

ACE

Aplicaciones experimentales de la IgY
Paracoccidiodomicosis en adolescente
Riesgo cardiovascular en pacientes VIH+

A microscopic image showing a cluster of cells stained with purple and pink. The purple staining highlights the nuclei and some cytoplasmic components, while the pink staining highlights other cellular structures. The overall appearance is that of a histological section, possibly showing a large cell with many smaller, rounded structures within it.

**Seroprevalencia de anticuerpos
IgM anti-VHS1 e IgG anti-VEB**



Comité editorial:

Renzo di Natale. Editor en jefe [1].

Andrés J. González Salazar. Editor ejecutivo [1].

Raquel Lander. Editor [1].

Javier Arreaza. Editor [1].

Gessica Di Toro. Editor [2].

José Montero. Editor [3].

Simón Mora. Editor [3].

[1] Sexto año de la Escuela de Medicina “Luis Razetti”, Universidad Central de Venezuela.

[2] Cuarto año de la Escuela de Medicina “José María Vargas”, Universidad Central de Venezuela.

[3] Quinto año de la Escuela de Medicina “Luis Razetti”, Universidad Central de Venezuela.

Editores externos:

Dra. María Eugenia Landaeta. Infectología y microbiología clínica.

Dra. Melba Isabel Franklin. Medicina interna.

Propiedad de:

Acta Científica Estudiantil.

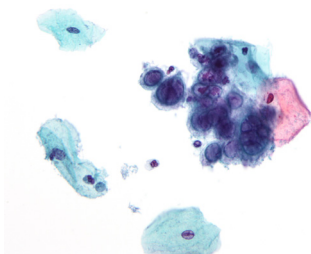
Caracas, Venezuela.

Página web: <http://www.actacientificaestudiantil.com.ve>

Correo electrónico: actacientificaestudiantil@gmail.com

Fecha de publicación: Junio 2014.

Número de páginas: 34.

**Portada:**

Microfotografía que muestra los cambios celulares producidos por el virus herpes simple (VHS), los cambios presentes pueden observarse también con infecciones por el virus Varicela Zóster (VZV). Microscopía óptica, coloración de Papanicolau.

Fuente: Disponible en: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Herpes_simplex_virus_pap_test.jpg

Acta Científica Estudiantil

Junio 2014; Vol. 9 No. 1



actacientificaestudiantil.com.ve

Editorial

Relanzamiento Acta Científica Estudiantil 2014

Renzo Di Natale

Editor en Jefe de Acta Científica Estudiantil.

Trabajos de investigación

Seroprevalencia de Anticuerpos IgM anti HVS-1 y Anticuerpos IgG anti Epstein-Barr Virus.

Bouffard ML y Garcés MF.

Evaluación del riesgo cardiovascular en pacientes con infección por VIH.

Blanco AR y Acardi A.

Reportes de caso

Reporte de caso. Adolescente masculino con adenomegalias cervicales.

Salazar M, Reyna M, Santos C y Rodríguez FA.

Revisión bibliográfica

Aplicaciones experimentales de la IgY. Su utilidad en diagnóstico

Blanco-Carrero CS, Díaz M, Figuera D, Palacios A y Araujo Z.

EDITORIAL



Relanzamiento Acta Científica Estudiantil 2014

Di Natale RG^{1,2}

Desde los inicios del siglo pasado, nuestro país se ha alternado entre épocas de gran auge económico, social y científico, y épocas de disminución del progreso en cada una de estas áreas [1]. Fue precisamente en estas “épocas de oro” donde se produjo el mayor avance científico en el país y donde adquirimos notoriedad a nivel mundial gracias a nuestros aportes. Relucen de esta forma, nombres de ilustres médicos venezolanos como el Dr. Domingo Luciani, el Dr. Francisco De Venanzi y el Dr. Miguel Pérez Carreño, profesionales destacados en diversas áreas de estudio, que junto con el resto de científicos y médicos venezolanos que contribuyeron a la realización de grandes descubrimientos.

Hemos observado como en los últimos 20 años, ha habido una disminución importante en la producción científica venezolana, no sólo en la cantidad de trabajos publicados, sino en la calidad de los mismos. De hecho, al evaluar la evolución de la producción científica durante los últimos años, podemos ver como el índice de productividad bibliométrica, disminuyó un 63,3% en el período comprendido entre 1993 y 2008 [2]. Por otra parte, la producción anual de artículos aumentó sólo un 73,84% (+734 artículos/año; -15 ranking) entre 1996 y 2012 (Gráfica 1), valor considerablemente menor al reportado por otros países como Colombia, que obtuvo un incremento de 936,98% (+5.219 artículos/año; +10 ranking) en el mismo período (Gráfica 2) [3]. Estos datos demuestran la ineficiencia de las políticas de estado implementadas durante los últimos 20 años para impulsar la investigación científica nacional.

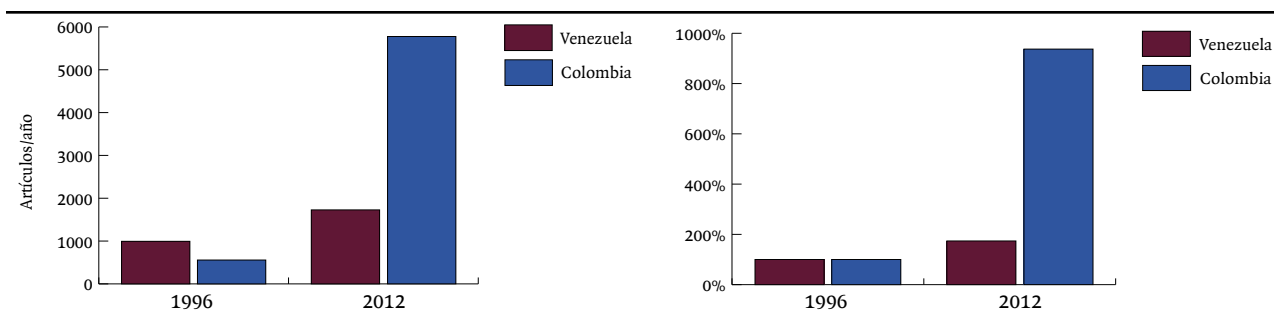
Son numerosas las razones por las cuales el conocimiento científico en Venezuela se encuentra estancado, sin embargo al realizar un análisis objetivo de la situación actual con respecto a la producción y publicación científica, podemos agrupar las razones que trajeron y que siguen manteniendo a nuestro país dentro de este “período de decadencia científica” en tres causas fundamentales.

En primer lugar, está bien claro que las inversiones en el campo científico se han dejado de lado en los últimos años, en parte porque las políticas del estado, han colocado en segundo plano al desarrollo científico del país. Por lo tanto, no sorprende que las instituciones encargadas de la promoción de actividades de desarrollo científico, como los centros universitarios y sus consejos de investigación, vivan una difícil

¹Editor en jefe Acta Científica Estudiantil.

²Escuela de Medicina “Luis Razetti”, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

Instituto de Ortodoncia Chuao, Calle Choroni, Chuao. Caracas, Venezuela. CP:1050. E-mail: renzodgd@gmail.com



Gráfica 1. Artículos producidos anualmente por Venezuela y Colombia en los años 1996 y 2012 [3].

Gráfica 2. Porcentaje de incremento relativo en la producción científica en Venezuela y Colombia entre 1996 y 2012 [3].

situación presupuestaria, teniendo que disminuir y/o retardar las concesiones para proyectos a los investigadores.

En segundo lugar debemos mencionar la ausencia de instituciones científicas, tanto universitarias como independientes, capaces de brindar formación, asesoría e iniciativas a los investigadores y a la población estudiantil.

Por último, la ausencia de instituciones capaces de brindar formación en el área de la investigación junto con la falta de presupuesto para realizar trabajos originales, lleva a su vez a la disminución de la inclusión estudiantil al campo de la investigación, constituyéndose de esta forma un círculo vicioso en donde resulta cada vez más difícil la recuperación del impulso científico en Venezuela.

Los hechos mencionados se traducen en consecuencias directas sobre la producción científica venezolana. La falta de organización y financiamiento para llevar a cabo protocolos de investigación, ha traído como consecuencia la realización de trabajos de bajo presupuesto que, a pesar de estar metodológicamente bien planteados, no podrán nunca compararse o competir con proyectos similares realizados en otras partes del mundo.

Ante la ausencia de manuscritos para publicación, las revistas deben sacrificar la calidad de sus números mediante la reducción de los filtros de corrección, para poder cumplir con la publicación periódica establecida. La falta de trabajos originales de gran relevancia, lleva a su vez a la disminución de la calidad de las revistas científicas venezolanas, revistas con factores de impacto cada vez menor, constituidas por trabajos con bajo nivel de evidencia, que no son citados frecuentemente por otros autores.

Estos hechos traen consigo una consecuencia inevitable, los autores de trabajos originales de gran impacto realizados en el país, buscan publicar sus manuscritos en revistas de mayor renombre, lo que hace que gran parte de los conocimientos científicos de importancia producidos en Venezuela, se publiquen internacionalmente y no en revistas nacionales.

Bajo esta visión y dentro de esta situación nacional y universitaria, surge el proyecto que hemos llevado a cabo desde noviembre de 2013, cuando posterior a la elección del actual comité editorial, nos hemos propuesto retomar la publicación de Acta Científica Estudiantil (ACE), la

cual, debido a la falta de una estructura organizativa bien establecida, suspendió la publicación periódica por tres años consecutivos.

Estamos comprometidos con rescatar los valores sobre los cuales ACE fue creada. Asesorados por expertos en el manejo editorial, queremos que nuestra revista sirva para brindar un espacio de calidad en donde se refleje la producción científica universitaria, fungiendo además como un ente académico, capaz de incentivar a los autores para conseguir publicaciones de alto nivel y poder así, promover la producción científica universitaria.

Es un placer para el comité editorial de Acta Científica Estudiantil anunciar el relanzamiento de nuestra revista después de tres años de inactividad. Agradecemos a todas las personas que hicieron posible este proyecto y esperamos que este primer paso hacia el rescate de la producción científica sea fuente de inspiración para otros colegas del área editorial, que como nosotros pretenden dar un paso adelante en el campo de la investigación.

Renzo G. Di Natale

Referencias bibliográficas

1. De Corso G. El crecimiento económico de Venezuela desde la oligarquía conservadora hasta la revolución bolivariana: 1830-2012. Una visión cuantitativa. *Rev Hist Econom.* Diciembre 2013; 31(3):321-57.
2. Requena J. Science meltdown in Venezuela. *Interciencia.* Junio 2010; 35(6):437-44.
3. SJR - SCImago Journal & Country Rank. Country Rankings [Internet]. SCImago 2007; [citado el 30 de mayo de 2014]. Disponible en: <http://www.scimagojr.com/countryrank.php>

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Seroprevalencia de anticuerpos IgM anti Herpes simplex virus 1 y anticuerpos IgG anti virus Epstein-Barr en niños

Bouffard ML¹ y Garcés MF²

RESUMEN

El virus herpes simplex 1 (VHS-1) y virus Epstein-Barr (EBV) pertenecen a la familia *Herpesviridae* que pueden infectar a los humanos en etapas tempranas de la vida, las infecciones causadas por ellos tienen una seroprevalencia mundial cercana al 90%, se caracterizan por establecer y mantener una infección latente en el huésped.

El VHS-1 da lugar a numerosas enfermedades herpéticas como el herpes bucal y queratitis. El EBV causa 79% de los casos de mononucleosis y persiste durante toda la vida en los linfocitos B. El estudio se realizó en 126 estudiantes (para VHS-1) y 288 (para EBV) incluyendo niños y niñas, en aparente buen estado de salud, con edades comprendidas entre los 5 y 13 años, pertenecientes al colegio Agustín Zamora Quintana de Caracas.

La muestra utilizada fue suero (muestras recolectadas de enero a marzo de 2012) y se determinaron los anticuerpos IgM anti VHS-1 e IgG anti VCA (antígeno de la cápside viral) de EBV a través de enzimoimmunoensayo. El análisis de los resultados fue a través de técnicas estadísticas utilizando medias y porcentajes. La seroprevalencia de anticuerpos IgM anti VHS-1 fue del 40,5% y la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti EBV fue del 98,9%. La presencia de anticuerpos IgM anti VHS-1 e IgG anti EBV es altamente prevalente en la población estudiada.

En relación con EBV, la alta seroprevalencia se correlaciona con la reportada en otros países en vías de desarrollo, lo que recalca que la infección por este virus depende del nivel socioeconómico de la población y el grado de desarrollo del país.

Palabras clave: virus, seroprevalencia, virus Epstein-Barr, herpes simplex virus, anticuerpos.

¹Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

²Cátedra de bioquímica A, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

Calle Coromoto, Edf. Irine, Piso 5, Apto. 5A, Bello Monte. Caracas, Venezuela. CP:1050. E-mail: lu_bouffard91@hotmail.com

Recibido: 06/07/13.
Aceptado: 07/02/14.
Publicado: 02/06/14.

INTRODUCCIÓN

Los herpesvirus pertenecen a la familia *Herpesviridae*, constituida por virus de ADN de doble cadena con envoltura que se encuentran diseminados por toda la naturaleza y tienen la capacidad de establecer latencia en los individuos infectados. Durante el estado de latencia, el ADN viral se encuentra en el interior del núcleo celular, por lo que no es posible detectar las partículas virales; sin embargo, bajo ciertas condiciones, los virus pueden nuevamente replicarse y de esta manera ocasionar una reactivación. Esta replicación en los órganos blanco puede ser asintomática, pero la excreción viral que se produce es igualmente infectiva para otro individuo. Los herpesvirus producen infecciones que varían desde úlceras cutáneas dolorosas hasta varicela y encefalitis. Infectan al hombre ocho miembros de la familia: dos virus herpes simplex (VHS-1 y VHS-2), citomegalovirus (CMV), virus de varicela y zoster (VZV), virus de Epstein-Barr (EBV), herpesvirus 6 humano (HHV-6) y los recién descubiertos herpes humano tipo 7 y 8 (HHV-7, HHV-8) [1].

Los herpesvirus pertenecen a la familia *Herpesviridae*, constituida por virus de ADN de doble cadena con envoltura que se encuentran diseminados por toda la naturaleza y tienen la capacidad de establecer latencia en los individuos infectados. Durante el estado de latencia, el ADN viral se encuentra en el interior del núcleo celular, por lo que no es posible detectar las partículas virales; sin embargo, bajo ciertas condiciones, los virus pueden nuevamente replicarse y de esta manera ocasionar una reactivación. Esta replicación en los órganos blanco puede ser asintomática, pero la excreción viral que se produce es igualmente infectiva para otro individuo. Los herpesvirus producen infecciones que varían desde úlceras cutáneas dolorosas hasta varicela y encefalitis. Infectan al hombre ocho miembros de la

familia: dos virus herpes simplex (VHS-1 y VHS-2), citomegalovirus (CMV), virus de varicela y zoster (VZV), virus de Epstein-Barr (EBV), herpesvirus humano 6 (HHV-6) y los recién descubiertos herpesvirus humano 7 y 8 (HHV-7, HHV-8) [1].

Las infecciones por herpesvirus son comunes entre las personas de todas las edades, pero tienen una mayor prevalencia en los lactantes y los niños. La mayoría de las primoinfecciones virales de la niñez no son graves e incluyen diversas manifestaciones tales como resfriado común, odinofagia, fiebre, otitis, exantema, gingivostomatitis o herpes labial, pero en algunos casos las infecciones primarias o las reactivaciones de estos virus pueden causar complicaciones un poco más severas como encefalitis, meningoencefalitis, mononucleosis o querato-conjuntivitis.

El VHS-1 puede dar lugar a numerosas manifestaciones, como el herpes bucal, lesiones en los labios, queratitis (la causa principal de ceguera corneal en los Estados Unidos) e incluso encefalitis [2]. Diversos estudios seroepidemiológicos indican que la prevalencia de anticuerpos contra VHS-1 varía según la edad y el nivel socioeconómico de la población. En los países en desarrollo el 90% de la población tiene anticuerpos contra VHS-1 [1]. La infección primaria suele ser asintomática. Cuando es sintomática (sobre todo en niños) se manifiesta con más frecuencia como gingivostomatitis acompañada de fiebre y lesiones ulcerosas que abarcan la mucosa bucal, lengua, encías y faringe. Después de una infección inicial, el VHS puede volverse latente en el interior de los ganglios de la raíz nerviosa sensitiva del nervio trigémino. El virus VHS se puede reactivar y excretar en la saliva sin que haya lesiones mucosas manifiestas [1].

La infección por Epstein Barr virus (EBV) es común en todo el mundo, con una seroprevalencia de 90 a 95% en los adultos. En los países en vías de desarrollo, como

Venezuela, prácticamente todos los niños poseen anticuerpos producidos durante infecciones pasadas, mientras que en países industrializados sólo el 60% de los jóvenes poseen tales anticuerpos [3]. EBV causa el 79% de los casos de mononucleosis infecciosa y el CMV el 21% restante. En los Estados Unidos afecta más frecuentemente a estudiantes de escuelas secundarias o universitarias. La mayoría de las personas se infectan con el EBV en algún momento de la vida. En países en desarrollo, la infección se asocia con linfoma de Burkitt en los niños, carcinoma nasofaríngeo y síndromes linfoproliferativos. Se mantiene latente en la cavidad bucal y en la sangre por el resto de la vida de la persona infectada [1].

El objetivo de este estudio, fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos IgM anti VHS-1 y anticuerpos IgG anti EBV en niños, para de esta manera tener una visión más amplia de la prevalencia de estas infecciones virales en una muestra de la población venezolana.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio epidemiológico se realizó en una muestra de 126 niños para el análisis de anticuerpos anti VHS-1 y en 288 niños para el análisis de EBV, todos estudiantes del Colegio Agustín Zamora Quintana de Caracas, se escogieron estudiantes desde preescolar hasta sexto grado, con edades comprendidas entre 5 y 13 años, tanto de sexo masculino como femenino y en aparente buen estado de salud.

A cada paciente se le extrajo una muestra de sangre sin anticoagulante, previo consentimiento de los padres y de los participantes, la cual fue centrifugada. Se obtuvo el suero de la muestra, con el que se hicieron las pruebas serológicas. Las muestras fueron tomadas entre enero y marzo de 2012.

La detección de los anticuerpos se realizó mediante la técnica de análisis

inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), utilizando kits de la división diagnóstica R-Biopharm® para ambas pruebas. En el caso de la detección de anticuerpos IgM anti VHS-1, los anticuerpos presentes en la muestra se unieron a los antígenos de VHS-1 que recubrían los micropocillos de la placa, una vez ocurrida esta unión se añadió un conjugado formado por anticuerpos anti IgM humano marcados con la enzima peroxidasa que se fija específicamente a los anticuerpos IgM. Posterior a la formación de los complejos típicos se añadió TMB/Sustrato, consiguiendo un color azul que se transformaba a amarillo después de parar la reacción. La intensidad de este color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-VHS-1 IgM de la muestra, posteriormente se procedió a determinar con un lector de ELISA, las correspondientes absorbancias de cada muestra.

En el caso de la detección de anticuerpos IgG anti VCA (antígeno de la cápside viral) EBV, los anticuerpos presentes en la muestra se unieron a el antígeno de la cápside viral presente en los micropocillos de la placa, una vez que la unión antígeno anticuerpo ocurría, posterior a una incubación, se añadió un conjugado formado por anticuerpos anti IgG-humano marcado con peroxidasa, el cual se fijaba específicamente a los anticuerpos IgG. Posterior a la formación de los complejos típicos se añadió TMB/Sustrato, que permite la formación de una coloración azul que se transformaba a amarillo después de parar la reacción con ácido sulfúrico.

Para determinar si en la muestra existía la presencia de los anticuerpos, se procedió a evaluar el valor de absorbancia obtenido con una tabla de valores adjunta que proporcionaba el kit. Los valores de referencia utilizados fueron: VHS-1 IgM negativo < 16.0 U/ml; VHS-1 IgM intermedio 16.0 a 20.0 U/ml; VHS-1 IgM positivo >20.1 U/ml; EBV IgG negativo < 10.0 U/ml; EBV IgG intermedio 10.0 a 14.0 U/ml; EBV IgM positivo > 14.1.

Los cálculos estadísticos fueron realizados utilizando el software Microsoft Excel 2011.

RESULTADOS

Los porcentajes de positividad para la inmunoglobulina M anti VHS-1 y la inmunoglobulina G anti EBV se encuentran representados en las tablas anexas (Tabla 1) al igual que la positividad de acuerdo a la edad

IgM anti VHS-1		IgG anti EBV	
Casos	Porcentaje	Casos	Porcentaje
51	48,48%	283	98,95%

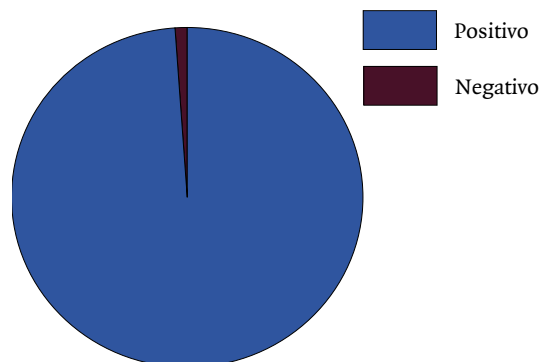
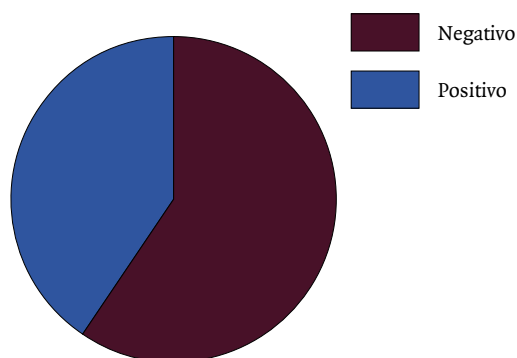


Tabla 1. Porcentaje de positividad para IgM anti VHS-1 e IgG anti EBV en el grupo poblacional estudiado.

Gráfico 2. Porcentaje de positividad de anticuerpos IgM anti VHS-1

Gráfico 3. Porcentaje de positividad de anticuerpos IgG anti EBV

(Tabla 2), se puede observar el mayor porcentaje de positividad en pacientes de 8 años de edad (Gráfica 1).

En cuanto a la tasa de prevalencia de los Anticuerpos IgM anti VHS-1, se observó que esta fue del 40,48%, es decir, que 51 de los pacientes estudiados presentaban una infección latente por este virus sin presentar ningún tipo de sintomatología aparente, el 59,52% restante (75 niños) no presentó positividad para los anticuerpos anti IgM (Gráfica 2).

La positividad de los anticuerpos IgG anti EBV en la población estudiada fue del 98,95%, es decir, que 283 de los 286 niños estudiados habían contraído en algún momento de su vida una infección por el EBV (Gráfica 3).

Cabe destacar que hasta la fecha, solo se presentan los resultados parciales de la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti EBV. La seroprevalencia de anticuerpos IgM anti VHS-1 es un resultado preliminar, ya que aún se encuentra en estudio un porcentaje de las muestras obtenidas de la población, lo que pudiese determinar, al final del estudio, alguna variación en los porcentajes de seroprevalencia.

DISCUSIÓN

Las infecciones por VHS-1 son altamente frecuentes en niños y adultos, las primoinfecciones suelen ser asintomáticas. En este estudio se determinó que casi el 41% de los pacientes estudiados presentaban una infección activa por VHS-1, los cuales no presentaban aparentemente ninguna sintomatología asociada. En otro estudio, realizado en Estados Unidos, la prevalencia de VHS-1 fue del 62% en niños asintomáticos de 12 a 21 años [6].

Es importante recordar que el VHS-1 es la causa más común de encefalitis aguda no epidémica, con una frecuencia anual estimada de un caso por 250.000 a 500.000 habitantes. La mortalidad asociada puede ser superior a 70% en ausencia de un tratamiento antiviral

IgM anti VHS-1		IgG anti EBV	
Edad (años)	Positivos (%)	Edad (años)	Positivos (%)
5	2	5	8
6	10	6	9
7	10	7	5
8	45	8	24
9	17	9	12
10	8	10	16
11	4	11	19
12	4	12	4
13	0	13	3

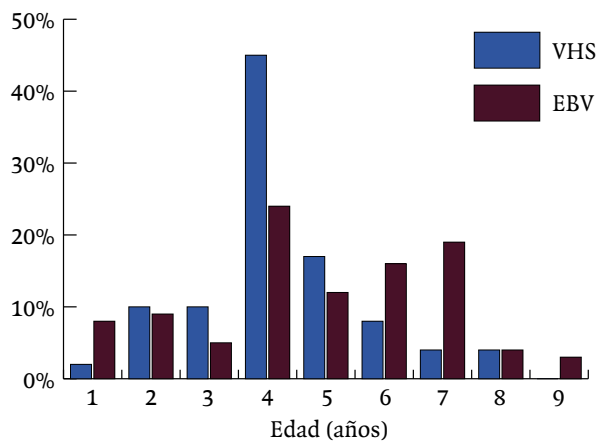


Tabla 2. Positividad de IgG anti VHS-1 e IgG anti EBV en el grupo poblacional estudiado por edades.

Gráfica 1. Distribución de frecuencias expresando los porcentajes de positividad de IgM anti VHS-1 por y de IgG anti EBV por edades.

efectivo y los sobrevivientes pueden llegar a presentar en ocasiones diversas secuelas de tipo neurológicas relacionadas con alteraciones en la memoria, cognitivas y de personalidad. Cerca de un tercio de los casos son causados por infección primaria por VHS-1, mientras que dos tercios resultan de la reactivación viral [7]. Por lo tanto, es importante tomar en cuenta que este tipo de pacientes asintomáticos, como los observados en este estudio, pueden

representar un foco de infección para otras personas, aumentando de esta manera la posibilidad de padecer una complicación grave como la encefalitis herpética. Esto es importante tomarlo en cuenta ya que el VHS-1 no solamente puede reactivarse causando herpes labial sino también esta complicación neurológica [7].

El EBV puede llegar a infectar alrededor de 90% de la población mundial y persiste de manera latente durante toda la vida en el huésped, específicamente en los linfocitos B, (células dianas responsables de la persistencia de la infección) y en las células epiteliales de la cavidad oral, (probablemente responsables de su propagación). La primoinfección, cuando se produce en los primeros años de vida, suele cursar de forma asintomática, sin embargo en la adolescencia se presenta como un cuadro de mononucleosis. En un pequeño porcentaje de los pacientes actúa como un agente cocarcinógeno y está asociado con el desarrollo de enfermedades malignas como el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo y la enfermedad de Hodgkin [1,4].

La seroprevalencia del EBV en este estudio fue del 98,95%. En un estudio realizado en el Estado Carabobo, Venezuela y encabezado por Chacón MR, se observó que la prevalencia de anticuerpos anti EBV fue del 83,33% en una población mayor de 16 años, esta prevalencia igualmente resulta elevada, aunque es menor a la observada en nuestro estudio, comprobando que la primoinfección para este virus ocurre en edades tempranas. Como bien es cierto, la infección por EBV, depende en gran parte del país donde habita la persona, del grado de desarrollo del mismo y del nivel socioeconómico de la población [4]. En los países en vías de desarrollo, donde se incluye a Venezuela, la prevalencia es mayor (cerca del 90%). El patrón de seroprevalencia para el EBV virus es semejante al reportado en otros países con un grado de desarrollo similar a

Venezuela, en un estudio realizado en Brasil, en el año 2004, encabezado por Figueira CM, se observó una prevalencia de 71% de anticuerpos anti VCA de EBV en una población de 1 a 21 años y adicionalmente se hace referencia a la seroprevalencia de este virus en una población indígena de la región amazónica donde fue del 90% (a los 5 años de edad) [5].

Es importante resaltar que el EBV se encuentra relacionado con síndromes mieloproliferativos, Linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo. El anticuerpo persistente contra antígenos tempranos (anti-EA, anti D o anti R) puede estar correlacionado con enfermedad grave, carcinoma nasofaríngeo (anti D) o linfoma de Burkitt africano (anti R) [1]. En estudios recientes se han encontrado relaciones del 67%, 55% y 31% de casos de linfoma de Hodgkin con

infecciones por el EBV, por lo que la prevención de la infección de este virus podría significar una disminución del riesgo de padecer este tipo de manifestaciones [8,9].

CONCLUSIONES

Se ha demostrado que la adquisición de ambas infecciones, tanto de EBV como de HSV, ocurre en edades tempranas, con una seroprevalencia superior al 90% en la población de 5 a 13 años de edad, siendo esta muestra representativa de la población estudiada. Por este motivo se recomienda ampliar los métodos de control de infecciones de estos virus, como son el lavado adecuado y constante de manos, el uso de utensilios de comida adecuados en especial en las escuelas y evitar el hacinamiento de personas.

Referencias bibliográficas

1. Kenneth J, Ray G. Microbiología médica. 4 ta Edición. México: Mc Graw Hill. Cap 38, p: 607.
2. Shors T. Virus: estudio molecular con orientación clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana. España. 2009.
3. Ingraham J, Ingraham C. Introducción a la microbiología. España: Reverté S.A. 1998.
4. Chacón de Petrola MR, Naveda O, Castillo de Tebres O, Flores M, Casanova de Escalona L. Prevalencia de anticuerpos anti citomegalovirus y anti virus epstein barr en valencia, Estado Carabobo, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiología. 2002; 22(2).
5. Figueira C, Pereira F. Prevalencia de anticuerpos contra el virus de Epstein-Barr en niños y adolescentes sanos en Vitória, estado de Espírito Santo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2004; 37(5).
6. Rosenthal SL, Stanberry L, Biro F, Slaoui M, Francotte M, Koutsoukos M, Hayes M, Bernstein D. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2 and cytomegalovirus in adolescents. Clin Infect Dis. 1997. 24(2):135-9.
7. Martin C, Loretto S, Margarita I, Otth C. Herpes simplex virus type 1 as risk factor associated to Alzheimer disease. Rev med Chile. 2011; 139(6).
8. De Matteo E, Barón A, Chabay P, Porta J, Dragosky M, Preciado M. Comparación de la presencia del virus de Epstein-Barr en el linfoma de Hodgkin en pacientes pediátricos argentinos frente a los adultos. División de Patología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina. Arch Pathol Lab Med. 2003; 127(10):1325-9.
9. Chin J. El Control de las enfermedades transmisibles. Publicación Científica y técnica. N° 581. 17ma Edición. Informe Oficial Estadounidense de Salud Pública. Organización Panamericana de la Salud.
10. Robertson E. Epstein Barr virus latency and transformation. Norfolk: Caister Academic Press 2010.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación del riesgo cardiovascular en pacientes con infección por VIH

Blanco AE¹ y Arcadi A^{1,2}

RESUMEN

Los factores de riesgo convencionales como hipertensión arterial (HTA), hipercolesterolemia (HC), diabetes mellitus (DM), y hábito tabáquico son predictores útiles de morbilidad y mortalidad cardiovascular; sin embargo las escalas de riesgo cardiovascular están planteadas para pacientes sin patologías inmunes. La infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) representa la infección más importante en la historia de la humanidad. Según cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS) a finales del 2011 existían 32 millones de infectados; el advenimiento de la terapia antirretroviral y las mejoras subsecuentes en el cuidado de los pacientes han logrado aumentar la esperanza de vida, presentando un nuevo desafío para la medicina con la aparición de enfermedades cardiovasculares asociadas en pacientes VIH (+). Es por eso que nos planteamos determinar el riesgo cardiovascular asociado a infección por VIH.

El presente trabajo es un estudio no experimental, descriptivo, transversal y de campo. Se realiza con la participación voluntaria de 100 pacientes VIH (+) de la consulta externa del Instituto de Medicina Tropical (IMT) de la Universidad Central de Venezuela mediante un muestreo no probabilístico casual. Los participantes fueron sometidos a una encuesta de 45 preguntas donde se interrogaron factores de riesgo para enfermedad cardiovascular, comorbilidades como HTA, DM e HC, adicionalmente se registraron la presión arterial (PA), peso, altura y circunferencia abdominal (CA). Se realizaron además pruebas de laboratorio para determinar concentración de colesterol total (CT), concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL), concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y concentración de glicemia sérica.

Los resultados obtenidos permitieron evidenciar cómo el 14% de los pacientes poseen un riesgo cardiovascular de entre 10 a 20% según la escala de Framingham. Este valor es 7 veces mayor al porcentaje de población venezolana control, que posee un riesgo cardiovascular de 1 a 3%.

Palabras clave: Dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, Venezuela, VIH.

¹Escuela de Medicina "Luis Razetti", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

²Laboratorio de Virología, Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Colinas de Vista Alegre, Calle 7. Qta. Marlene. Parroquia El Paraíso. Caracas. Dtto Capital. Venezuela. CP: 1020. E-mail: andresenriqueblanco@gmail.com

Recibido: 22/09/13.

Aceptado: 16/03/14.

Publicado: 02/06/14.

INTRODUCCIÓN

El VIH es un *Lentivirus* causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) que ataca principalmente a los linfocitos CD4+. Los pacientes VIH (+) además de un conteo de CD4+ disminuido pueden presentar perfiles metabólicos alterados como por ejemplo en caso de padecer de síndrome metabólico, definido por la OMS como obesidad abdominal (circunferencia abdominal >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres), concentración de triacilglicéridos (TAG) elevada (>150 mg/dl), concentración de HDL disminuida (<40 mg/dl en hombres y <50 mg/dl en mujeres), PA >130/85 mmHg y glucosa sérica mayor a 100 mg/dl en ayunas. Estos perfiles metabólicos alterados se caracterizan por un estado inflamatorio crónico que contribuye a la génesis de numerosas comorbilidades, estado identificado por niveles elevados de proteína C reactiva, interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral [1].

Según la OMS las enfermedades cardiovasculares ocupan la principal causa de muerte a nivel mundial (12,8%), específicamente las cardiopatías isquémicas. Escenario que se repite en Venezuela en donde la principal causa de muerte según el anuario de mortalidad de 2010 son las enfermedades del corazón [2].

Aunque no está completamente dilucidada la fisiopatología de los eventos cardiovasculares en pacientes VIH (+), se esbozan cuatro teorías para la explicación del aumento del riesgo en este grupo de pacientes: la propia replicación del virus y el tratamiento que recibe el paciente, el estado inflamatorio crónico como componente inmunológico y los riesgos adquiridos por el propio paciente como el tabaco y la edad [3,4]. Estos factores han sido agrupados de distintas formas, el sistema más renombrado es la estratificación de Framingham que considera

edad, sexo, hábito tabáquico, HDL, colesterol y presión arterial sistólica como factores de riesgo [1].

Además de enfrentarse a infecciones oportunistas, los pacientes VIH (+) poseen mayor riesgo de desarrollo de morbilidades cardiovasculares [5]. Se ha demostrado que el porcentaje de hombres VIH (+) con índice de Framingham (FRS) a los 10 años >10% era cuatro veces mayor que los controles VIH (-) y que este puede haber estado impulsado en parte por la más alta prevalencia de hábito tabáquico y los valores más bajos de HDL en este grupo de pacientes [6]. En pacientes VIH (+) las patologías cardiovasculares más frecuentes son el derrame pericárdico y la miocarditis, sin embargo, se ha demostrado la existencia de disfunción global del ventrículo izquierdo en más de 15% de los pacientes infectados (demostrado por ecocardiograma), así como la prevalencia de HTA en más de un tercio de los pacientes [7,8].

La mayor prevalencia de morbilidades cardiovasculares en pacientes VIH (+) lleva a plantearse la posibilidad de que el análisis de factores de riesgo cardiovasculares pueda prevenir el desarrollo de dichas patologías. Conociendo el riesgo incrementado en pacientes VIH (+) se pueden planificar abordajes adecuados para prevenir la aparición de enfermedades cardiovasculares, pudiendo incrementar la calidad y esperanza de vida de estos pacientes [9].

En el presente estudio se espera encontrar en la muestra un mayor riesgo cardiovascular a los 10 años en pacientes VIH (+) en comparación con la población sana.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio es de tipo transversal y descriptivo. El mismo se realizó entre los meses de mayo y julio del 2013, en las instalaciones de la consulta externa del Instituto de Medicina

Tropical de la Universidad Central de Venezuela (IMT). Se obtuvo una muestra de 100 pacientes mediante un muestreo no probabilístico, casual; los criterios de inclusión se basaron en tratarse de pacientes VIH (+), controlados en el IMT y que residieran en territorio venezolano, mientras que los criterios de exclusión fueron ser paciente VIH (-), padecer de otra enfermedad diferente a las incluidas en el estudio y en el caso de las pacientes femeninas, estar embarazada.

La variable principal en estudio es el riesgo cardiovascular a los 10 años, calculado mediante la escala de Framingham, la cual es una variable dependiente, cuantitativa y discreta. Por otra parte algunas variables de relevancia en estudio son edad, sexo, concentración de colesterol sérico, HDL, hábito tabáquico y presión arterial sistólica las cuales constituyen parámetros que se utilizan para el cálculo del riesgo cardiovascular según la escala antes mencionada, se trata de variables independientes. Las comorbilidades como DM, HTA y CT fueron igualmente consideradas.

El estudio se realizó con base en tres herramientas: un cuestionario estructurado de 45 preguntas cerradas, mediciones antropométricas de altura, peso, circunferencia abdominal y presión arterial (dicho instrumento fue elaborado por personal especializado de la Escuela de Salud Pública de la Universidad Central de Venezuela y aprobado por la Sociedad Venezolana de Cardiología) y la toma de muestras sanguíneas en las que se analizó la concentración sérica de glucosa, CT, LDL, HDL y TAG mediante la utilización de equipos de laboratorios Biotech.

Todo el procedimiento fue autorizado por el Comité de Ética de la Extensión de Investigación de la Universidad Central de Venezuela, se utilizaron consentimientos informados por escrito y los resultados de laboratorio fueron entregados a los pacientes.

En cuanto al análisis estadístico se calculó

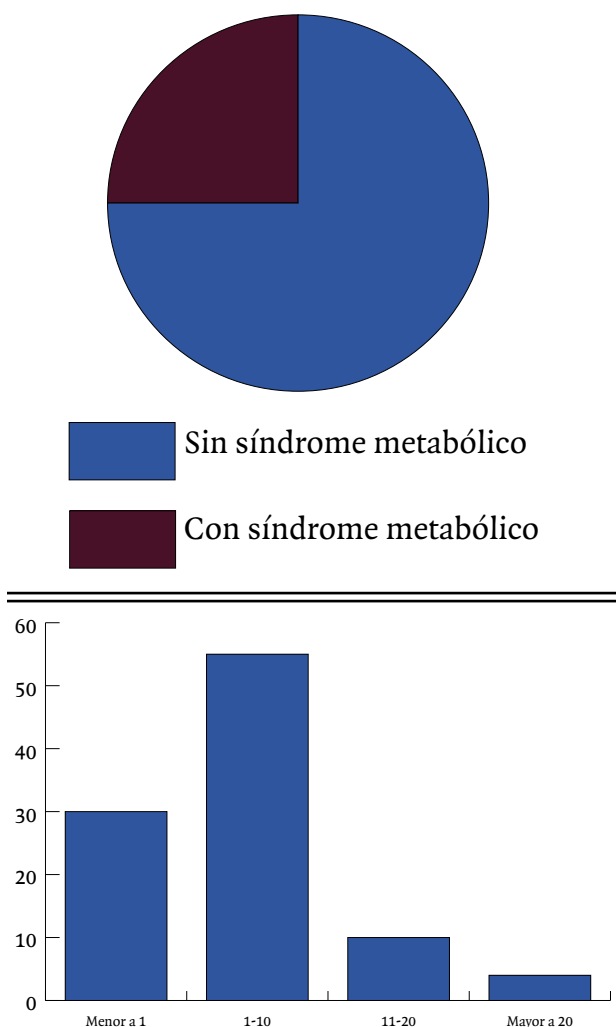
el riesgo cardiovascular a los 10 años según la escala de Framingham, utilizando el programa Microsoft Excel 2010 versión 14.0. De la misma forma, se realizó el análisis estadístico descriptivo de las variables de tendencia central y dispersión.

RESULTADOS

La edad media del estudio fue de 42 años, el 66% fueron pacientes masculinos mientras que 34% fueron pacientes femeninos. En cuanto a su actividad semanal el 68% de los pacientes refiere practicar actividad física durante la semana. Entre los hábitos alimenticios, el 95% de los encuestados controla la ingesta de sal. El 54% de los pacientes no poseía hábitos tabáquicos.

En cuanto a los antecedentes familiares, sólo el 22% de los mismos expresó tener un familiar con enfermedad cardiovascular. En cuanto a los antecedentes personales, el 31% de los participantes notificó sufrir o haber sufrido de alguna enfermedad entre los 30 y 50 años de edad, como DM (3%), HTA (5%), HC (8%) y episodios varios de angina, tromboembolismo pulmonar, eventos vasculo-cerebrales u otros (9%); es importante recalcar que 6% de los pacientes presentaban patologías simultáneas, 4% padecían de HTA e HC y 2% HTA y DM.

La media del índice de masa corporal (IMC) y circunferencia abdominal en los pacientes fue de 26 kg/m² y 91 cm respectivamente. En cuanto a la medición de la PA, la media de los individuos evaluados fue de 100/60 mmHg. La media de la concentración de glicemia sérica fue de 88 mg/dl y para los TAG 188 mg/dl. El 25% de los pacientes presentaban síndrome metabólico (Gráfica 1). El 30% de la muestra presentó un riesgo cardiovascular a los 10 años <1% y un 10% presentó un valor de 12%, el resto de la muestra presentó valores de entre 1 y 12% (Gráfica 2).



Gráfica 1. Incidencia de síndrome metabólico en pacientes VIH 8` del IMT/UCV, según la ATPIII. Mayo-Julio 2013.

Gráfica 2. Riesgo de enfermedad cardiovascular en pacientes VIH (+) del IMT/UCV según la escala de Framingham. Mayo-Julio 2013.

DISCUSIÓN

Los pacientes VIH (+) poseen un mayor riesgo cardiovascular que la población no infectada; basándonos en el estudio CARMELA (Assesment of cardiovascular risk in seven Latin American cities) el 2,9% de la población venezolana presenta un riesgo de desarrollo de patologías cardiovasculares a los 10 años

de 10 a 20% [8], en contraposición, se puede evidenciar que el 26,36% de la muestra poseía un riesgo de 10 a 20% (Gráfica 2). Se puede entonces afirmar que esta variable (infección por VIH) puede ser la causa del aumento de riesgo cardiovascular [8].

Por otra parte, en los resultados obtenidos podemos observar cómo el 30% de la muestra posee un riesgo cardiovascular menor al 1% mientras que según el estudio CARMELA el 88,6% de la población venezolana posee un riesgo menor al 1% [8]. De igual forma, según el estudio CARMELA el 8,5% de la población venezolana posee un riesgo cardiovascular mayor al 20%, valor mucho mayor al obtenido en nuestro estudio, en donde el 3% de la muestra posee dicho porcentaje de riesgo.

Agrupando los individuos según la presencia de riesgo elevado para enfermedad cardiovascular (más de 10% de riesgo) evidenciamos cómo el estudio CARMELA determina que sólo el 11,4% de la muestra posee riesgo cardiovascular elevado, en contraste, nuestro estudio permitió determinar que el 29,36% de la muestra poseía un riesgo elevado de enfermedad cardiovascular [8].

El riesgo cardiovascular aumentado en los pacientes VIH (+) puede deberse tanto a la replicación viral, el tratamiento al que se encuentra expuesto el paciente, el estado inflamatorio crónico o a hábitos propios adquiridos por los pacientes como el tabáquico, pudimos analizar que el 46% de la muestra poseía hábito tabáquico [10-12].

En nuestra muestra el 25% de los pacientes posee criterios para síndrome metabólico predisponiendo a los mismos a alteraciones metabólicas que facilitan el desarrollo de comorbilidades. Cuando comparamos el IMC de la población venezolana control (según cifras de la OMS del año 2008) con el de nuestra muestra, podemos observar que la media de la población no infectada es de 28 kg/m² y para nuestra muestra fue de 26 kg/m²; en cuanto a

la concentración de glicemia sérica, la media en la población venezolana es de 99 mg/dl y en nuestro estudio fue de 88 mg/dl.

Por todo lo antes expuesto, podemos confirmar la hipótesis inicial, los pacientes VIH (+) poseen un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en 10 años, este hecho permite afirmar que mediante intervenciones preventivas se puede evitar y disminuir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

CONCLUSIONES

Para finalizar, se recomienda que en futuras investigaciones se estudie la duración y combinación de fármacos antiretrovirales como factor de riesgo para enfermedad

cardiovascular, para establecer si las drogas utilizadas en el tratamiento de la infección por VIH contribuyen al establecimiento un mayor riesgo cardiovascular. En cuanto a las limitaciones del estudio, se considera necesario el desarrollo de scores para el estudio del riesgo cardiovascular en poblaciones latinoamericanas, ya que la escala de Framingham utilizada fue diseñada para la población estadounidense, siendo evidentes las diferencias socioculturales de ambas poblaciones, lo que puede alterar la efectividad del instrumento para estudios latinoamericanos. Además, se consideran necesarios estudios prospectivos que permitan evaluar la vinculación entre enfermedad cardiovascular y VIH, puesto que la fisiopatología y el tratamiento de la infección por VIH puede alterar los resultados de los scores utilizados.

Referencias bibliográficas

1. Smith A. Aging, inflammation, and HIV. *Top Antiviral Med.* 2012; 20(3):101-105.
2. Ministerio Popular para la Salud (2013). Anuario de Mortalidad 2010. Caracas, Venezuela.
3. Rakhlin N, Hsue P, Cheitlin M. Cardiac Manifestations of HIV [Web page]. HIV InSite Knowledge Base Chapter 2005. Disponible en: <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=kb-00&doc=kb-04-01-06>
4. Lake JE, Wohl D, Scherzer R, Grunfeld C, Tien PC, et al. Regional fat deposition and Cardiovascular Risk in HIV infection: The FRAM study. *AIDS Care.* 2011; 23: 929-938.
5. Satyajit D. Risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65: 386-389.
6. Herskowitz A, Vlahov D, Willoughby S, Chaisson RE, Schulman SP, Neumann DA, Baughman KL. Prevalence and incidence of left ventricular dysfunction in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am J Cardiol.* 1993; 11: 955-958.
7. Jung O, Bickel M, Ditting T, Rickerts V, Welk T, Helm EB, Staszewski S, Geiger H. Hypertension in HIV-1-infected patients and its impact on renal and cardiovascular integrity. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 9: 2250-2258.
8. Schargrodsky H, Hernández-Hernández R, Champagne B, Silva H, Vinuesa R, et al. CARMELA: Assessment of Cardiovascular Risk in Seven Latin American Cities. *Am J Med.* 2008. 121(1).
9. Glass T, Ungsedhapand C, Wolbers M, Weber R, Vernazza P, et al. Prevalence of risk factors for cardiovascular disease in HIV infected patients over time: the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Medicine.* 2006. 7: 404-410.
10. Aboud M, Elgalib J, Pomeroy L, Panayiotakopoulos G, Skopelitis E. Cardiovascular risk evaluation and antiretroviral therapy effects in an HIV cohort: implications for clinical management: the CREATE 1 study. *Int J Clin Pract.* 2010 August; 64(9): 1252-1259.
11. Kline E, Sutliff R. The Roles of HIV-1 Proteins and Antiretroviral Drug Therapy in HIV-1-Associated Endothelial Dysfunction. *J Investig Med.* 2008 June; 56(5): 752-769.
12. Fichtenbaum C. Inflammatory Markers Associated with Coronary Heart Disease in Persons with HIV Infection. *Curr Infect Dis Rep.* 2011 Feb; 13(1): 94-101.

REPORTE DE CASO

Reporte de caso. Adolescente masculino con adenomegalias cervicales

Salazar M¹, Reyna M¹, Santos C² y Rodríguez FA²



RESUMEN

La paracoccidioidomicosis es la micosis sistémica producida por el hongo *Paracoccidioides brasiliensis*, la cual es endémica en varias regiones de Latinoamérica. La transmisión ocurre por la inhalación de los micelios del hongo por lo cual la sintomatología suele ser frecuentemente de tipo respiratorio, sin embargo en los niños y adolescentes el microorganismo suele afectar principalmente al sistema fagocítico mononuclear.

Se describe el caso de un adolescente masculino que cursó con la forma aguda de la enfermedad, presentando como sintomatología inicial linfadenomegalias y evidenciándose posteriormente compromiso pulmonar, esplénico y mucocutáneo. El carácter endémico de la paracoccidioidomicosis en Venezuela y el aumento en su incidencia justifica la inclusión de esta enfermedad en los principales diagnósticos diferenciales a considerar en pacientes con síndrome adenomegálico, se presenta el caso de este paciente con el objetivo de que los médicos sospechen más esta enfermedad y puedan así realizar el diagnóstico e instaurar tratamiento de manera precoz.

Palabras clave: paracoccidioidomicosis, *Paracoccidioides brasiliensis*, micosis sistémicas, síndrome adenomegálico, adolescente.

¹Servicio de Medicina Interna IV, Hospital JM de los Ríos, Caracas, Venezuela.

²Escuela de Medicina "José María Vargas", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Calle Chopin, Edf. Romero, Piso 4, Apto. 16, Colinas de Bello Monte. Caracas, Venezuela. CP:1050. E-mail: frodriguez43@hotmail.com

Recibido: 04/05/13.
Aceptado: 01/02/14.
Publicado: 02/06/14.

INTRODUCCIÓN

La paracoccidioidomicosis es la micosis profunda más frecuente en pacientes sin VIH/SIDA en Venezuela [1], donde constituye una enfermedad endémica. Los estados con mayor número de casos reportados: Carabobo, Lara, Monagas, Miranda y Aragua [2]. Venezuela es el tercer país de América Latina (después de Brasil y Colombia) con mayor número de casos de paracoccidioidomicosis [2,3].

Las micosis sistémicas o profundas se clasifican como endémicas y oportunistas, siendo las primeras, causadas por hongos que no son parte de la microbiota humana y se adquieren del entorno (paracoccidioidomicosis, histoplasmosis, coccidioidomicosis); por su parte las oportunistas son causadas por hongos que suelen ser componentes de la microbiota humana (*Candida* y *Aspergillus*) y se presentan en pacientes inmunodeficientes. Las micosis endémicas son producidas por hongos dimorfos cuyo contacto inicial suele producirse por inhalación, ocasionando síntomas respiratorios; siendo la tierra el hábitat de la mayor parte de estos microorganismos [3,4].

La paracoccidioidomicosis es causada por la inhalación de los micelios de *Paracoccidioides brasiliensis*. Esta infección es más frecuente de hombres de 30 a 50 años; sin embargo, puede presentarse en niños y adolescentes. Usualmente la paracoccidioidomicosis cursa como una enfermedad pulmonar crónica, pero en niños y adolescentes, la enfermedad suele afectar el sistema linfático y fagocítico mononuclear. El diagnóstico se establece mediante examen directo, cultivo o estudio histopatológico. El tratamiento es prolongado e implica el uso de triazoles o anfotericina B [2,4].

La presentación de este caso reviste importancia por diversas razones; siendo la principal de ellas el carácter endémico que

posee la paracoccidioidomicosis en Venezuela, adicionalmente destaca la baja frecuencia con que suele presentarse esta patología en el grupo etario del paciente presentado, es por esto que siempre debe tomarse en cuenta las características epidemiológicas venezolanas e incluir la paracoccidioidomicosis como parte de los diagnósticos diferenciales en pacientes que cursen con síndrome adenomegálico, lo que nos llevaría a un diagnóstico preciso, precoz, para así poder instaurar el tratamiento en forma adecuada rápidamente.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Adolescente masculino de 13 años, procedente del Estado Miranda, consulta por aumento de volumen cervical bilateral de 4 meses de evolución. En el examen físico presenta presión arterial de 126/91 mmHg, frecuencia cardíaca de 98 lpm, frecuencia respiratoria de 22 rpm; palidez cutáneo-mucosa leve; lesiones costrosas en nariz; plastrón adenomegálico cervical bilateral de 6x6 cm de diámetro, de consistencia firme, móviles y no dolorosas; resto sin alteraciones. En el perfil hematológico se halla anemia microcítica hipocrómica (Hb 9,6 g/dl, Hto 31,8%), leucocitosis (15.050 células/mm³) y eosinofilia marcada (25%); en el perfil bioquímico, proteínas totales 12,5 g/dl, hipoalbuminemia (2,76 g/dl) e hipergammaglobulinemia (9,79 g/dl). Se obtiene una radiografía de tórax que reporta adenopatías parahiliares bilaterales a predominio derecho y patrón reticulonodular fino (Imagen 1) y en el ecosonograma abdominal, esplenomegalia y múltiples adenopatías retroperitoneales.

En tomografía cervicotoracoabdominal con doble contraste se evidencia múltiples adenopatías cervicales, supraclaviculares y axilares bilaterales; adenopatías en espacio retrocavo, pretraqueal y precarinal y aumento del hilio pulmonar del lado derecho, además de adenopatías retroperitoneales,

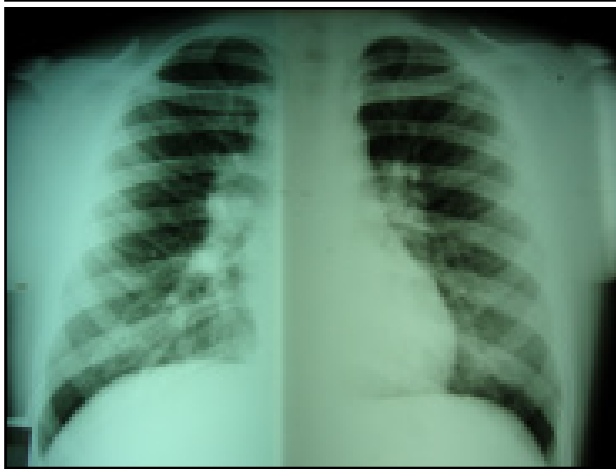


Imagen 1. Radiografía de tórax que muestra adenopatías parahiliares bilaterales a predominio derecho.

interaortocavales, paraórticos y en mesenterio, asociadas a esplenomegalia.

Se realiza Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima (ELISA) para Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) negativo; intradermorreacción a la paracoccidiodina positivo; serología para Paracoccidioides brasiliensis positivo y biopsia de ganglio cervical derecho cuyo análisis patológico reporta inflamación crónica granulomatosa no necrotizante con levaduras multibrotantes anisométricas en forma de timón de barco compatible con Paracoccidioides brasiliensis; estableciéndose en diagnóstico de paracoccidioidomicosis.

El paciente recibió tratamiento intravenoso con anfotericina B (1 mg/kg/día) durante un mes, con excelente respuesta clínica, por lo cual se decide su egreso con tratamiento ambulatorio (itraconazol 200 mg/día por 6 meses).

DISCUSIÓN

P. brasiliensis crece en forma de levadura a 37°C y en forma micelial a 25°C considerándose su hábitat en la naturaleza los suelos de cultivos y cría de ganados; sin embargo, el armadillo podría

constituir un reservorio natural del hongo [4]. La infección por *P. brasiliensis* es más frecuente en varones tras la pubertad, de profesión agricultor y ganadero, debido a que los estrógenos evitan la transición de los micelios a la forma levaduriforme [5], el grupo comprendido entre los 30 a 50 años presenta la mayor incidencia debido al largo período de latencia de la enfermedad [6]; sin embargo, es importante destacar que el paciente descrito en el caso clínico no pertenece al grupo etario más frecuente de esta enfermedad.

La puerta de entrada del hongo suele ser a través de la vía respiratoria, por inhalación de los micelios, pero se ha reportado su inoculación a través de traumatismos directos en la mucosa oral o anal. Una vez en el organismo, genera infección primaria pulmonar con posterior infección de los ganglios linfáticos regionales (complejo linfático pulmonar); puede diseminarse a piel y mucosas así como a ganglios linfáticos y vísceras, destacándose estómago, intestino, bazo y suprarrenales [6].

La paracoccidioidomicosis cursa como una forma aguda-subaguda o una forma crónica. La forma aguda o juvenil representa el 5 al 10% de los casos, es de curso rápido, compromete al sistema fagocítico mononuclear (hígado, bazo, ganglios linfáticos y médula ósea) y los huéspedes suelen tener alteración del sistema inmunológico, predominantemente de tipo celular; lo cual fue descartado en el paciente presentado (VIH negativo). Las manifestaciones clínicas más frecuentes de ésta presentación son linfadenomegalias (97,4%), fiebre (81,6%), hepatomegalia (71,1%), lesiones cutáneas (44,7%) y esplenomegalia (36,8%); siendo mucho menos frecuente el compromiso pericárdico y el compromiso óseo (5,9%) [7]. Las manifestaciones clínicas observadas en el paciente discutido corresponden con la forma aguda o juvenil de la enfermedad cursando con linfadenomegalias, lesiones mucocutáneas y esplenomegalia; sin embargo, el paciente no presentó fiebre ni hepatomegalia, a pesar de la

alta frecuencia de las mismas.

En la forma crónica, que representa el 90% de los casos, los síntomas iniciales suelen ser tos (85%), síntomas similares a los del resfriado común (72%), fiebre (66%), pérdida ponderal (56%), astenia (42,5%), disnea (39%), hemoptisis (31%), sudoración nocturna (24,5%) y disfonía (24,5%) [8], observándose en las radiografías infiltrados desproporcionados a la sintomatología. Suele desarrollarse mucositis, con presencia de lesiones ulcerosas, papulares o granulomatosas afectando principalmente las fosas nasales y la cavidad oral aunque puede diseminarse hacia la piel. También suelen cursar con linfadenopatía generalizada, hepatoesplenomegalia y afectación suprarrenal [5].

En base a las manifestaciones clínicas que predominan en la presentación de la enfermedad, puede clasificarse como:

- Paracoccidioidomicosis mucocutánea: Afectando la mucosa bucofaringea, nariz y anorrectal, cursando con lesiones ulceromicronecróticas granulomatosas con características de mora. Suele cursar además con hipertrofia de ganglios linfáticos cervicales que pueden formar fistulas [6].
- Paracoccidioidomicosis linfática: Cursa únicamente con afectación de ganglios supraclaviculares, cervicales, axilares e inguinales sin alteración de mucosas [6].
- Paracoccidioidomicosis visceral: Suele iniciar con la afectación pulmonar cursando con tos, expectoración mucopurulenta y fiebre moderada. Es característico además el compromiso gastrointestinal con dolor abdominal difuso por invasión de estómago e intestinos y posterior diseminación a hígado, bazo y en 50% de los casos alteración de las glándulas suprarrenales [6].
- Paracoccidioidomicosis mixta: Las

afecciones mencionadas se presentan en conjunto [6]. La evidencia clínica de linfadenomegalias y compromiso mucocutáneo, sumado a los hallazgos radiológicos y ecográficos de alteración pulmonar y esplénica permiten clasificar la forma de presentación del paciente discutido como paracoccidioidomicosis mixta.

El diagnóstico suele ser claro cuando se observa el hongo mediante examen directo con KOH, apreciándose una imagen en timón de barco; esta es una prueba de gran rendimiento (sensibilidad del 82% y especificidad del 90%), bajo costo y fácil accesibilidad (puede realizarse de múltiples especímenes como lesiones dérmicas, esputo y ganglios) [7]. El cultivo del microorganismo en agar Sabouraud (colonias blancas y vellosas; con especificidad del 100%) o su observación durante el estudio histopatológico permiten confirmar el diagnóstico [6,9] (Imagen 2). La intradermorreacción a la paracoccidioidina tiene poco valor diagnóstico debido a la gran cantidad de falsos positivos y su única utilidad es con fines epidemiológicos [6,10]. Las pruebas serológicas son útiles (sensibilidad de casi el 90%), pero no deben utilizarse solas para establecer el diagnóstico; sin embargo, pueden ser empleadas para monitorizar la respuesta al tratamiento [4,6]. En el caso clínico discutido



Imagen 2. *P. brasiliensis* en preparado histopatológico (imagen en timón de barco).

el diagnóstico pudo realizarse a partir de serología positiva para *P. brasiliensis* confirmado posteriormente mediante la observación del microorganismo en el estudio histopatológico. A pesar de contar con intradermorreacción positiva para paracoccidioidina, el carácter endémico de esta enfermedad en Venezuela y en especial en la región de procedencia del paciente, resta cualquier validez a este estudio.

Las radiografías suelen ser útiles en las formas pulmonares (donde se observa un infiltrado retículo-nodular, así como la presencia de adenopatías), también suelen ser orientadoras en el estudio del compromiso osteoarticular en las formas juveniles [6]. Se ha reportado dentro de los análisis de laboratorio: Anemia (90%), hipergammaglobulinemia (88,5%), eosinofilia (75,5%), hipoalbuminemia (72,5%), velocidad de sedimentación elevada y leucocitosis (6,11). El compromiso pulmonar en el caso clínico discutido fue evidenciado por el hallazgo de adenopatías bilaterales parahiliares en la radiografía de tórax, confirmadas posteriormente mediante la tomografía computarizada de tórax. Desde el punto de vista paraclínico el paciente presentó las principales alteraciones citadas (anemia, hipergammaglobulinemia, eosinofilia, e hipoalbuminemia).

El tratamiento suele ser prolongado en especial en las formas viscerales. En los casos de enfermedad severa, los fármacos antimicóticos

intravenosos usados con éxito son la anfotericina B y el sulfametoxazol-trimetoprim (SMX/TMP). La anfotericina B, obtiene una tasa de curación del 60%, pero una alta frecuencia de efectos adversos (principalmente renales). Las sulfonamidas tienen una tasa de curación de 70%, pero 30% de recaídas. En las formas no severas o como terapia posterior a la vía intravenosa puede utilizarse itraconazol y SMX/TMP, teniendo el itraconazol tasas de curación que oscilan entre 88% y 100% (itraconazol 200 a 300 mg/día por 2 a 3 meses y luego 100 mg/día por 6 a 8 meses) [6,7]. El tratamiento indicado a éste paciente, fue anfotericina B durante su estancia hospitalaria (1 mes) indicándose posterior a su egreso itraconazol de manera ambulatoria durante 6 meses, evolucionando satisfactoriamente.

Finalmente la importancia de la presentación de este caso clínico radica en que debido a las características epidemiológicas en nuestro país, la paracoccidioidomycosis debe incluirse en los diagnósticos diferenciales de todo síndrome adenomegálico; ya que en niños y adolescentes la presentación clínica suele ser diferente a los adultos, predominando el compromiso ganglionar y del sistema fagocítico mononuclear sobre el pulmonar. La serología para *P. brasiliensis*, debido a su alta sensibilidad, es un buen método diagnóstico inicial, siempre y cuando se confirme los resultados posteriormente mediante examen directo, cultivo o histopatología.

Referencias bibliográficas

1. Olivero R, Dominguez A. Diagnóstico de paracoccidioidomycosis en el Laboratorio de Micología de la Universidad de Carabobo durante 14 años (1992-2005). Rev. Soc. Ven. Microbiol. [Internet]. 2007 [citado 2013 Ene 05]; 27(1): 349-63. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562007000100006&lng=es
2. Albornoz M. Temas de Micología Médica. Caracas: Panamericana; 1996. 370.
3. Navarro P, Romero H, Mokund, C. Paracoccidioidomycosis. Enfermedad Endémica en Venezuela. Rev Inf Med 2009; 11(3): 125-60
4. Vargas J, Vargas R. Paracoccidioidomycosis. Rev enferm infec trop. 2009; 1(1): 49-56.
5. Sánchez L, Galarza C, Matos R. Infecciones micóticas sistémicas o profundas: paracoccidioidomycosis. Rev Dermatol Perú 2010; 20(1): 87-92.
6. Giglio P, Melgarejo C, Ramos C. Paracoccidioidomycosis juvenil diseminada. Rev. Folia dermatol. Perú. 2008; 19(3): 121-6.
7. Pérez D, Oviedo J, Gill S. Paracoccidioidomycosis: características clínicas y evolutivas de 94 casos. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Ambiente (INERAM). Trabajo presentado en: VII Congreso Paraguayo de Medicina Interna; 2004; Asunción, Paraguay.
8. De Araujo. Oral exfoliative cytology in the diagnosis of paracoccidioidomycosis. Acta Cytol May-Jun 2001; 45 (1): 360-4
9. Fleta, J. Micosis profundas. Medicina integral: Medicina preventiva y asistencial en atención primaria de la salud. 2001; 38(8): 348-54
10. Pereira RM, Bucarethci F, Barison E. Formas Juveniles y Diseminadas de Paracoccidioidomycosis en Niños. Rev. Instit. Med. Trop. Sao Paulo. 2004; 46(3): 127-31.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Aplicaciones experimentales de la inmunoglobulina Y. Su utilidad en diagnóstico

Blanco-Carrero CS^{1,2}, Díaz M¹, Figuera D¹, Palacios A² y Araujo Z².



RESUMEN

Introducción

La inmunoglobulina Y (IgY) es un anticuerpo obtenido de la yema del huevo de aves, no presente en mamíferos. Las diferencias estructurales y de purificación con respecto a la IgG de mamíferos hacen de la IgY un anticuerpo con mayores beneficios para la realización de ensayos con fines diagnósticos.

Objetivo

El objetivo de esta revisión es exponer las aplicaciones experimentales de la IgY en el diagnóstico de enfermedades humanas con el fin de incentivar el interés científico y promover la investigación y desarrollo de métodos que mejoren y faciliten el diagnóstico. Las ventajas del uso de IgY en diagnóstico con respecto al uso de IgG son: la extracción fácil mediante métodos no invasivos, el bajo costo, la presencia de altas concentraciones en la yema, la ausencia de reacciones cruzadas con factores reumatoideos y la no activación del complemento en mamíferos. Con base en esto se han desarrollado distintos ensayos inmunológicos dirigidos al diagnóstico de infecciones por patógenos como: *Trypanosoma cruzi*, *Giardia duodenalis*, *Salmonella enterica*, virus de la Hepatitis A, *Leptospira* spp., virus del Papiloma 16, SARS-CoV, *Escherichia coli* O157:H7 y enteropatógena, *Echinococcus* spp. y *Toxoplasma gondii*; enfermedades como: cáncer de mama y talasemia; y detección de biomarcadores y otras moléculas como: proteína C reactiva y morfina en orina.

Conclusión

La utilidad de la IgY en el diagnóstico de enfermedades humanas es variada y representa una fuente más económica y práctica para llevar a cabo estos procesos, por lo que deben continuarse los estudios con este anticuerpo para el logro de nuevos avances en profilaxis, diagnóstico y tratamiento.

Palabras clave: inmunoglobulina Y (IgY), diagnóstico.

¹Escuela de Medicina “José María Vargas”, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

²Laboratorio de Inmunología de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Del Instituto de Biomedicina. Dirección: San Nicolás a Providencia, San José, 4043, 1010-Caracas. E-mail: zaraujogarcia@yahoo.com

Recibido: 10/10/12.

Aceptado: 10/01/14.

Publicado: 02/06/14.

INTRODUCCIÓN

La Inmunoglobulina Y (IgY) es un anticuerpo presente en aves. En estos animales, a diferencia de los mamíferos y seres humanos, sólo se presentan 3 tipos de inmunoglobulinas: la Inmunoglobulina M (IgM) y A (IgA) de características similares a las de los seres humanos, y la IgY que es la equivalente a la Inmunoglobulina G (IgG) en mamíferos [1,2]. Estas inmunoglobulinas viajan desde la sangre hasta el huevo, predominando la IgA y la IgM en la clara del huevo y la IgY en la yema. La transferencia de la IgY a la yema ocurre por un proceso activo donde los ovocitos captan mediante receptores específicos la IgY sérica. Este proceso tarda aproximadamente 5 días en realizarse (Figura 1) [1].

Muchos investigadores han desarrollado modelos de extracción de anticuerpos monoclonales y policlonales de IgY a partir de la yema del huevo con el fin de utilizarlos para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, no sólo humanas sino también animales [1,2]. Los primeros experimentos donde se utilizó la IgY fueron realizados en el año 1893 por Klemperer. Se inocularon ratones con anticuerpos IgY extraídos de la yema del huevo de gallinas que fueron previamente inmunizadas con toxinas de *Clostridium tetani*. Los resultados mostraron, que el anticuerpo

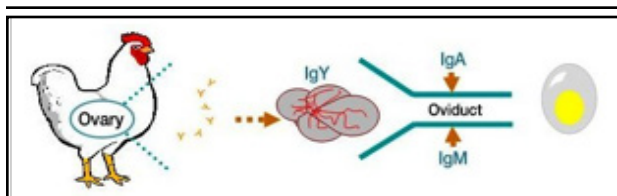


Figura 1. Transferencia de la IgY a la yema del huevo.

Fuente: Igybiotech.com [Internet]. Alberta: IgY Inc. Disponible en: <http://www.igybiotech.com/IgYOVerview/tabid/75/Default.aspx>

ejercía un efecto protector en ratones contra futuras infecciones por *C. tetani* [1]. No fue sino hasta el año 1979 con el crecimiento de la avicultura industrial que estos resultados tomaron importancia debido a la facilidad de obtención de gran cantidad de anticuerpos sin requerir métodos invasivos [1,2].

Actualmente existen kits comerciales creados para realizar una fácil extracción de los anticuerpos de IgY a partir de huevos de gallina [3]. Esto ha beneficiado el estudio de la IgY, por lo que ha sido posible conocer su estructura química, propiedades y aplicaciones en distintos ámbitos [1,2].

El objetivo de esta revisión consiste en exponer las aplicaciones a nivel experimental de la IgY que se han llevado a cabo para el diagnóstico de enfermedades humanas, con el fin de incentivar el interés científico a través de las ventajas que ofrece el uso de esta inmunoglobulina y de promover la investigación y el desarrollo de nuevos métodos que mejoren y faciliten el diagnóstico.

Inmunoglobulina Y

La estructura molecular de la IgY es similar a la de los mamíferos, presentando dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas que contienen dominios constantes y variables. La cadena pesada de la IgY está compuesta por 4 regiones constantes y una variable por lo que su peso molecular es mayor que el de la IgG, ya que esta última sólo presenta 3 regiones constantes (Figura 2) [1,2].

La utilización de los anticuerpos IgY adquiere gran relevancia debido a que:

1. Se pueden obtener de manera no invasiva a partir de la yema de huevo grandes cantidades de la inmunoglobulina en comparación con la IgG extraída de conejo. Esto es de utilidad ya que reduce el número de animales necesarios para obtener una determinada cantidad de anticuerpos, además de que no atenta contra la vida del

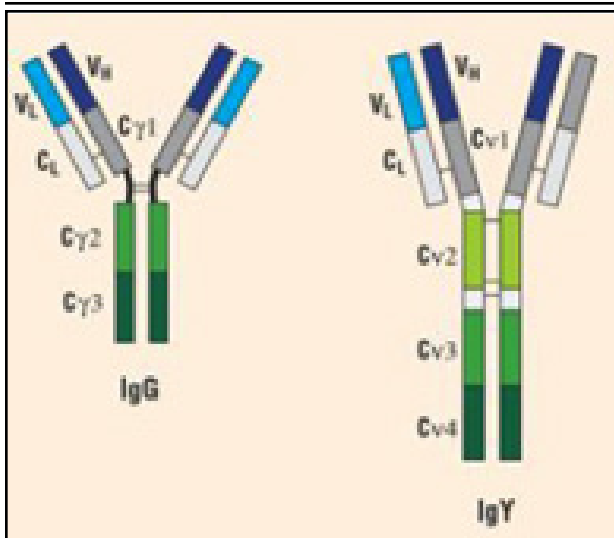


Figura 2. Estructura molecular de la IgG vs IgY.

Fuente: Chiou V. Duck antibodies for IVD applications: a naturally existing analog to mammalian antibodies offers an alternative with broad applications. IVD Technology 2002.

Disponible en: <http://www.ivdtechnology.com/article/naturally-existing-analog-mammalian-antibodies-offers-alternative-broad-applications>.

1. animal [1,2,4].
2. No reacciona en forma cruzada con el factor reumatoideo debido a que no posee los sitios de unión en la región Fc de la cadena pesada, a diferencia de la IgG, por lo que su uso contribuye a reducir los falsos positivos en la medición de algunos reactantes de fase aguda como la proteína C reactiva [1,2,4].
3. No activan el sistema del complemento en mamíferos [1,2,4].
4. Son más específicos que los anticuerpos IgG para reconocer proteínas humanas, lo cual se debe la mayor distancia filogenética entre aves y humanos [1,2,4].
5. Su purificación es simple y no es costosa [1,2,4].

El proceso de obtención de anticuerpos IgY consta de dos fases: 1. inmunización y 2. extracción y purificación [1-4]. En la fase de

inmunización se inocula a la gallina con el antígeno que se desea estudiar, tomando en cuenta que debe administrarse en combinación con adyuvante completo o incompleto de Freund. Se deben repetir las inmunizaciones en días sucesivos (Por ejemplo: a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 días) y posteriormente recolectar los huevos en diferentes días [4].

Para la extracción y purificación existen diversos métodos que se adaptan a los requerimientos de la investigación, sin embargo, esta fase se basa en 4 principios: remoción total de la albúmina, separación de la membrana de la yema, extracción de lipoproteínas y lípidos (usando un detergente o solvente orgánico como cloroformo) y purificación de la IgY [2]. Para la fase final de purificación existen distintos métodos como precipitación con sulfato de amonio o polietilenglicol y técnicas de cromatografía de afinidad, entre otras [2].

Uno de los kit comerciales de extracción de la IgY describe los siguientes pasos (Figura 3) [3]:

1. Separación de la clara de la yema del huevo (remoción de la albúmina).
2. Mezclado de la yema con un reactivo deslipidante e incubación por dos horas a 4°C (extracción de lipoproteínas y lípidos).
3. Centrifugación de la muestra a 4°C por 15 minutos a 4000x g.
4. Mezclado en iguales cantidades del reactivo precipitante con el sobrenadante que quedó de la centrifugación (purificación de la IgY).
5. Centrifugación a 4°C por 15 minutos a 4000x g descartando el sobrenadante.
6. El precipitado se suspende en PbS en un volumen igual al original de la yema de huevo.

Obteniendo de esta forma una concentración de 4 a 7 mg/ml con una pureza del 90% o superior. La concentración de IgY en la yema de huevo es variable [1,4] y oscila entre 10 y 20



Figura 3. Proceso de obtención y purificación de la IgY.

Fuente: Adaptado de Gallusimmunotech.com [Internet]. North Carolina: Gallus immunotech Inc. Disponible en: <http://www.gallusimmunotech.com/IgY-Purification-Kit-Instructions>

mg/ml, lo que permite extraer hasta 200 mg por yema [4].

Una vez obtenidos los extractos de IgY, se pueden utilizar en distintos experimentos dirigidos hacia la detección del antígeno específico en muestras determinadas empleando técnicas como Western blot o Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA). Bajo estos principios, numerosos investigadores han desarrollado diferentes protocolos con el fin de estudiar la IgY como un anticuerpo capaz de sustituir la IgG para el diagnóstico de patologías humanas. Algunas utilidades de la IgY en el diagnóstico y en la detección de biomarcadores y otras moléculas

se describen a continuación.

IgY en el diagnóstico de infecciones por patógenos

Trypanosoma cruzi

En el diagnóstico de *Trypanosoma cruzi*, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda realizar pruebas inmunológicas principalmente para la fase crónica. Por carecer de pruebas que tengan un 100% de especificidad y sensibilidad, la OMS propone el empleo de tres métodos inmunológicos para el diagnóstico confirmatorio, dentro de los que se encuentran la hemaglutinación indirecta [HAI], inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA. Las posibilidades de falsos positivos se incrementan debido a la presencia de reacciones cruzadas de *T. cruzi* con otros parásitos como *Leishmania* spp. y *Trypanosoma rangeli*, por lo que para el diagnóstico definitivo se necesitan que sean positivas al menos dos de las tres pruebas [5].

Estudios realizados en el Laboratorio de Protozoología de la Universidad de Carabobo en Venezuela, muestran la producción de anticuerpos IgY en gallinas posterior a la inmunización con epimastigotes de *T. cruzi*. Se compararon varias pruebas de purificación de IgY, cuyo mejor resultado se obtuvo con aquella que consistía en la emulsificación de lípidos con cloroformo y precipitación de IgY con polietilenglicol. Utilizando la técnica de ELISA, se encontró que, se requería de 7 ng de IgY por cada 1 µg de antígeno. Posteriormente, emplearon la técnica de Western blot para evaluar la reactividad de la IgY en presencia de antígenos de epimastigotes de *T. cruzi* encontrando, que una cantidad de 5 µg/ml de IgY poseían 11 antígenos diferentes en 8 µg de proteína total de epimastigotes [4].

Estos resultados muestran que efectivamente se pueden obtener anticuerpos IgY anti-*T. cruzi* y que en un futuro podrían sustituirse a los anticuerpos IgG utilizados en los métodos

convencionales de diagnóstico de *T. cruzi*, con el fin de disminuir la reactividad cruzada y superar la especificidad de las pruebas actuales.

Giardia duodenalis

La giardiosis es una infección intestinal causada por *Giardia duodenalis* (*Giardia lamblia* o *intestinalis*). El diagnóstico de esta enfermedad se realiza tradicionalmente visualizando quistes o trofozoítos del parásito en materia fecal [6]. Sin embargo, sensibilidades mayores a 85% para la detección del parásito por examen de heces al fresco raramente se logra, debido a que la excreción de quistes es variable; en algunos pacientes es constante mientras en otros pueden pasar largos períodos con la infección pero sin excretar tantos quistes. En este caso, es necesario repetir el estudio de heces, hacer un aspirado duodenal o una biopsia del intestino delgado [6,7].

Una alternativa para establecer la presencia de *G. duodenalis* es la detección de antígenos del parásito en heces mediante anticuerpos policlonales anti-*G. duodenalis* [6,8]. Actualmente, existen kits de detección de antígenos para utilizarlos en pruebas de ELISA con una sensibilidad que varía entre 85% a 98% y una especificidad entre 90% a 100% en los cuales se emplean anticuerpos IgG de conejos inmunizados [8].

También, ha sido reportado la producción de anticuerpos policlonales IgY para el diagnóstico de aislamientos provenientes de población colombiana, de *G. duodenalis* con el fin de obtener anticuerpos en gran cantidad con técnicas menos invasivas, mediante el uso de huevos de gallina. Los investigadores desarrollaron un experimento en el que inmunizaron tres gallinas vía intramuscular con trofozoítos del parásito, cuyas inmunizaciones se realizaron a los 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 días. Luego en cada etapa recogieron los huevos de la inmunización y purificaron la IgY por deslipidación y precipitación por medio de cinco protocolos diferentes. Seguidamente,

realizaron la evaluación inmunoquímica de la IgY anti-*G. duodenalis* mediante inmunodifusión, contraelectroforesis y Western blot [7].

De los 5 protocolos desarrollados, el más sensible al antígeno de *G. duodenalis* fue el protocolo que empleaba dextrán sulfato/cloruro de calcio en la deslipidación y de sulfato de amonio en la precipitación, obteniendo títulos de anticuerpos de hasta 1:32. Los autores sugirieron que la IgY anti-*Giardia* puede emplearse para la realización de inmunoensayos que identifiquen antígenos del parásito en muestras de heces humanas o de animales infectados experimentalmente [8].

Salmonella enterica

El género *Salmonella* spp. incluye a un grupo de bacilos gram negativos que incluye dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Dentro de la especie *S. enterica* existen varios serotipos de los cuales algunos de los más importantes, que causan la mayor parte de las patologías en humanos son *Typhi*, *Typhimurium*, *Paratyphi* y *Enteritidis* [9]. Diversos estudios han demostrado la capacidad de la IgY para detectar antígenos de *S. enterica*, principalmente *serovariedad Enteritidis* y otros, investigadores han encontrado la forma de inhibir in vitro el crecimiento de *Salmonella* spp. y de utilizar estos anticuerpos en la prevención de la colonización de esta bacteria en aves [10-14].

En una de estas investigaciones, se utilizó la IgY de huevos de gallina para aglutinar estos anticuerpos con antígenos de *S. enterica serovar Enteritidis* [14]. Los investigadores tomaron dos grupos de 6 gallinas; un primer grupo (V) se vacunó con dos dosis de una bacteriana contra *S. enterica serovari Enteritidis*, mientras el segundo grupo “testigo” (T) no se vacunó. Una vez purificados estos anticuerpos IgY anti-*Salmonella* se observó la reacción por aglutinación somática y flagelar, entre estos y 357 cepas de *S. enterica*, 10 cepas de diferentes especies de la familia *Enterobacteriaceae* y dos

cepas de la familia *Vibrionaceae*. Los extractos T fueron negativos para todas las cepas y especies; sin embargo, uno de los extractos del grupo V aglutinó a diversas cepas de *Salmonella* con estructura antigénica similar a la cepa vacunal, siendo negativo estos extractos con aquellas salmonelas con antígenos diferentes y otras especies de la familia *Enterobacteriaceae* y *Vibrionaceae*. Los autores sugirieron que la IgY puede ser empleada para identificar serovariedades de *S. enterica* [14].

Aunque el cultivo es el método diagnóstico tradicional para la identificación y aislamiento de *Salmonella* spp. [11], la confirmación de estas colonias requiere de tiempo y de la utilización de pruebas bioquímicas donde finalmente la mayoría de ellas no resultan ser salmonelas, sino otros géneros relacionados, como *Proteus* o *Citrobacter* [15], por lo que podría evaluarse la posibilidad de realizar inmunoensayos de detección de antígenos en muestras de heces o sangre, en busca de aligerar el proceso de diagnóstico y de crear métodos precisos que caractericen los aislamientos de salmonela hasta el nivel de serovariedad, cobrando importancia de esta forma, el empleo experimental de la IgY [14,15].

Por otro lado, la IgY no sólo serviría como un complemento en el diagnóstico de salmonela en humanos, sino también en aves [10-12], en las cuales, no sólo este anticuerpo ha sido estudiado para el diagnóstico, sino que además se ha investigado sobre la capacidad de la IgY para inhibir el crecimiento *in vitro* de *S. enterica* serovar *Enteritidis* y *Typhimurium* [10-12], así como sobre la ingestión en aves de un preparado con IgY específica junto con probióticos, en los que se encontró que la IgY reducía la colonización por *S. enteritidis* [13]. Esto último es de relevancia ya que representa un punto clave que permitiría disminuir la tasa de transmisión de la enfermedad desde el reservorio hacia los humanos por la ingesta de alimentos contaminados [10-13].

Escherichia coli

Escherichia coli O157:H7 es un serotipo conocido de *E. coli* enterohemorrágica, productora de gastroenteritis en el hombre mediante la liberación de numerosas toxinas que lesionan la mucosa intestinal. Esta variedad de la bacteria fue detectada por primera vez en una intoxicación por hamburguesas en Estados Unidos, en el año 1982. Se caracteriza porque puede sobrevivir en ambientes ácidos que suelen ser lesivos para otros patógenos, como el de los alimentos fermentados, y además el tiempo de supervivencia a temperaturas de refrigeración es mayor que a temperatura ambiente [16]. La enfermedad se transmite por la ingestión de carnes de vaca poco cocidas y en se ha documentado la transmisión mediante la ingestión de leche de vaca no procesada. [16,17]. A nivel mundial, estas infecciones se han hecho más características y relevantes en América del Norte, Europa y la región meridional de América del Sur [16].

Para el aislamiento, identificación y caracterización de serovariedades de *E. coli* se utilizan métodos tradicionales, *in vivo* e *in vitro* y de biología molecular. El aislamiento tradicional consiste en la toma directa de la bacteria en la materia fecal, para luego sembrarla en un medio de Agar Mc Conkey [17]. Los métodos de cultivo empleados para la detección de *E. coli* O157:H7 suelen ser laboriosos; generalmente incluyen un pre-enriquecimiento, seguido por un enriquecimiento selectivo y confirmación bioquímica, lo cual puede tomar días o semanas y además los microorganismos aislados necesitan ser confirmados serológicamente con antisueros O157 y H7 [18].

La identificación de las cepas se hace mediante pruebas bioquímicas en medios como Triple Sugar Iron, Lysine Iron Agar, Motility Indole Ornithine, citrato, sorbitol, mucato, urea, rojo de metilo, malonato y caldo manitol-rojo de fenol. Además, puede reconocerse la cepa O157:H7 por medio de serotipificación, producción

de toxinas, por cuantificación de anticuerpos contra el lipopolisacárido de la pared y por la demostración de factores de virulencia como p0157 [17].

Un estudio en la Universidad de Alberta en Canadá implementó un nuevo método de detección rápido, sensible y específico para el aislamiento de la bacteria, además de barato y fiable. Por medio de un ELISA sándwich se detectaron antígenos de *E. coli* O157:H7 usando anticuerpos tipo IgY de gallina. Estos anticuerpos IgY se obtuvieron a partir de huevos de gallinas inmunizadas con la cepa *E. coli* O157:H7 y se purificaron mediante métodos de dilución en agua y cromatografía con gel de Sephacryl S-300. Los resultados obtenidos indicaron que por medio de ELISA de captura se pueden detectar cantidades tan bajas como 40 UFC/ml de *E. coli* O157: H7 [19].

En el caso de *E. coli* O157:H7 no sólo se ha demostrado que la IgY puede ser utilizada para detectar antígenos de esta bacteria sino que además se ha afirma la función antibacteriana de la IgY parece ser producto de su interacción con ciertos componentes de la superficie de la bacteria [20].

Otra de las cepas estudiadas para su detección utilizando IgY es *E. coli* enteropatógena específicamente su antígeno BfpA [21]. *E. coli* enteropatógena es uno de los principales organismos responsables de diarrea infantil en países en vías de desarrollo, caracterizada por evacuaciones acuosas y en algunos casos vómitos y fiebre. Patogenéticamente, la bacteria debe unirse al epitelio intestinal para generar daño y esto se realiza por medio de la unión de fimbrias denominadas BfpA, cuya biogénesis requiere 14 genes codificados en el plásmido de virulencia denominado factor de adherencia o EAF, que permiten la formación de microcolonias [22].

Actualmente para el diagnóstico, la bacteria se aísla de muestras de heces en medios selectivos

y diferenciales como Agar Mc Conkey o de Eosina Azul de Metileno. En casos de sospechas de *E. coli* enteropatógena es necesario técnicas más especializadas, ya que se debe diferenciar desde el punto de vista bioquímico la bacteria aislada porque las distintas serovariedades son indistinguibles entre sí a simple vista. Para ello se utiliza serotipificación, ensayo de adherencia con células HEp-2, prueba de FAS (tinción fluorescente para actina) y técnicas de biología molecular que amplifican genes que codifican a proteínas de virulencia como reacción en cadena de la polimerasa y sondas genéticas, alcanzando en algunos casos especificidades de hasta 100% [22].

Se ha reportado una alternativa en diagnóstico con la utilización de subunidades recombinantes de BfpA que fueron inoculadas a gallinas, produciendo títulos elevados de anticuerpos en los huevos, de tipo IgY. Estos anticuerpos fueron capaces de reconocer proteínas purificadas o recombinantes de BfpA, bloquear la colonización celular in vitro por *E. coli* enteropatógena EAF+, identificar de manera específica *E. coli* enteropatógena EAF+ en heces e inhibir in vitro el crecimiento de *E. coli* EAF+. Es por esto que los autores sugieren, que la IgY anti-BfpA es potencialmente útil como un reactivo específico y de bajo costo inmunobiológico para el despistaje de *E. coli* enteropatógena en heces humanas [21].

Toxoplasma gondii

La toxoplasmosis es causada por la infección con *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular obligado, que puede encontrarse en casi todo el mundo, a excepción de la Antártida y produce una amplia variedad de síndromes clínicos en seres humanos [23].

T. gondii infecta a una gran proporción de la población mundial, pero poco frecuente causa una enfermedad clínicamente significativa, ya que en inmunocompetentes se desarrolla una infección latente. Algunas personas sin embargo, corren un alto riesgo de desarrollar

toxoplasmosis grave o potencialmente mortal, tales como los fetos, recién nacidos y pacientes inmunodeprimidos. De aquí deriva la importancia de un diagnóstico certero y fidedigno de la infección, ya que además, esta enfermedad es reconocida como una causa importante de morbilidad neurológica y de mortalidad entre los pacientes con enfermedad avanzada por el virus de inmunodeficiencia humana. Al igual que otros patógenos oportunistas, *T. gondii* causa infecciones asintomáticas o levemente sintomáticas en huéspedes sanos, pero rápidamente progresivas y mortales en pacientes inmunodeprimidos [23].

El diagnóstico de la infección se realiza mediante numerosas pruebas que incluyen métodos biológicos, serológicos, histológicos y moleculares [24]. Puede hacerse por medio de la demostración del parásito en sangre, fluidos corporales o tejidos, sobre todo en fase aguda aunque generalmente el diagnóstico se basa en la detección de anticuerpos de *T. gondii* en pacientes [23].

Existen múltiples procedimientos serológicos para la detección de anticuerpos, los cuales incluyen la prueba de Sabin-Feldman, la hemaglutinación indirecta, la inmunofluorescencia indirecta (IFI), la aglutinación directa, la prueba de aglutinación del látex, ELISA y la avidéz de IgG. IFI y ELISA se han modificado para detectar la IgM [25,26]; esta inmunoglobulina aparece poco después de la infección, antes que los anticuerpos IgG y desaparecen más rápido que los mismos después de la recuperación [24,25]. La prueba de Sabin y Feldman es altamente específica y sensible para medir anticuerpos de IgG, pero presenta dificultades técnicas y debido a que requiere de parásitos vivos, limitando su empleo a un reducido número de laboratorios especializados [27]. En contraparte, el método de ELISA presenta diversas ventajas sobre las otras pruebas como lo son: el hecho de que

se pueden analizar cantidades de muestras en forma simultánea utilizando equipos simples, posee alta sensibilidad y especificidad lo que la hace una prueba más confiable y detecta tanto infecciones recientes como latentes de toxoplasmosis, mediante la determinación simultánea de anticuerpos IgM e IgG [28].

Hassl et al (1985), con el objetivo de purificar anticuerpos específicos contra el parásito para usarlos en pruebas de ELISA, obtuvieron anticuerpos IgY específicos contra *T. gondii*. En el estudio, se comparó la extracción y purificación de IgY mediante tres métodos: medición de proteínas, filtración de gel e isoelectroenfoque, siendo la técnica más efectiva la filtración en gel que empleaba precipitación con polietilenglicol seguido de un tratamiento con alcohol. Los tres métodos comparados produjeron la misma cantidad de anticuerpos, pero la purificación no fue igual. La especificidad de los anticuerpos de yema se evaluó mediante un ensayo de hemaglutinación indirecta, una prueba de inmunodifusión e inmunoelectroforesis. Se comparó con la especificidad de anticuerpos IgG obtenidos de sueros de conejos hiperinmunizados y se encontraron diferencias en los patrones de precipitación de los anticuerpos IgY e IgG, siendo más específica la IgY [29].

Este experimento describe una forma conveniente y económica para la producción de anticuerpos específicos contra *T. gondii*. Los investigadores concluyeron que la especificidad de la IgY con respecto a la IgG puede ser distinta y alterar la confiabilidad de las pruebas serológicas, por lo que una condición esencial para que se reemplace el uso de anticuerpos IgG debería ser la inmunización de gallinas con antígeno del parásito circulante en sueros de pacientes infectados [29]. Otros investigadores lograron aislar también anticuerpos IgY específicos anti-*T. gondii* mediante el método de ELISA apoyando esto los resultados mostrados por Hassl [30].

Otros patógenos

Otros trabajos publicados con respecto a las aplicaciones de la IgY en el diagnóstico de patógenos se refieren a la detección del coronavirus causante del Síndrome Respiratorio Agudo (SARS-CoV), detección del virus del papiloma 16 tipo L1, detección de *Leptospira* spp., *Echinococcus* spp., y virus de la hepatitis A, entre otros [31-35].

IgY en el diagnóstico de enfermedades

Cáncer de mama

Investigadores del National Institute of Standards and Technology (NIST) en compañía del National Cancer Institute (NCI) y científicos de la firma SAIC en Estados Unidos, desarrollaron un nuevo método, utilizando IgY de gallina, para la detección de una forma agresiva de cáncer de mama que se acompaña con sobreproducción de proteínas HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) [36,37]. El oncogen HER2 codifica una proteína transmembrana de su mismo nombre, con actividad de tirosin-quinasa y cuya porción extracelular es capaz de interactuar con factores de crecimiento. La sobreexpresión de esta proteína genera un aumento en el número de mitosis de las células cancerígenas por lo que le confiere mayor agresividad [38].

El tratamiento de este tipo de cáncer de mama es específico y difiere de aquellos pacientes que no presentan una sobreproducción de esta proteína, además de que se caracteriza porque genera grandes efectos secundarios, en especial a nivel cardiovascular. Por ende, surge la necesidad de detectar las altas concentraciones de la proteína HER2 con el fin de esclarecer qué tipo de cáncer de mama presentan los pacientes [39].

Las pruebas utilizadas actualmente para la detección de esta proteína con anticuerpos IgG de mamíferos pueden ocasionar falsos positivos, por lo que los investigadores del

NIST en busca de soluciones a este problema, estudiaron la reactividad de la IgY ante la proteína HER2 por medio de Western Blot e inmunohistoquímica utilizando en vez de los marcadores fluorescentes convencionales un sistema de marcaje por puntos cuánticos. El estudio demostró que la sensibilidad de la IgY era un 40-50% mayor que la que presentaban los anticuerpos de mamíferos utilizados en las pruebas convencionales, ya que no reaccionaban con otras proteínas humanas que pudiesen dar falsos positivos [36,37].

Otra de las ventajas de utilizar este sistema de detección, es la capacidad de producir con rapidez y a gran escala estos anticuerpos y el marcaje más fidedigno a través de puntos cuánticos que a diferencia de los otros colorantes fluorescentes que han sido empleados, no pierden su color con el tiempo cuando se hacen las preparaciones inmunohistoquímicas. Actualmente, los investigadores del NIST se encuentran desarrollando un material de referencia para estandarizar esta prueba [36,37].

Talasemia

Las talasemias son un grupo de enfermedades caracterizadas por la alteración de la síntesis de una o más cadenas de globina de la hemoglobina (Hb). Las consecuencias hematológicas que esto conlleva consisten en hipocromía del glóbulo rojo y exceso relativo de la cadena desapareada, capaz de generar inclusiones intracelulares dentro de los hematíes que favorece la destrucción celular [40]. Dependiendo de la cantidad de genes afectados, se tienen distintas manifestaciones fenotípicas. En el caso de la supresión funcional de ambos pares de genes que codifican para las cadenas alfa de Hb, se desarrolla hidrops fetal o Hb de Bart, condición incompatible con la vida extrauterina [41].

Actualmente el diagnóstico se realiza por medio de niveles de Hb, conteo de reticulocitos, volumen corpuscular medio (VCM),

concentración de hemoglobina media (HCM), examen de sangre periférica y electroforesis de Hb, además de pruebas genéticas como ADN recombinante, reacción en cadena de la polimerasa y anticuerpos monoclonales [41].

En estudios realizados por científicos del Department of Biochemistry, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University en Tailandia, se utilizó la IgY para el diagnóstico de talasemia por medio de ELISA. En un inicio, se tomó el hemolizado purificado de un paciente con Hb de Bart o alfa-talasemia y fue utilizado para inmunizar a gallinas a las que posteriormente se le extrajo IgY de sus huevos. El anticuerpo IgY producido reaccionó con la cadena gamma de la globina, Hb de Bart, Hb F, con hemolizado normal de cordón y con Hb de Bart hidrops fetalis (Hb Bart más Portland) y en menor grado con la globina beta, la Hb A, Hb A2 y hemolizado en adultos, siendo negativo para la globina alfa. Posteriormente, estos investigadores purificaron aún más la IgY por cromatografía por afinidad utilizando CNBr-Sefarosa unida a Hb A, de la cual se obtuvo una IgY que reaccionaba sólo con Hb de Bart, Hb F y cadenas gamma de la globina, siendo negativa para Hb A y Hb A2. [42,43]. Los resultados mostraron que, de las 336 muestras de hemolizados de individuos con diferentes genotipos y fenotipos de talasemia y de individuos sanos, se encontró alta reactividad contra Hb F y Hb de Bart y baja contra los normales; confirmando de esta forma, la especificidad de la IgY obtenida ante la Hb F y Hb de Bart [42].

Otros investigadores de la misma universidad probaron el uso de ELISA de captura con anticuerpos monoclonales de ratón contra Hb de Bart como anticuerpo de inmunocaptura y la IgY contra cadenas gamma de globina como anticuerpo de detección; obtuvieron para la α -talasemia una especificidad de 71% y sensibilidad de 100% y en otros tipos de talasemia, del 98% [44]. Estos estudios indican

que la IgY no sólo tiene ventajas a nivel de producción y rendimiento de anticuerpos sino es capaz de proporcionar pruebas de diagnóstico más rápidas y específicas que las convencionales [42-44].

IgY en la detección de biomarcadores y otras moléculas

Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (PCR) es sintetizada en el hígado y se eleva en forma temprana en procesos inflamatorios e infecciosos como sepsis, meningitis, pancreatitis, entre otros, por lo que funciona como un marcador de la fase inflamatoria aguda [45]. La inflamación de las arterias que se observa en las enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis o la enfermedad arterial coronaria, genera también de forma progresiva aumento en los niveles de PCR. En estos casos, es necesaria la determinación de PCR de alta sensibilidad (hs-CRP) que independientemente del nivel de lípidos y de otros biomarcadores de la inflamación, ha demostrado ser un marcador de riesgo de enfermedades cardiovasculares, que se eleva de manera precoz, aún en ausencia de síntomas o enfermedad precedente [46,47]. Sin embargo, muchas veces la determinación de PCR y de hs-CRP puede dar falsos positivos debido a que los anticuerpos usados en los métodos convencionales (IgG de mamíferos) presentan reacciones cruzadas con el factor reumatoideo, lo que conlleva a establecer en ocasiones falsos diagnósticos y tratamientos incorrectos [46,48].

Se han realizado estudios utilizando la IgY como anticuerpo en inmunoensayos para determinar PCR en sueros humanos y de conejos. Cuando en estas investigaciones comparaban el uso de IgY en relación a la IgG, se observó una mayor especificidad por parte de la IgY que eliminó el número de falsos positivos [48,49].

En relación a la determinación de hs-

PCR, ya existe actualmente un kit comercial desarrollado en Taiwán llamado CRPex-HS C-Reactive Protein LIT assay®, el cual permite la detección de concentraciones en suero de esta proteína utilizando IgY obtenida de pato. Un estudio comparativo desarrollado en el mismo país, evaluó y validó la eficacia de esta prueba, comprobándose la reducción en el número de falsos positivos que ocurren con las pruebas convencionales que utilizan anticuerpos de mamíferos [46].

Morfina en orina

La morfina es un alcaloide derivado del opio, agonista de los receptores opioides, dichos fármacos se utilizan principalmente para inducir anestesia, analgesia, tratamiento de la diarrea, de las tos crónica, del dolor isquémico miocárdico y de la disnea asociada a disfunción ventricular izquierda aguda y edema pulmonar [50]. La sobredosificación aguda con la morfina se puede manifestar en los pacientes por sudoración profusa, miosis, depresión respiratoria, somnolencia que progresa al estupor o el coma, flacidez muscular, y en algunos casos edema pulmonar, bradicardia e hipotensión hasta progresar a la muerte [50,51].

El diagnóstico de una intoxicación por morfina, en las salas de emergencia, generalmente es clínico, sin embargo es importante confirmarlo con pruebas de laboratorio y establecer diagnósticos diferenciales (toxicidad con otros fármacos, enfermedad cerebrovascular del tronco encefálico, trastornos hidroelectrolíticos, enfermedad ulceropéptica, entre otros) debido a que en base a ello se decidirá un tratamiento específico. El diagnóstico a nivel de laboratorio se hace por medición de la droga en muestras de orina principalmente a través de pruebas como: cromatografía en capa fina, la cual tiene poca sensibilidad; ELISA y radioinmunoensayos, que tienen más sensibilidad pero son menos específicos porque existen relaciones cruzadas con otras moléculas; y por cromatografía

gas-líquido y cromatografía de gas por espectrometría de masas, que son muy sensibles y específicas pero son laboriosas y costosas [51]. Un ensayo a base de tira inmunocromatográfica que utiliza anticuerpos IgY fue desarrollado para la detección rápida de morfina en muestras de orina. El anticuerpo IgY con especificidad para la morfina fue generado mediante la inmunización de gallinas con la proteína de morfina monoacetil conjugada. Se marcó el anticuerpo por nanopartículas de oro y se utilizó como inmunosonda para la detección visual de la morfina con las varillas o tiras en muestras de orina. Las tiras fueron hechas usando tres membranas: una almohadilla de aplicación hecha de fibra de vidrio, una línea de prueba que genera una señal sobre la membrana de nitrocelulosa (zona de detección) y una membrana de celulosa usada como una almohadilla de absorción [52].

Cuando se introducen las tiras dentro de la orina, en el caso de la morfina o sus análogos, se forma un complejo antígeno-anticuerpo que luego cae por el flujo causado por la acción capilar en la línea de prueba y se genera una señal de color que luego es medida por un detector. Los investigadores midieron la eficacia de esta técnica y observaron que el rango de detección de morfina era entre 1 a 1000 ng/ml, siendo el límite de detección 2,5 ng/ml. De todo esto, concluyeron que la producción de estas tiras representaría una herramienta de alta sensibilidad para la determinación rápida de opioides en orina [52].

CONCLUSIONES

La IgY ha mostrado ser útil en múltiples pruebas como: ELISA, Western blots, radioinmunoensayos, citometría de flujo, entre otros; donde estos anticuerpos provenientes de gallinas inmunizadas permiten la identificación de ciertos antígenos presentes en algunos patógenos. La variabilidad en su uso se evidencia en las pruebas experimentales que

han permitido la detección de parásitos como: *T. cruzi*, *G. duodenalis*, *T. gondii*, *Echinococcus* spp.; bacterias como: serovariedades de *S. enterica*, *E. coli* O157:H7, *E. coli* enteropatógena, *Leptospira* spp.; virus como: coronavirus-SARS, hepatitis A, virus del papiloma 16 tipo L1; moléculas y biomarcadores como: morfina y proteína C reactiva simple y de alta sensibilidad, así como de enfermedades genéticas como la talasemia y neoplásicas como el cáncer de mama.

Las ventajas del empleo de la IgY en el diagnóstico con respecto a la IgG están demostradas en la mayoría de las investigaciones realizadas, esto debido en parte a la puesta en evidencia de la mayor especificidad en el

reconocimiento de antígenos, ausencia de reacciones cruzadas con el factor reumatoideo, ausencia de reacción con el complemento de mamíferos y facilidad de extracción y purificación que aminoran los costos de mantenimiento de animales.

Finalmente, en vista de que la IgY de gallina ha mostrado tener una utilidad variada, además de ser económica su obtención, se deben continuar los estudios para evaluar su contribución en la mejora del diagnóstico de enfermedades en humanos y animales y lograr nuevos avances no sólo en esta área, sino además en la profilaxis y el tratamiento de las mismas.

Referencias bibliográficas

1. Chacana PA, Terzolo HR, Gutiérrez-Calzado E, Schade R. Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina. *Rev Med Vet* 2004;85(5):179-89
2. Alarcón C, Hurtado H, Castellanos J. Anticuerpos aviares: alternativa en producción y diagnóstico. *Biomédica* 2000;20(4):338-43.
3. Gallusimmunotech.com [Internet]. North Carolina: Gallus immunotech Inc. [citado 2011 mayo 26]. Disponible en: <http://www.gallusimmunotech.com/IgY-Purification-Kit-Instructions>
4. Contreras V, De Lima A, Navarro M, Arteaga R, Graterol D, Cabello L, et al. Producción y purificación de anticuerpos (IgY) a partir de huevos de gallinas inmunizadas con epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Salus Online* 2005; 9(2):33-44
5. World Health Organization. Control of Chagas disease. WHO Tech Rep Ser. 2nd report. 2002; 905.
6. Weller PF. Infecciones intestinales por protozoos y tricomonosis In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al, editors. *Harrison: principios de medicina interna*. 2da ed. México: Mc Graw Hill; 2009. p. 1311-13.
7. García DA, Nicholls RS, Arévalo A, Torres O, Duque S. Obtención, purificación y caracterización de anticuerpos policlonales IgY desarrollados en gallina, dirigidos contra aislamientos colombianos de *Giardia duodenalis*. *Biomédica* 2005; 25: 461-63.
8. Duque S, Nicholl RS, Arévalo A, Guerrero R, Montenegro S, James MA. Detection of *Giardia duodenalis* antigen in human fecal eluates by enzymelinked immunosorbent assay using polyclonal antibodies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97:1165-8.
9. Katime AE. Reacción de Widal - interpretación clínica. *Rev Panam Infectol* 2006; 8(2):40-4.
10. Nelson T, Sheppard K. Salmonella IgY detection. *Canadian Poultry Magazine* 2009 Abr; sec PIC update:24-5
11. Cigoy L, Chacana P, Terzolo H. Inhibición del desarrollo in vitro de *Salmonella enteritidis* mediante anticuerpos de yema de huevo (IgY). 6º Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica; 2009 Ago 14-15: Mar de Plata, Argentina.
12. Rahimi S, Shiraz ZM, Salehi TZ, Karimi Mohammad A, Grimes JL. Prevention of *Salmonella* infection in poultry by specific egg-derived antibody. *International Journal of Poultry Science* 2007;6(4):230-235.
13. Lee EN, Sunwoo HH, Menninen K, Sim JS. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Poult Sci* 2002;81(5):632-41.
14. Terzolo HR, Sandoval VE, Caffer MI, Terragno R, Alcain A. Aglutinación de inmunoglobulinas de yema de huevo de gallina (IgY) contra *Salmonella enterica* serovariedad. *Rev argent microbiol* 1998;30(2):84-92
15. Velilla A, Terzolo H, Feingold S. Avances en el diagnóstico molecular de *Salmonella*: PCR aplicada a la avicultura y a la microbiología de los alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria 2004 Abr [citado 2011 may 22]. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/otras/aves/salmonella.htm>
16. Sánchez N. *Escherichia coli* O157:H7. Aspectos generales. Reporte Técnico de Vigilancia 1997;2(9).
17. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública Méx* 2002;44(5):464-75.
18. Luigi-Sandoval T. Aplicación de la técnica de separación inmunomagnética para el aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de leche. *Rev Soc Ven Microbiol* 2004;24(1-2):50-8.
19. Sunwoo HH, Wang WW, Sim JS. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 using chicken immunoglobulin Y. *Immunol Lett* 2006;106(2):191-3.
20. Sunwoo HH, Lee EN, Menninen K, Suresh MR, Sim JS. Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Science* 2002;67(4):1486-94.
21. De Almeida CM, Quintana-Flores VM, Medina-Acosta E, Schrieffer A, Barral-Netto M, Dias da Silva W. Egg yolk anti-BfpA antibodies as a tool for recognizing and identifying enteropathogenic *Escherichia coli*. *Scand J Immunol*

- 2003;57(6):573-82.
22. Vidal JE, Canizález-Román A, Gutiérrez-Jiménez Javier, Navarro-García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud pública Méx* 2007;49(5):376-86.
 23. Hőkelek M. *Toxoplasmosis* [Internet]. New York: Medscape References; c1994-2011 [actualizado 2009 Ene 27; citado 2011 May 10]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/229969-overview>
 24. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect* 2002;8(10):634-40.
 25. Remington JS, McLeod R, Desmonts G. *Toxoplasmosis In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious disease of the fetus and newborn infant. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1995. p. 140-267.*
 26. Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* 1970;167(3919):893-6.
 27. Gómez FR. Determinación de la seroprevalencia de la toxoplasmosis en alpacas y llamas en la Estación Experimental Inia-Puno [Internet]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002 [citado 2011 May 10]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/Salud/Gomez_O_F/Rev_Lit.htm
 28. Suárez F, Andrade H, Galisteo A, Miguel O. Concordancia de las pruebas de ELISA y hemaglutinación indirecta en el diagnóstico de la Toxoplasmosis porcina. *Rev investig vet* 2002;13(1):84-6.
 29. Hassl A, Aspöck H, Flamm H. Comparative studies on the purity and specificity of yolk immunoglobulin Y isolated from eggs laid by hens immunized with *Toxoplasma gondii* antigen. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 1987;267(2):247-53.
 30. Yang T, Li S, Pan H, He S. Production and identification of chicken egg yolk antibodies against *Toxoplasma gondii*. *Chinese Journal of Zoonoses* 2001;(5).
 31. Kammila S, Das D, Bhatnagar PK, Sunwoo HH, Zayas-Zamora G, King M, et al. A rapid point of care immunoswab assay for SARS-CoV detection. *J Virol Methods* 2008;152(1-2):77-84.
 32. Yang J, Zhang MJ, Qiang L, Su BS, Wang YL, Si LS. Preparation and activity detection of chicken egg yolk IgY antibody against human papillomavirus 16 type L1 main capsid protein. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2008;28(3):324-7.
 33. Vasconcellos FA, Coutinho ML, da Silva EF, Fernandes CP, Monte LG, Seyffert N, et al. Testing different antigen capture ELISA formats for detection of *Leptospira* spp. in human blood serum. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104(4):259-64.
 34. Gottstein B, Hemmeler E. Egg yolk immunoglobulin Y as an alternative antibody in the serology of echinococcosis. *Z Parasitenkd* 1985;71(2):273-6.
 35. de Paula VS, da Silva Ados S, de Vasconcelos GA, Iff ET, Silva ME, Kappel LA, et al. Applied biotechnology for production of immunoglobulin Y specific to hepatitis A virus. *J Virol Methods* 2011;171(1):102-6.
 36. Newman M. NIST, NCI, SAIC partner on new method for detecting HER2 breast cancer. National Institute of Standards and Technology. 2008 Feb 19 [citado 2011 May 15]. Disponible en: http://www.nist.gov/public_affairs/techbeat/tb2008_0219.htm#her2
 37. Xiao Y, Gao X, Gannot G, Emmert-Buck MR, Srivastava S, Wagner PD, et al. Quantitation of HER2 and telomerase biomarkers in solid tumors with IgY antibodies and nanocrystal detection. *International Journal of Cancer* 2008;122(10):2178-86.
 38. Bargmann CI, Hung MC, Weinberg RA: The neu oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature* 1986;319(6050):226-30
 39. Herceptin.com [Internet]. California: Genentech USA, Inc.; c2011 [citado 2011 May 15]. Disponible en: <http://www.herceptin.com/>.
 40. Robbins S, Cotran R, Kumar V, Collins T. *Patología Estructural y Funcional*. 6ta ed. México: Mc Graw Hill Interamericana; 2000. p. 645.
 41. Bleibel SA, Leonard RJ, Jones-Crawford JL, Kutlar A, Hendricks LK. *Thalassemia, Alpha* [Internet]. New York: Medscape References; c1994-2011 [actualizado 2009 Ago 26; citado 2011 Abr 27]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/206397-overview#a0104>
 42. Jintaridith P, Srisomsap C, Vichittumaros K, Kalpravidh RW, Winichagoon P, Fucharoen S, Jisnuson Svasti MR, Kasinrerak W. Chicken egg yolk antibodies specific for the gamma chain of human hemoglobin for diagnosis of thalassemia. *Int J Hematol* 2006 Jun;83(5):408-14.
 43. Jintaridith P, Kalpravidh RW, Srisomsap C, Fucharoen S, Jisnuson MR, Kasinrerak M. Production of anti-hemoglobin Bart's antibody for thalassemia diagnosis from chicken egg [Internet]. Bangkok: ThaiScience; 2003 [citado 2011 Abr 27]. Disponible en: <http://www.thaiscience.info>
 44. Jintaridith P. Production of chicken IgY antibodies specific for hemoglobin gamma-chain and mouse monoclonal antibodies specific for hemoglobin Barts, for thalassemia diagnosis [Internet]. Bangkok: Mahidol University and Knowledge Center; 2005 [citado 2011 Abr 27]. Disponible en: <http://www.li.mahidol.ac.th/thesis/2548/cd386/4337489.pdf>
 45. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med* 1999;17(6):1019-25
 46. Tsen YC, Kao GY, Chang CL, Lai FY, Huang CH, Ouyang S, et al. Evaluation and validation of a duck IgY antibody-based immunoassay for high-sensitivity C-reactive protein: avian antibody application in clinical diagnostics. *Clin Chem* 2003 May;49(5):810-3.
 47. Comité Científico. Proteína C reactiva de alta sensibilidad, como prevención de enfermedades cardiovasculares [Internet]. México: Quest Diagnostics, Inc; c2000-2007 [citado 2011 May 20]. Boletín N°2. Disponible en: <http://www.questdiagnostics.com.mx/pdf/questinforma/pcr3.pdf>
 48. Rieger A, Burger W, Hiepe F, Shade R. Determination of human serum CRP using a chicken egg yolk antibody (IgY) to avoid interferences with rheumatoid factors. Comparison with mammalian antibodies. *Altex* 1996;13 Supl:57-61.
 49. Díaz L, Giralduino I, Choy K, la Rosa E, Vega F. Evaluación de anticuerpos anti-proteína C reactiva obtenidos en gallina en un ensayo de látex aglutinación. *Rev Cubana Farm* 2003;37(3):1.
 50. Martínez-Chacon JL. *Morfina-Farmacología* [Internet]. Madrid: La agenda del anestesiólogo. 1999 - [citado 2011 May 23]. Disponible en: <http://www.uam.es/departamentos/medicina/anesnet/agenda/farmacologia/morfina.htm>
 51. Preda A. Opioid abuse [Internet]. New York: Medscape References; c1994-2011 [actualizado 2011 May 17; citado 2011 May 23]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/287790-clinical#a0217>
 52. Gandhi S, Caplash N, Sharma P, Raman Suri C. Strip-based immunochromatographic assay using specific egg yolk antibodies for rapid detection of morphine in urine samples. *Biosens bioelectron* 2009;25(2):502-5.

ACE 2014; 9(1)

ACTA CIENTÍFICA ESTUDIANTIL

www.actacientificaestudiantil.com.ve

ISSN 1856-8157