

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**TITULACION DE ANTICUERPOS
CONTRA CITOMEGALOVIRUS**

(Estudio prospectivo a realizarse en 100 niños de la
Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios;
departamento de Pédiatria durante los meses de
Julio y Agosto 1984)

LUIS ALBERTO GIRON PALMA

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 1984

CONTENIDO

1. INTRODUCCION
2. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA
3. OBJETIVOS
4. REVISION BIBLIOGRAFICA
5. MATERIAL Y METODOS
6. RESULTADOS
7. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
9. RESUMEN
10. REFERENCIAS

INTRODUCCION

En los últimos años, los clínicos, particularmente los pediatras, han reconocido un papel progresivo e importante de los Citomegalovirus en la patología infantil.

En edades tempranas la prevalencia de anticuerpos contra Citomegalovirus, varía desde 7.9% a 90% teniendo la infección una distribución mundial. En la población general, la prevalencia en algunos lugares es del 100% considerándose a la madre la principal fuente de infección en la edad temprana (7, 13, 17).

Esta investigación se realizó con el objeto de establecer la presencia de anticuerpos contra Citomegalovirus (CMV) en 100 pacientes asintomáticos de 6 meses a 3 años de edad, de ambos sexos, llevándose a cabo durante los meses de Julio y Agosto de 1,984 en el Hospital General San Juan de Dios y el Laboratorio Central de la Dirección General de Servicios de Salud, usando como método diagnóstico, el método inmunoenzimático (E.L.I.S.A.) para CMV.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

El presente trabajo determinó la presencia de anticuerpos contra Citomegalovirus (CMV) en la población infantil, de 6 meses a 3 años de edad; los pacientes incluidos en el estudio fueron pacientes sanos, que asistían a la clínica de "Niño Sano" en el Hospital General San Juan de Dios. La infección por CMV puede manifestarse como una enfermedad fatal o completamente asintomática (23).

Cruz y colaboradores demostraron en 1977 en un estudio en el área rural de Guatemala, que casi el 25% de los niños se infectan al nacer y 15% adicional lo adquieren por otras vías, en edades tempranas.

La titulación del anticuerpo determinó el contacto del infante con el virus durante sus primeros años de vida, y se usó como indicador epidemiológico de infección por CMV en este grupo de estudio.

OBJETIVOS

- 1) Establecer la titulación de anticuerpos contra Citomegalovirus en niños de 6 meses a 3 años de edad.
- 2) Conocer la incidencia de infección por CMV en el grupo de estudio.

REVISION BIBLIOGRAFICA

HISTORIA:

Goodpasture y Talbot en los años 20, reconocieron ciertas células con daño inducido por virus. Estos investigadores llamaron a estas células infectadas con el término de citomegalia. Posteriormente a esto se demostró inclusión en células de niños que murieron por diversas causas (8).

Sin embargo las células agrandadas fueron vistas por primera vez en 1881 en los riñones de un mortinato y las parótidas de dos niños asintomáticos. Los primeros informes de la enfermedad por Citomegalovirus fueron publicados por Jesionek y Kiolemengou quienes describieron también células agrandadas en los pulmones, riñones e hígado de un feto de 8 meses (7).

Cappel y McFarlane en 1947 comunicaron que la patología descrita en infantes y mortinatos era debido a una infección generalizada por virus humanos de glándulas salivales (5). Wyatt y colaboradores en 1950 describieron ya la enfermedad como posible causa de infección congénita (6, 7).

El virus humano fue aislado en cultivos celulares en 1956 - por Smith, a partir de glándulas salivales y riñones de un mortinato y Rowe y colaboradores casi simultáneamente, de adenoides de niños normales (7, 13, 19, 23).

Este importante descubrimiento dio la pauta para el estudio de dicha enfermedad, comprobándose posteriormente que esta infección podría producirse en forma congénita, perinatal o adquirida después del nacimiento (8, 13, 23)

La propagación in vitro del Citomegalovirus permitió el desarrollo de métodos serológicos, pruebas de neutralización y fijación del complemento. Estas facultaron la realización de diagnósticos serológicos y de encuestas epidemiológicas, para evaluar la penetración de la infección por CMV en la comunidad (23).

Tejada y colaboradores en 1965 comunicaron los seis primeros casos de inclusión por Citomegalovirus observados en Guatemala, en donde las principales manifestaciones fueron principalmente de tipo respiratorio en cuatro de los niños y de daño hepático con ictericia en los otros dos (22).

VIROLOGIA:

Los Citomegalovirus son miembros de la familia Herpesvirus. Tienen forma cubital simétrica y núcleo de D.N.A. La cápsula del virus está envuelta en una capa lipídica indispensable para su infecciosidad.

Como otros Herpesvirus los CMV pueden estar en latencia y la infección por estos agentes puede ser seguida de persistencia en los niveles de anticuerpos circulantes por tiempo indeterminado y sin relación con la excreción del virus (6, 8, 20, 23).

Los CMV son especie-específico y virtulamente están en todos los vertebrados. Estos pueden ser cultivados "in vitro" en fibroblastos de especies homólogas produciendo un efecto característico. Las células infectadas se parecen a las células infectadas "in vivo" y contienen grandes inclusiones intra nucleares y frecuentemente cuerpos dentados paranucleares característicos (8).

TRANSMISION

Como la mayoría de virus, los CMV son relativamente frágiles y no sobreviven a temperaturas ambientales. Los CMV no pueden persistir en fomites y la transmisión generalmente es de persona a persona con desarrollo rápido de anticuerpos específicos en fluidos y sangre.

Los CMV pueden persistir latentes en una variada gama de elementos celulares y pueden ser transmitidos transplacentariamente a órganos, tejidos o células, incluyendo, riñones, corazón, sangre y médula (8).

El aislamiento del virus es el método más sensible para demostrar la presencia de infección activa por CMV (8, 21).

El virus se ha aislado de sangre, saliva, semen, leche y secreciones vaginales, pudiendo de esta manera ser causa de infección perinatal o postnatal (1, 3, 18). La fragilidad del virus es relevante en la metodología del cultivo y cuando éste no es posible, el diagnóstico puede ser únicamente por seguimiento serológico (24).

Se considera a la madre como la principal fuente de infección para los infantes en sus primeros años de vida (6, 14, 16).

EPIDEMIOLOGIA:

La distribución de la infección por CMV se considera mundial, informándose porcentajes de 40% a 100% en algunas poblaciones de adultos normales y de 3% a 95% en infantes, no pudiéndose establecer una verdadera correlación entre dichos estudios, dados los métodos de laboratorio diferentes (10, 12).

La frecuencia de la infección varía con relación a la edad, localización geográfica y situación económica de la población estudiada. La infección es adquirida en edad temprana con mayor incidencia en niños que viven en condiciones poco higiénicas, de hacinamiento, en lugares pobres, instituciones y centros de beneficencia (13, 17).

La infección por CMV puede darse en forma congénita, según estudios en 0.5% a 2.5% dependiendo de los factores antes mencionados y características inmunológicas del hospedero; la infección puede darse también en los períodos perinatal y postnatal, por contacto con secreciones vaginales y más tarde con leche, saliva. Los anticuerpos maternos no protegen al niño de infección (4, 6, 8, 11, 14, 16, 19).

Cruz y colaboradores en 1977 en estudios realizados en el área rural de Guatemala concluyeron que los niños infectados en período perinatal excretan virus desde edad muy temprana, cuatro a doce semanas de vida, y que la transferencia de anticuerpos maternos podría retardar la excreción urinaria del virus, encontrándose que el 46.8% del grupo estudiado presentó excreción de CMV en algún momento del primer año de vida.

La latencia del virus, la falta de estudios epidemiológicos, su excreción por saliva, semen, leche, orina y lágrimas, las malas condiciones de vida en general y la infección asintomática,

constituyen factores importantes para la prevalencia del virus en una población. La infección temprana por CMV puede ser evaluada por contactos cercanos principalmente la madre, por medios de cultivos y estudios serológicos. Posiblemente la susceptibilidad genética juega un papel muy importante en el desarrollo de sintomatología de la enfermedad en diferentes poblaciones.

Es más probable que la infección por CMV sea seguida de una persistencia de la excreción del virus, con una alta prevalencia de difusión del virus en una comunidad, necesitando seguramente una relación interpersonal para su transmisión, siendo la madre la principal fuente de infección en los infantes (8, 18, 24).

Estudios efectuados en diferentes poblaciones concluyeron que la incidencia en niños de 6 meses a 4 años ocurre frecuentemente y es cosmopolita (26%); en áreas donde el nivel de infección materna fue bajo, y en poblaciones en donde la prevalencia en adultos es de 100%, en infantes varió entre el 40% y 70% excepto en áreas africanas donde la prevalencia alcanzó niveles de 87% a 95% (10, 12).

INMUNIDAD:

La infección intrauterina produce anticuerpos Ig M, Ig G e Ig A. Dichos anticuerpos disminuyen a niveles no detectables a los 5 ó 6 meses de vida, pudiéndose considerar un título de 1:40 (anticuerpos Ig M) en el segundo semestre como una infección activa y no como transferencia pasiva de anticuerpos maternos, esta interpretación puede variar según el método de laboratorio que se emplee (2, 23).

Luego de una infección, los niveles de anticuerpos Ig M suben en plazo de 3 a 5 semanas, no correlacionándose dichos

títulos con el tiempo de excreción del virus (2, 15). La detección de anticuerpos Ig M específicos evidencia una infección reciente, la infección inaparente es común en la infancia y la adolescencia, siendo la mayor parte de casos mortales en niños de menos de un año de vida (9, 11, 23).

Cerca del 4 a 6% de todas las madres excretan CMV al momento del parto, y 1% de todos los neonatos están infectados por CMV. Las manifestaciones clínicas se observan en 0.1% (2).

La reinfección sugiere la elevación de los anticuerpos en relación a los títulos encontrados al momento del aislamiento del virus, como también la seroconversión. Posiblemente los neonatos infectados en presencia de anticuerpos maternos puedan tener una mejor respuesta humoral a la agresión (5, 18).

MATERIAL Y METODOS

Grupo de Estudio:

Se efectuó un estudio prospectivo en 100 niños; comprendidos entre las edades de 6 meses a 3 años de edad que acudieron a la consulta externa de "Niño Sano" en el Hospital General San Juan de Dios.

Dicho estudio se llevó a cabo durante los meses de Julio y Agosto de 1984; los pacientes incluidos en el estudio estaban - asintomáticos según historia y examen físico.

Serología:

Se extrajeron 3 c.c. de sangre venosa a cada niño, la cual se dejó coagular, se separó el suero por centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. Dichas muestras se refrigeraron a 4°C hasta su procesamiento en la dirección General de Servicios de Salud.

Se determinó la concentración en suero de Ig G por el método inmunoenzimático E.L.I.S.A. para CMV; a las muestras positivas se les determinó Ig M (ver E.L.I.S.A. para citomegalovirus).

VALORACION INMUNOABSORBENTE CON ENZIMA LIGADA PARA ANTICUERPOS Ig M, Ig G A CITOMEGALOVIRUS

ELISA para Citomegalovirus (CMV).

Behring Institute

Composición:

Placa para ELISA con 12 x 8 pozos.

El antígeno y el control negativo de antígeno se obtiene de células humanas infectadas y no infectadas con CMV, respectivamente. Los antígenos son inactivados y ligados a la placa, tal como se indica en el esquema 1.

Suero humano, control positivo para CMV. Después de reconstituir con 0.1 ml de agua destilada estéril, el suero liofilizado da lugar a una dilución 1:5 que podrá guardarse por al menos una semana a 4°C - 6°C. El título está indicado en la etiqueta.

Suero anti-Ig G (Cadena 8) conjugado con fosfatasa alcalina y suero anti-Ig M (Cadena μ) conjugado con fosfatasa alcalina. Estos sueros son producidos a partir de anticuerpos de conejo con alta avidéz. La especificidad de estos antisueros se ha determinado con el ELISA. La dilución apropiada de cada uno se indica en la etiqueta.

El sustrato para fosfatasa alcalina consiste de 2 x 50 ml buffer de sustrato y 20 tabletas de sustrato que se utiliza para preparar la solución del mismo.

Medio suplementario para ELISA: 1 ml para preparar 100 ml de buffer para diluciones (PBS), pH 7.0-7.2 más 4 ml de Tween 20 (4%), el cual se usa para diluir los sueros y los antisueros conjugados.

Otros reactivos que se necesitan son PBS + 1% de Tween 20, pH 7.0-7.2 para lavar y 2 N NaOH.

Almacenamiento y estabilidad: todos los reactivos deben guardarse a 4°-6°C y podrán utilizarse antes de la fecha de expiración que se indica en la etiqueta.

Uso: para la determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos (Ig G, Ig M) en sueros humanos.

METODO:

Principio: Los anticuerpos que se determinan en las muestras de suero se unen al antígeno en la superficie de la placa, formando así un complejo con el cual va a reaccionar el conjugado. Luego de agregar la solución de sustrato, un color amarillo verdoso se forma al degradarse enzimáticamente.

Los reactivos que no se unen se eliminan en el proceso de lavado.

1. Sacar la placa de su bolsa de aluminio y dejarla estar a temperatura ambiente (20°-25°C) por 5 minutos.
2. Agregar al menos 0.2 ml de la solución de lavado (PBS + Tween) a cada pozo por 3 minutos y luego succionar. Repetir este paso 3 veces.
3. Agregar 0.15 ml de buffer de dilución a cada pozo.
4. Agregar 0.05 ml del suero prediluido 1:5 al primero de los pozos de las filas a usarse de antígeno positivo y antígeno negativo. (ver esquema 1).

5. Transferir 0.05 ml de la dilución de suero a cada uno de los pozos siguientes y descartar 0.05 ml del último pozo. No se debe utilizar diluidores, sino pipetas.
6. Incubar en cámara húmeda a 37°C por 1 - 3 horas para anticuerpos Ig G y 3 horas para anticuerpos Ig M.
7. Sacar las diluciones de sueros y lavar 3 x 5 min. con PBS-Tween.
8. Agregar 0.05 ml del conjugado en su dilución apropiada e incubar 1 hora a 37°C en cámara húmeda.
9. Quitar el conjugado y lavar 3 veces por 5 minutos.
10. Agregar 0.1 ml de solución de sustrato a cada pozo e incubar por 30-45 minutos a 20° - 25°C.
11. Detener la reacción enzimática, agregando 0.025 ml de 2 N NaOH a cada pozo.

EVALUACION:

Esta se lleva a cabo visualmente. Para mayor precisión los resultados se pueden leer y expresar fotométricamente.

a) Visual: el título será la dilución de suero más alta que tenga una reacción positiva comparable con la del suero control que se indica como título de ésta.

Si la reacción es la misma en los pozos recubiertos con antígeno positivo y control de antígeno negativo, este indica que no se puede demostrar la presencia de anticuerpos específicos.

b. Fotométrica: Medir contra 0.1 ml de la solución de sustrato más 0.025 ml de 2 N NaOH como referencia a 405 nm.

Para la absorbancia (E) así encontrada, evaluar así:

Para anticuerpos Ig G:

E antígeno menos E control 0.5 = positivo

Para anticuerpos Ig M:

E antígeno menos E control 1.0 = positivo.

E antígeno menos E Control 0.5 pero 1.0 = dudoso.

Dilución	Ser. 1	Ser. 2	Ser. 3	Ser. 4	Ser. 5	Ser. 6	Ser. 7	Ser. 8	Ser. 9	Ser. 10	Ser. 11	Ser. 12
1	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
20 A	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
60 B	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
320 C	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
1280 D	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
20 E	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
80 F	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
320 G	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
1280 H	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
	Ser. 7	Ser. 8	Ser. 9	Ser. 10	Ser. 11	Ser. 12	Suero Control					

+ Pozo recubierto con antígeno positivo

- Pozo recubierto con control negativo de antígeno.

Material de la investigación:

1. 100 muestras de sangre venosa; 3 c.c. cada una.
2. 100 jeringas de 5 c.c. con aguja número 21.
3. 100 tubos de ensayo.
4. 100 pipetas de Pasteur.
5. 2 set de reactivos E.L.I.S.A. para CMV; conjugador Ig G e Ig M.
6. Una centrifuga.
7. Hospital General San Juan de Dios.
8. Laboratorio Central D.G.S.S.

CUADRO No. 1
PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA CMV SEGUN
DISTRIBUCION ETARIA

EDAD EN MESES	CASOS POSITIVOS Ig G	CASOS ESTUDIADOS	CASOS POSITIVOS Ig M	CASOS ESTUDIADOS
6 11	5	21	2	5
12 17	5	31	-	5
18 23	3	25	-	3
24 29	3	13	-	3
30 36	1	10	1	1
TOTAL	17	100	3	17

FUENTE: Laboratorio Central Dirección General de Servicios de Salud.

CUADRO No. 2
PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA CMV, SEGUN SEXO

	CASOS POSITIVOS Ig G	CASOS POSITIVOS Ig M
MASCULINO	7	2
FEMENINO	10	1
TOTAL	17	3

FUENTE: Laboratorio Central Dirección General Servicios de Salud.

CUADRO No. 3

INCIDENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA CMV, SEGUN TITULCS

TITULCS	FRECUENCIA	%
NEGATIVO	83	83
1:20-1:40	--	--
1:40-1:60	7	7
1:60-1:80	10	10
TOTAL	100	100

FUENTE: Laboratorio Central Dirección General de Servicios de Salud.

CUADRO No. 4

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA CMV Ig G

POSITIVO Ig G	NEGATIVO
17 = 17%	83 = 83%

FUENTE: Laboratorio Central Dirección General de Servicios de Salud.

CUADRO No. 5

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA CMV; Ig M

POSITIVO Ig M	NEGATIVO
3	14

FUENTE: Laboratorio Central Dirección General de Servicios de Salud.

DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS

En el presente trabajo, estudiando a un grupo de 100 niños asintomáticos en la consulta externa de "Niño Sano del Hospital General San Juan de Dios, se encontró que el 17% tenía incidencia de anticuerpos contra CMV, utilizando como método de laboratorio la reacción inmunoenzimática (E.L.I.S.A.). Se encontraron resultados similares a los de Manshaq, en 1966 con 7.9%, a los de Embil et al en 1969 con 13.3%, Stern y Elek en 1965 con 16.3% Jeddi et al, en 1970 con 18.6%, y Carlstron et al, en 1965 con 25% en poblaciones jóvenes, de 6 meses a 14 años (7).

Como lo muestra el cuadro No. 2 no se encontró una diferencia significativa entre la presencia de anticuerpos contra CMV y el sexo de la muestra estudiada, relación que tampoco es informada por estudios extranjeros, dándosele mayor importancia a la presencia de dichos anticuerpos en relación al nivel socioeconómico de las poblaciones estudiadas (8, 18).

Estudios epidemiológicos dan mayor importancia a las condiciones de vida en general que, aunque en el presente estudio no se incluyeron, sabemos que el tipo de paciente que consulta al departamento de Pediatría del Hospital San Juan de Dios es de escasos recursos, factor que aumenta el riesgo de infección, tanto en la población en general como en la población infantil (8, 18, 24).

Como se muestra en los cuadros No. 5 y No. 6 la presen-

cia de anticuerpos contra CMV en la muestra fue del 17% con Ig G positiva, de los cuales 3 mostraron infección activa, con titulación significativa de Ig M arriba de 1:40, demostrando con ello la alta incidencia del virus en dicho grupo de estudio y quizá del alto grado en la población en general, más específicamente en la población materna (6, 14, 16).

CONCLUSIONES

- 1) La incidencia de anticuerpos contra CMV en los 100 niños estudiados fue de 17%.
- 2) Según los resultados, el 17% de los pacientes mostraron un buen estado inmunológico elevando sus anticuerpos ante el contacto con el virus.
- 3) De 17 de los pacientes que presentaron incidencia de anticuerpos contra CMV, 3 desarrollaron infección activa, por la presencia de Ig M positiva.
- 4) La infección activa por CMV puede ser asintomática.

RECOMENDACIONES

- 1) Seguimiento a todo paciente en quien se le demuestre serológicamente contacto con el virus, con 3 semanas de diferencia.
- 2) Estudios serológicos a familiares de niños con infección activa.
- 3) Excluir enfermedad por CMV en pacientes con enfermedad infecciosa no explicada.
- 4) Frotis periféricos a todo paciente que se le demuestre infección activa por CMV.
- 5) Sistematizar estudios serológicos para investigar CMV en Pediatría.

RESUMEN

El presente trabajo investigó la presencia de anticuerpos contra CMV y de la incidencia de infección activa. La muestra de estudio fueron pacientes comprendidos entre las edades de 6 meses a 3 años; pacientes asintomáticos de ambos sexos; quienes consultaron únicamente para control de Niño Sano, en el departamento de Pediatría del Hospital General San Juan de Dios, durante los meses de Julio y Agosto de 1984.

La presencia de anticuerpos se determinó mediante la prueba serológica inmunoenzimático (E.L.I.S.A.), para CMV, llevada a cabo en el Laboratorio Central de la D.G.S.S.

Los resultados obtenidos demostraron que el 17% del grupo de estudio, tenían presentes de anticuerpos Ig G contra CMV, por contacto previo con el virus. En este grupo de pacientes se comprobó mediante la titulación de Ig M, que en el 17.6% había títulos significativos (arriba de 1:40) indicando infección activa.

En el estudio no se encontró relación entre la presencia de anticuerpos y el sexo de los pacientes y se comprobó que la infección activa para CMV puede ser asintomática.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ahlfor, K. et al. Serological differentiation of congenital and acquired cytomegalovirus infections detected in infancy. *Acta Paediatr Scand* 1979 Mar; 68(5): 507-512
2. Behring Institute. *Enzygnost anti-cytomegalovirus*. Marburg, 1980. (commercial literature)
3. Cabau, N. et al. Seroepidemiology of cytomegalovirus infections during the first years of life in urban communities. *Arch Dis Child* 1979 April; 54(4):286-290
4. Cabrera V., Héctor G. *Detección de anticuerpos a toxoplasma y citomegalovirus en sangre del cordón umbilical*. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1984. 61p.
5. Cappel, R. et al. Rapid detection of Ig G and Ig M antibodies for cytomegalovirus by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Arch Virol* 1978 Mar; 58(3):253-258
6. Cruz, José R. et al. Citomegaloviruria durante el primer año de vida: estudio prospectivo en una población indígena de Guatemala. *Bol Of Sanit Panam* 1977 Sep; 83(3):218-222
7. Cruz, José R. Los citomegalovirus. *Revista del Colegio Médico (Guatemala)* 1980; 31(2):91-103

8. Feigin, L. et al. **Textbook of pediatric infections diseases**; Acquired cytomegalovirus infections. Philadelphia Saunders, 1981. t.2 (pp. 1192-1196)
9. Gartner, L. et al. Persistence of Ig M antibodies to cytomegalovirus induced late antigen in pregnancy and postpartum. **Acta Virol** 1983; 27(2):86-88
10. Hayes, K. et al. Placental cytomegalovirus infection without fetal involvement following primary infection in pregnancy. **J Pediatr** 1971 Sep; 79(3):401-405
11. Hayes, K. and D.M. Danks. Cytomegalovirus in human milk. **N Eng J Med** 1972 Jul 27; 287(4):177-178
12. Krech, U. et al. A collaborative study of cytomegalovirus antibodies in mothers and young children in 19 countries. **Bull WHO** 1981; 59(4):605-610
13. Krugman, Saul. et al. **Enfermedades infecciosas**. 5ed. México, Interamericana, 1979. 491p. (pp 1-12)
14. Leinikki, P. et al. Epidemiology of cytomegalovirus infection during pregnancy and infancy. **Scand J Inf Dis** 1978 Mar; 10(3):165-171
15. Osborn, June. et al. Pathogenicity, immunology and vaccine initiatives. **J Infect Dis** 1981 April 7; 143(4):618-626
16. Pass, Robert F. et al. Excretion of cytomegalovirus in mother; observations after delivery of congenitally infected and normal infants. **J Infect Dis** 1982 July; 146(1):1-5
17. Preece, P. et al. The consequences of primary cytomegalovirus infection in pregnancy. **Arch Dis Child** 1983 Sep; 58(6):970-975
18. Reynolds, D. et al. Perinatal cytomegalovirus infection; influence of placental transferred maternal antibody. **J Inf Dis** 1978 May 15; 137(5):564-567
19. Rhodes, R. et al. **Textbook of virology**; cytomegalovirus. 5th. ed. Baltimore, Williams Wilkins, 1970 t. 1 (pp. 405-413)
20. Saigal, S. et al. The outcome in children with congenital cytomegalovirus infections. **Am J Dis Child** 1982 Oct; 136(10):896-901
21. Stagno, S. et al. Prevalence and importance of congenital cytomegalovirus infection in three different populations. **J Pediatr** 1982 Dec; 101(6):897-900
22. Tejada, C. et al. Enfermedad de inclusión citomegalica; estudio clínico patológico de los seis primeros casos observados en Guatemala. **Revista del Colegio Médico** (Guatemala) 1965, Mar; 16(1):11-21
23. Tosi, H. et al. **Virus y virosis; citomegalovirus**. 2ed. Montevideo, Oficina del Libro, 1973. 381p. (230-235)
- 24.- Ziegelmaier, R. et al. ELISA; demonstration of Ig G and Ig M antibodies in infection with cytomegalovirus and rubella virus. **Medical Laboratory, Medical Diagnostics Frankfurt/Main** 1980; 8:16-25

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(C I C S)

CONFORME:

Dr. Julio Rafael Cabrera V.
ASESOR.

SATISFECHO:

Dr. Marco Antonio Acevedo W.

REVISOR.

Dr. Marco Antonio Acevedo

Médico y Cirujano

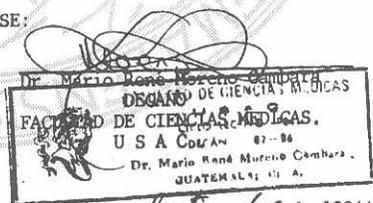
Colegiado No. 1,050

APROBADO:

DIRECTOR DEL CICS



IMPRIMASE:



Guatemala, 3 de Septiembre de 1984.-

Los conceptos expresados en este trabajo son responsabilidad únicamente del Autor. (Reglamento de Tesis, Artículo 4º).