is a highly contagious disease characterized by widely spaced vesicular eruptions and fever. The disease is endemic in the U.S. and most commonly affects children from two to eight years of age, although adults and younger children, including infants, may develop chickenpox. Every two to five years, usually in the winter or spring, the number of cases increases to epidemic levels. VZV infection during early pregnancy has been implicated in congenital anomalies or neon deaths. When infection occurs in late, life-threatening infections can occur in the newborn [3,4,5,6].

Herpes zoster is usually a disease of adults, with most cases appearing in persons fifty years or older. Evidence suggests that the reactivation of VZV infection results from a reactivation of virus which has remained latent in the sensory neural ganglia after the primary infection rather than a reinfection at the virus site for host [7]. Fever and painful localized vesicular eruptions of the skin along the distribution of the involved nerves are the most common clinical symptoms of the condition. Zoster lesions can be mistaken for the vesicles lesions produced by herpes simplex virus in which reactivation is common [1,2]. However, reactivation of herpes zoster are extremely rare.

The various methods of serodiagnostic tests for the detection of VZV antibodies in a patient's serum include indirect immunofluorescence, neutralization, complement fixation and fluorescent antibody to membrane antigen (FAMA) [8, 9, 10]. FAMA is generally considered the most sensitive and specific of the methods, yet requires the use of cell culture which is cumbersome to perform. Clinical and correlation studies performed by Sherab and Brunell indicate that the ELISA methodology may be as sensitive and perhaps more specific than the FAMA assay [11].

PRINCIPLE OF THE TEST

Purified VZV antigen is coated on the surface of microwells. Diluted patient serum is added to wells, and the VZV IgM specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away. After adding enzyme conjugate, it binds to the antibody/antigen complex. Substrate enzyme conjugate is reacted with, and TMB Chromogenic substrate is added. The enzyme conjugate catalytic reaction is stopped at a specific time. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgM specific antibody in the sample. The results are reading a microwell reader compared to a panel of control with calibrator and controls.

MATERIALS PROVIDED

1. Microwell Strips: purified VZV antigen coated wells:	(102 x 8 wells)
2. Absorbent Solution: Black Cap	1 vial (22 ml)
3. Washing Concentrate: 10x: White Cap	1 bottle (100 ml)
4. TMB Chromogenic Substrate: Amber bottle	1 vial (15 ml)
5. Enzyme Conjugate: Red color solution	1 vial (10 ml)
6. Cut-off Calibrator: Yellow Cap: VZV M Index = 1.0	1 vial (100 µl)
7. Negative Control: Range stated on label: Natural Cap	1 vial (100 µl)
8. Positive Control: Range stated on label: Red Cap	1 vial (100 µl)
9. Stop Solution: 2 N HCl	1 vial (10 ml)

STORAGE AND STABILITY

1. Store the kit at 2 - 8 °C.
2. Always keep reagents tightly sealed in pouch with desiccants. We recommend you use up kit wells within 4 weeks after initial opening of the pouch.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun or strong light during storage or usage.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials:
The calibrator and controls contain human serum components which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, as there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," (1984).
2. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
3. The components in this kit are intended for use as a integral unit. The components of different lots should not be mixed.
4. This product contains components preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2 - 8 °C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing of serum sample.

PREPARATION FOR ASSAY

1. Prepare 1x washing buffer:
Prepare washing buffer by adding distilled or deionized water to 10x wash concentrate to a final volume of 1 liter.
2. Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25 °C) and gently mix.

ANEXO 3

VZV IgG, Page 1

DIAGNOSTIC AUTOMATION INC.

MICROWELL ELISA

VZV IgG (Varicella - Zoster Virus IgG)

Catalog No. 1412 - 11 (96 tests)

SUMMARY OF ASSAY PROCEDURE

Step	(20-25°C Room temp.)	Volume	Incubation time
1	Sample dilution 1:40 = 5 µl / 200 µl		
2	Diluted samples, calibrator & controls	100 µl	30 minutes
3	Washing buffer (3 times)	350 µl	
4	Enzyme conjugate	100 µl	30 minutes
5	Washing buffer (3 times)	350 µl	
6	TMB Chromogenic Substrate	100 µl	30 minutes
7	Stop solution	100 µl	
8	Reading OD 450 nm		

NAME AND INTENDED USE

The DIAGNOSTIC AUTOMATION ELISA, VZV IgG is intended for use in evaluating a patient's serologic status to VZV infection. It is also used to evaluate paired sera for the presence of a significant increase in specific IgG as indicative of a recent or current VZV infection.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Varicella, more commonly known as chickenpox, and herpes zoster are known clinical manifestations of infection with varicella-zoster virus (VZV) (1,2).

Chicken pox, the clinical syndrome usually produced as a result of the primary infection with VZV, is a highly contagious disease characterized by widely spread vesicular eruptions and fever. The disease is endemic in the U.S. and most commonly affects children from five to eight years of age, although adults and younger children, including infants, may develop chickenpox. Every two to five years, usually in the winter or spring, the number of cases increases to epidemic levels. VZV infection during early pregnancy has been implicated in congenital anomalies in rare cases. Other infection occurs at term, life-threatening infections can occur in the neonate (3,4,5,6).

Herpes zoster is mainly a disease of adults, with most cases appearing in patients fifty years or older. Evidence suggests that this manifestation of VZV infections results from a reactivation of virus which has remained latent in the sensory spinal ganglia after the primary infection rather than a reintroduction of the virus into the host (7). Fever and painful localized vesicular eruptions of the skin along the distribution of the involved nerves are the most common clinical symptoms of the condition. Zoster lesions can be mistaken for the similar lesions produced by herpes simplex virus in which recurrences are common (1,2). However, recurrences of herpes zoster are extremely rare.

The various methods of serodiagnostic tests for the detection of VZV antibodies in a patient's serum include indirect immunofluorescence, neutralization, complement fixation and fluorescent antibody to membrane antigen (FAMA) (8, 9,10). FAMA is generally considered the most sensitive and specific of the methods, yet requires the use of cell culture which is cumbersome to perform. Clinical and correlation studies performed by Shehab and Brunel indicate that the ELISA methodology may be as sensitive and perhaps more specific than the FAMA assay (11).

PRINCIPLE OF THE TEST

Purified VZV antigen is coated on the surface of microwells. Diluted patient serum is added to wells, and the VZV IgG specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away. After adding enzyme conjugate, it binds to the antibody-antigen complex. Excess enzyme conjugate is washed off, and TMB Chromogenic substrate is added. The enzyme conjugate catalytic reaction is stopped at a specific time. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgG specific antibody in the sample. The results are read by a microwell reader compared in a parallel manner with calibrator and controls.

MATERIALS PROVIDED

1. Microwell strips:	VZV antigen coated wells.	(12 x 8 wells)
2. Enzyme conjugate:	Red color solution.	1 vial (12 ml)
3. Negative Control:	Natural Cap.	1 vial (150 µl)
4. Cut-off Calibrator: IgG Index = 1.0	Yellow Cap.	1 vial (150 µl)
5. Positive Control:	Red Cap.	1 vial (150 µl)
6. Washing concentrate 10x:	White Cap.	1 bottle (100 ml)
7. Sample diluent:	Blue color solution.	1 vial (22 ml)
8. TMB Chromogenic Substrate:	Amber bottle.	1 vial (15 ml)
9. Stop solution:	2 N HCl.	1 vial (12 ml)

STORAGE AND STABILITY

1. Store the kit at 2 - 8 °C.
2. Always keep microwells tightly sealed in pouch with desiccants. We recommend you use up all wells within 4 weeks after initial opening of the pouch.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun or strong light during storage or usage.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials:

The calibrator and controls contain human source components which have been tested and found nonreactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, as there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." 1984

2. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
3. The components in this kit are intended for use as a integral unit. The components of different lots should not be mixed.
4. The product contains components preserved with sodium azide. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azide. On disposal, flush with a large volume of water.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

1. Collect blood specimens and separate the serum.
2. Specimens may be refrigerated at 2 - 8 °C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing of serum sample.

PREPARATION FOR ASSAY

1. Prepare fix washing buffer. Prepare washing buffer by adding distilled or deionized water to 10x wash concentrate to a final volume of 1 liter.
2. Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25 °C) and gently mix.

ASSAY PROCEDURE

1. Place the desired number of coated strips into the holder.
2. Prepare 1:40 dilutions by adding 5 µl of the test samples, negative control, positive control, and calibrator to 200 µl of sample diluent. Mix well.
3. Dispense 100 µl of diluted sera, calibrator, and controls into the appropriate wells. For the reagent blank, dispense 100 µl sample diluent in 1A well position. Tap the holder to remove air bubbles from the liquid and mix well. Incubate for 30 minutes at room temperature.
4. Remove liquid from all wells. Repeat washing three times with washing buffer.
5. Dispense 100 µl of enzyme conjugate to each well and incubate for 30 minutes at room temperature.
6. Remove enzyme conjugate from all wells. Repeat washing three times with washing buffer.
7. Dispense 100 µl of TMB Chromogenic Substrate to each well and incubate for 30 minutes at room temperature.
8. Add 100 µl of 2 N HCl to stop reaction.

Make sure there are no air bubbles in each well before reading.

9. Read O.D. at 450 nm with a microwell reader.

CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate calibrator value x_c .
2. Calculate the mean of duplicate positive control, negative control and patient samples.
3. Calculate the IgG Index of each determination by dividing the mean values of each sample by calibrator mean value, x_c .

Example of typical results:

Cut-off Calibrator IgG Index = 1.0

Calibrator O.D. = 0.546, 0.474

Patient sample O.D. = 1.101, 1.254

IgG Index = 1.176 / 0.510 = 2.30

QUALITY CONTROL

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

1. The O.D. value of the reagent blank against air from a microwell reader should be less than 0.250.
2. If the O.D. value of the Calibrator is lower than 0.250, the test is not valid and must be repeated.
3. The IgG Index for Negative and Positive Control should be in the range stated on the labels.

INTERPRETATION

Negative: IgG Index of 0.90 or less are seronegative for IgG antibody.

Equivocal: IgG Index of 0.91 - 0.99 are equivocal.

Sample should be retested.

Positive: IgG Index of 1.00 or greater.

ANEXO 4



Catalog No. 1201
(35 tests)

SUMMARY OF ASSAY PROCEDURE

Step	(25-30°C, Room Temp.)	Volumes	Incubation Time
1	Sample dilution 1:40 = 5 µl + 200 µl		
2	Substrates, controls & calibrators	100 µl	30 minutes
3	Washing buffer (5 times)	150 µl	
4	Enzyme conjugate	100 µl	30 minutes
5	Washing buffer (5 times)	150 µl	
6	TMB Chromogenic Substrate	200 µl	30 minutes
7	Stop solution	100 µl	
8	Reading OD 450 nm		

INDICATED INTENDED USE

The DIAGNOSTIC AUTOMATION ELISA, CMV IgG is intended for use in evaluating a patient's serologic status to cytomegalovirus (CMV) infection.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Cytomegalovirus is a herpes virus and a leading biological factor causing congenital abnormalities and complications among those who receive massive blood transfusions and immunosuppressive therapy. About half of pregnant women who contract a primary infection spread the disease to their fetus. When acquired in-utero, the infection may cause mental retardation, deafness, and/or blindness.

Serological tests for detecting the presence of antibody to CMV can provide valuable information regarding the history of previous infection, diagnosis of acute or recent infection, as well as in screening blood for transfusions in newborns and immunocompromised recipients. DIAGNOSTIC AUTOMATION ELISA CMV IgG is an accurate serologic method to detect CMV antibody for identification of CMV infection.

PRINCIPLE OF THE TEST

Purified CMV antigen is coated on the surface of microwells. Oxidized potent sodium is added to wells, and the CMV IgG specific antibody, if present, binds to the antigen. All unbound materials are washed away. After adding enzyme conjugate, it binds to the antibody-antigen complex. Excess enzyme conjugate is washed off and TMB Chromogenic substrate is added. The enzyme conjugate catalytic reaction is stopped at a specific time. The intensity of the color generated is proportional to the amount of IgG specific antibody in the sample. The results are read by a microtiter reader compared in a parallel manner with calibrator and controls.

MATERIALS PROVIDED

1. Microwell strips: purified CMV antigen coated wells	(12 x 8 wells)
2. Enzyme conjugate: Red color solution	1 vial (12 ml)
3. Negative Calibrator: 0.10U/ml, Natural Cap	1 vial (100 µl)
4. Cut-off Calibrator: 1.2 EU/ml, Yellow Cap, OD/G Index = 1.0	1 vial (100 µl)
5. Positive Calibrator: 8.10U/ml, Red Cap	1 vial (100 µl)
6. Positive Calibrator: 18.10U/ml, Green Cap	1 vial (100 µl)
7. Negative Control: Pump water on label, Blue Cap	1 vial (100 µl)
8. Positive Control: Pump water on label, Brown Cap	1 vial (100 µl)
9. Washing concentrate: 10x, White Cap	1 bottle (100 ml)
10. Sample diluent: Blue color solution	1 vial (20 ml)
11. TMB Chromogenic Substrate: Amber bottle	1 vial (15 ml)
12. Stop solution: 2.0 M HCl	1 vial (12 ml)

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2 - 8 °C.
- Always keep reagents tightly sealed in pouch with desiccant. We recommend you use up all wells within 4 weeks after initial opening of the pouch.
- The reagents are stable until expiration of the kit.
- Do not expose test reagents to heat, sun or strong light during storage or usage.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Prepared components are hazardous.

The calibrator and controls contain human source components which have been tested and found nonreactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However, as there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Safety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1988.

- Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
- The components in this kit are intended for use as a integral unit. The components of different kits should not be mixed.
- This product contains components prepared with volatile acids. Volatile acids may react with lead and copper plumbing to form explosive metal acids. Rinse, flush, and flush with a large volume of water.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

- Collect blood specimens and separate the serum.
- Specimens may be refrigerated at 2 - 8 °C for up to seven days or frozen for up to six months. Avoid repetitive freezing and thawing of each sample.

PREPARATION FOR ASSAY

- Prepare the washing buffer.
Prepare washing buffer by adding distilled or deionized water to 10x wash concentrate to a final volume of 1 liter.
- Bring all specimens and kit reagents to room temperature (20-25 °C) and gently mix.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	Seroprevalencia de Anticuerpos Anti-Virus Varicela Zoster y Anti-Citomegalovirus en pacientes VIH/SIDA. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar.
SUBTÍTULO	

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CULAC / E MAIL
Farías S., Reynado J.	CVLAC: 17.214.284 E MAIL: reyfarías@cantv.net
	CVLAC: E MAIL:
	CVLAC: E MAIL:
	CVLAC: E MAIL:

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

VIH, SIDA, Seroprevalencia, Citomegalovirus, Virus Varicela Zoster.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA	SUBÀREA
<u>Parasitología y Microbiología</u>	

RESUMEN (ABSTRACT):

La siguiente investigación se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Citomegalovirus y Anti-Virus Varicela Zoster en pacientes VIH/SIDA que asistieron a la Consulta de Inmunología del Hospital “Julio Criollo Rivas”, de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, durante el período Septiembre 2008 - Febrero de 2009. Se evaluaron 88 pacientes seropositivos para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana o con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), de ambos sexos con una edad media de 34,4 años $\pm$ 10,7 años. Las muestras séricas fueron procesadas mediante la técnica de ELISA para determinar anticuerpos IgM e IgG, anticitomegalovirus y antivariçela zoster respectivamente, según las pautas y criterios estandarizado por Laboratorios Diagnostic Automation (Estados Unidos), especificado en el protocolo del kit comercial (Catálogo 1202 para IgM Anticitomegalovirus, catálogo 1201 para IgG Anticitomegalovirus, catálogo 1413 para IgM Antivaricela zoster y catálogo 1412 para IgG Antivaricela zoster). Se identificaron 30 casos positivos con IgM anticitomegalovirus (34,09%), predominando en el sexo masculino con un 23,86% (n=21), sin diferencias estadísticamente significativas. Todos los pacientes presentaron IgG anti CMV positivos (88/100%). La IgM antivariçela zoster fue positiva en 33 pacientes (37,50%), prevaleciendo en el sexo masculino (n=20; 22,73%), sin diferencias estadísticamente significativas; mientras que la IgG antivariçela zoster se demostró en 30 pacientes (34,09%), distribuyéndose de forma homogénea en ambos sexos, sin diferencias significativas. 4/88 pacientes (4,55%) presentaron coinfección para los tres virus (VIH, VZV y CMG). Se observaron 48 casos (54,55%) de pacientes VIH positivos, (categorías A1, B1, A2 y B2) y 40 pacientes (45,55%) con SIDA (categorías A3, B3, C1, C2 y C3); basado en la determinación del conteje, relación linfocitaria y carga viral. La mayoría de los pacientes afectados por la infección aguda por CMV y VZV provenían del estado Bolívar, particularmente de Ciudad Bolívar. En conclusión se observó una alta prevalencia de infección aguda por CMV y VZV y bajo porcentaje de coinfección de ambos virus en los pacientes evaluados.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU X	JU
Requena C., Ixora	CVLAC:	10.062.328			
	E_MAIL	ixorarequena@gmail.com			
	E_MAIL				
Devera, Rodolfo	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	8.923.470			
	E_MAIL	rodolfodevera@hotmail.com			
	E_MAIL				
Rodríguez, Anny	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	13.089.055			
	E_MAIL	akrodrig@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2009	07	10
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis. Seroprevalencia de Anticuerpos Anti-Virus Varicela Zoster y Anti-Citomegalovirus en pacientes VIH/SIDA. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar.doc	.doc

ALCANCE

ESPACIAL: Hospital “Julio Criollo Rivas”, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar.

TEMPORAL: Diez (10) años.

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Médico Cirujano

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pre-Grado

ÁREA DE ESTUDIO:

Departamento de Parasitología y Microbiología

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 44 del reglamento de trabajos de grado “Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario.



Farías Sanabria, Reynaldo José

AUTOR



Dra. Requena, Ixora.

TUTOR



Dr. Devera, Rodolfo.

JURADO



Dra. Rodríguez, Anny.

JURADO



Dra. Quiroga, Mercedes.

POR LA SUBCOMISION DE TESIS

