



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA  
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE UNA PRUEBA ESPECÍFICA PARA EL  
DIAGNÓSTICO DEL VIRUS EPSTEIN BARR EN LÍQUIDO  
CEFALORRAQUÍDEO.

MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA  
2017



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA  
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN DE UNA PRUEBA ESPECÍFICA PARA EL  
DIAGNÓSTICO DEL VIRUS EPSTEIN BARR EN LÍQUIDO  
CEFALORRAQUÍDEO.

MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA  
2017



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA  
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

IDENTIFICACIÓN DE UNA PRUEBA ESPECÍFICA PARA EL DIAGNÓSTICO DEL  
VIRUS EPSTEIN BARR EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO.

MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

GARCIA LEDESMA SEGUNDO FRANCISCO

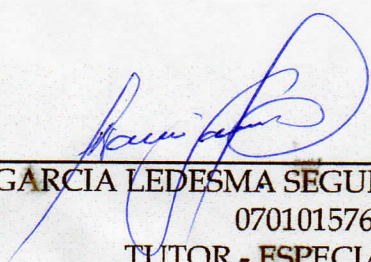
MACHALA, 23 DE AGOSTO DE 2017

MACHALA  
23 de agosto de 2017



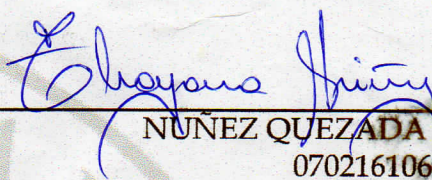
## Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado Identificación de una prueba específica para el diagnóstico del virus Epstein Barr en líquido cefalorraquídeo., hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



---

GARCIA LEDESMA SEGUNDO FRANCISCO  
0701015760  
TUTOR - ESPECIALISTA 1



---

NÚÑEZ QUEZADA THAYANA  
0702161068  
ESPECIALISTA 2



---

DAVILA DAVILA KERLY ELIZABETH  
0704186790  
ESPECIALISTA 3

Fecha de impresión: jueves 17 de agosto de 2017 - 14:22

## Urkund Analysis Result

**Analysed Document:** MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN\_PT-010517.pdf  
(D29697794)  
**Submitted:** 2017-07-20 00:51:00  
**Submitted By:** titulacion\_sv1@utmachala.edu.ec  
**Significance:** 2 %

Sources included in the report:

VIRUS DE EPSTEIN-BARR Y SU REPLICACIÓN.docx (D14947774)

Instances where selected sources appear:

2



## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Identificación de una prueba específica para el diagnóstico del virus Epstein Barr en líquido cefalorraquídeo., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

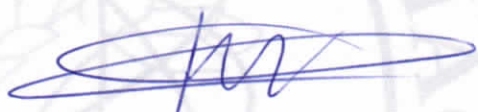
El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 23 de agosto de 2017



MOYANO JIMENEZ ALFONSO DAMIAN  
1207559129

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo primeramente a mi Dios que me ha dado la fortaleza para continuar de pie en esta lucha por alcanzar un logro de tercer nivel, a mi familia que es mi motivación para seguir adelante y por último a mi que me he parado firme ante cualquier situación superando mis límites y adversidades para así no decepcionar a nadie y demostrarle a mi familia lo que soy.

## **Agradecimiento**

Agradezco primeramente a mi Dios por guiarme y darme fortaleza para seguir adelante, a mis padres por su esfuerzo generado hacia mi durante esta etapa, y a las autoridades que conforman a la Universidad Técnica de Machala que nos han brindado todos los recursos necesarios para poder desarrollar estrategias y procedimientos útiles para aplicarlos en la vida profesional.



## Resumen

**Introducción:** Numerosas infecciones causadas por virus de la familia herpesviridae son de alta prevalencia, dentro de ellos se destaca el virus Epstein Barr como el principal causante de un síndrome conocido como mononucleosis infecciosa en alrededor del 95% de la población adulta, siendo el hombre el único reservorio de este virus. En el presente documento nos hemos planteado como **Objetivo:** Identificar una prueba específica para el diagnóstico del virus Epstein Barr en líquido cefalorraquídeo; En cuyo **Desarrollo** se efectuó una revisión en numerosos artículos de la web y libros con el fin de identificar una prueba eficaz en el diagnóstico del virus Epstein Barr, en el cual se comparó las pruebas más comunes en el diagnóstico analizando de acuerdo a la sensibilidad y especificidad la prueba de elección para su diagnóstico en líquido cefalorraquídeo; llegando a la **Conclusión** de que el diagnóstico más factible del VEB en líquido cefalorraquídeo debe ser realizado mediante PCR ya que esta prueba me permite detectar y cuantificar los genomas que caracterizan al virus, evitando así que el analista se confunda con los diferentes virus que se pueden determinar cualitativamente en serología.

**Palabras clave:** Epstein Barr, Mononucleosis Infecciosa, Líquido Cefalorraquídeo, PCR, Herpesviridae.

## Summary

**Introduction:** Numerous infections caused by viruses of the herpesviridae family are of high prevalence, within them the Epstein Barr virus stands out as the main cause of a syndrome known as infectious mononucleosis in about 95% of the adult population, being the man the only reservoir of this virus. In this document we have considered as **Objective:** Identify a specific test for the diagnosis of Epstein Barr virus in cerebrospinal fluid; In whose **development** a review was carried out in numerous articles of the web and books in order to identify an effective test in the diagnosis of Epstein Barr virus, In which the most common tests in the diagnosis were compared by analyzing according to the sensitivity and specificity the test of choice for diagnosis in cerebrospinal fluid; Reaching the **conclusion** that the most feasible diagnosis of EBV in cerebrospinal fluid should be performed by PCR since this test allows me to detect and quantify the genomes that characterize the virus, Thus preventing the analyst from being confused with the different viruses that can be determined qualitatively in serology.

**Key words:** Epstein Barr, Infectious Mononucleosis, Fluid Cefalorraquídeo, PCR, Herpesviridae.

## Índice

<b>Introducción.....</b>	<b>pág.5</b>
<b>Problema.....</b>	<b>pág.6</b>
<b>1)Marco Teórico.....</b>	<b>pág.6</b>
<b>1.1)Mononucleosis infecciosa (MI).....</b>	<b>pág.6</b>
<b>1.1.1) Generalidades.....</b>	<b>pág.6</b>
<b>1.1.2) Epidemiología.....</b>	<b>pág.6</b>
<b>1.2) Virus Epstein Barr.....</b>	<b>pág.7</b>
<b>1.2.1) Estructura y genoma.....</b>	<b>pág.7</b>
<b>1.2.2) Mecanismo de transmisión.....</b>	<b>pág.7</b>
<b>1.2.3) Periodo de incubación.....</b>	<b>pág.7</b>
<b>1.3) Diagnóstico de mononucleosis infecciosa producida por VEB.....</b>	<b>pág.8</b>
<b>1.3.1) Anticuerpos heterófilos (Paul Bunnell).....</b>	<b>pág.8</b>
<b>1.3.2) Anticuerpos IgG e IgM frente a VCA (virus capside antigen) mediante ELISA.....</b>	<b>pág.9</b>
<b>1.3.3) Anticuerpos IgM frente a VCA mediante inmunofluorescencia.....</b>	<b>pág.10</b>
<b>1.3.4) Detección del DNA del virus mediante PCR.....</b>	<b>pág.11</b>
<b>2) Resultados.....</b>	<b>pág.12</b>
<b>3)Conclusión.....</b>	<b>pág.13</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>pág.14-15</b>

## Introducción

Numerosas infecciones causadas por virus de la familia Herpesviridae son de alta prevalencia a nivel mundial, estos virus se caracterizan biológicamente por su capacidad de producir latencia permanente después de haber causado una infección primaria con periodos alternativos de reproducción (5).

El virus Epstein Barr (VEB) pertenece al virus del herpes tipo 4, es capaz de infectar a alrededor del 95% de la población adulta. Este virus es el principal causante de un síndrome conocido como mononucleosis infecciosa (MI), hasta la actualidad se conoce que el hombre es el único reservorio de ese virus (4).

Según Cocho P, (2014) la vía de transmisión más frecuente del VEB es mediante el contacto con secreciones orales, menos frecuente por contacto sanguíneo y la transmisión por vía genital aún no se ha comprobado.

Tal como se recalca en el párrafo anterior, el VEB su transmisión más común y directa es por secreciones orales. Aunque el virus no sobrevive mucho tiempo fuera de las secreciones; Es mediante los besos de una persona infectada a una persona sana su transmisión, motivo por el cual se la denomina a la mononucleosis infecciosa como la “enfermedad del beso” (9).

El VEB inicia su etapa infectando células del compartimiento oral, empezando con las células epiteliales y los linfocitos B del tejido linfoide; los cuales son encargados de la diseminación del virus por todo el sistema reticuloendotelial. Esta diseminación de VEB se prolonga un periodo de alrededor 6 meses tras la infección aguda (4).

La mononucleosis infecciosa (MI), es un síndrome común en jóvenes presentándose con sintomatología de fiebre, fatiga, linfadenopatías, odinofagia, exudados faríngeos (5).

Se dice que el término de mononucleosis infecciosa se lo introdujo en 1920 por Sprunts y Evans cuando descubrieron que dicha patología se caracterizaba por fiebre, linfadenomegalias, aumento de linfocitos, y fatiga; luego en 1932 Paul y Bunnell, descubrieron que se producía una aglutinación entre los eritrocitos de cordero y el suero de pacientes con mononucleosis infecciosa, siendo los eritrocitos de cordero los anticuerpos heterófilos (AH) que brindarían la detección serológica. (9).

El diagnóstico del VEB debe basarse en la presencia de linfocitos atípicos, anticuerpos heterófilos, confirmación mediante serología o para un análisis más específico realizando una

determinación molecular del VEB; siendo estos los métodos más precisos en la mayoría de los casos para detectar infecciones producidas por Herpesvirus (5).

Los métodos moleculares son sensibles y específicos a la hora del análisis de Herpesvirus, pero la limitación de dichos métodos se basa en establecer un diagnóstico solo cuando el virus se encuentra en periodo de replicación, esto se da durante los 10 primeros días de la infección. A pesar que las pruebas serológicas son de gran utilidad para el diagnóstico del virus cuando se inicia el cuadro clínico, ya que en este periodo aparecen los síntomas de la enfermedad (5).

## **Problema**

Un paciente de sexo masculino de 16 años con indicios de mononucleosis infecciosa, tras un examen a la segunda semana de presentar sintomatología, un resultado positivo para virus Epstein Barr (VEB) en líquido cefalorraquídeo con serología en sangre negativa, se sospecha de una infección activa por VEB.

¿Mediante qué prueba de laboratorio interpretaría desde el punto de vista clínico un resultado positivo para el diagnóstico etiológico de mononucleosis infecciosa por VEB en LCR?

### **1) Marco teórico**

#### **1.1) Mononucleosis infecciosa (MI)**

##### **1.1.1) Generalidades**

La mononucleosis infecciosa (MI), es una enfermedad sistémica causada en un 90% por el virus de Epstein Barr, infectando casi a un 95% de toda la población. se caracteriza por presentar una serie de sintomatología como: fiebre, aumento del tamaño de los ganglios, faringitis, leucocitosis y aumento de linfocitos (9).

##### **1.1.2) Epidemiología**

La mononucleosis infecciosa (MI) es capaz de afectar a cualquier persona sin importar su edad, ya sea desde el momento en que desaparecen los anticuerpos maternos protectores en el caso de los niños de entre 6 y 8 meses de edad. En los infantes la primoinfección por VEB en la mayoría de las ocasiones suele pasar de manera inadvertida presentando sintomatología inespecífica de la infección del tracto respiratorio superior, siendo el diagnóstico de anticuerpos negativo en serología; a diferencia de los adolescentes y adultos que presentan sintomatología más específica de mononucleosis infecciosa y su diagnóstico de anticuerpos suele ser positivo en serología (9).



## **1.2) Virus Epstein Barr**

### **1.2.1) Estructura y genoma**

El virus Epstein Barr pertenece a la familia herpesviridae, contiene un núcleo de ADN bicatenario lineal, rodeado de una cápside icosaédrica, un tegumento de proteínas y una envoltura con glicoproteínas. El genoma del VEB está compuesto de ADN lineal que codifica para alrededor de 100 proteínas virales (7).

El VEB para poder penetrar las células requiere de la actuación de las glicoproteínas que posee en la envoltura viral. La GP350 es la glicoproteína principal cuya función es de adhesión y es la más abundante. En el interior de la célula infectada se disuelve la cápside del virus y automáticamente el genoma viral es transportado al núcleo (9).

### **1.2.2) Mecanismos de transmisión**

El VEB es transmitido directamente por secreciones orales, intercambio de saliva entre una persona infectada y una persona sana. En raras ocasiones puede transmitirse por métodos como transfusiones sanguíneas, trasplantes de médula ósea o por contacto sexual; ya que el virus no sobrevive por mucho tiempo fuera de las secreciones. Por ende, el periodo de transmisión es indeterminado (9).

El VEB al ingresar infecta el epitelio faríngeo, motivo por el cual se presenta con sintomatología de dolor de garganta y fiebre. El VEB es fuertemente linfotrópico, se une al receptor CD21 presente en la superficie de los linfocitos B, causando la proliferación de las células B. La respuesta en cuanto a la inmunidad celular está mediada por las células NK y los linfocitos T-CD8 citotóxicos (supresores) que son los encargados de destruir los linfocitos B infectados. Las células B infectadas se acumulan en los ganglios linfáticos, mientras que las células T-citotóxicas circulan como linfocitos atípicos en sangre periférica. Los síntomas de la mononucleosis infecciosa (MI) disminuyen a medida que los mecanismos celulares van controlando la replicación del VEB (3).

### **1.2.3) Periodo de incubación**

En el caso de niños y adolescentes este periodo suele durar de 1-3 semanas; mientras que en jóvenes y adultos se suele prolongar de 1-2 meses (9).

### **1.3) Diagnóstico de mononucleosis infecciosa producida por VEB**

Para realizar un diagnóstico de mononucleosis infecciosa (MI) producida por VEB se debe realizar primeramente un análisis de la sintomatología clínica; una vez sospechada la sintomatología se procede a realizarse un hemograma en el cual siendo positivo los resultados para la detección de mononucleosis nos va a presentar una elevación de leucocitos de 10.000 hasta 20.000 células/ul, también un aumento de linfocitos por encima del 50% y con al menos un 10% de linfocitos atípicos, más una alteración de las enzimas hepáticas es señal de que puede haber una infección por VEB (4) (9).

Los antígenos virales en general se detectan mediante múltiples técnicas de inmunoanálisis, las cuales se basan en la especificidad de la reacción entre los antígenos y los anticuerpos; para poder elegir la técnica adecuada se sugiere primeramente estar informado o tener conocimiento del antígeno que va a detectar para así poder definir el anticuerpo apropiado para dicho fin (10).

Para la detección del VEB se pueden medir anticuerpos frente a varios complejos de antígenos, entre los cuales encontramos: antígeno de la cápside viral (VCA), antígeno temprano (EA) y antígeno nuclear (EBNA) (11).

Una infección por VEB se la considera primaria cuando hay presencia de anticuerpos IgM frente a VCA y ausencia de anticuerpos IgM frente a EBNA; también cuando aparecen niveles altos de anticuerpos IgG frente a VCA y ausencia de respuesta inmune frente a EBNA después de la cuarta semana de la enfermedad (11).

La presencia simultánea de anticuerpos frente a VCA y EBNA indica una infección pasada. Esto se puede evidenciar en la mayoría de adultos ya que alrededor del 95% de los adultos ha tenido contacto con el VEB; por lo tanto, estos presentaran anticuerpos como una señal de infección pasada (11).

Existen diversos tipos de pruebas para lograr diagnosticar la presencia de anticuerpos del VEB entre estas pruebas de rutina y más comunes destacan:

#### **1.3.1) Anticuerpos heterófilos (Paul Bunnell)**

La prueba de Paul Bunnell para detectar anticuerpos heterófilos del VEB, es un análisis en sangre que me permite diagnosticar mononucleosis infecciosa desde la fase aguda de la enfermedad; mediante la detección de anticuerpos heterófilos IgM de forma cualitativa. Para dicha prueba se debe realizar una toma de muestra sanguínea (5ml) a partir de la primera

semana que ha iniciado la infección, ya que en este periodo los anticuerpos se encuentran elevados y es posible obtener un diagnóstico efectivo (2).

Esta prueba se caracteriza por presentar una aglutinación en el caso de detección de anticuerpos heterófilos. Consiste en un análisis cualitativo en donde puede ser el resultado binario (positivo o negativo). Entonces para proceder a evaluar específicamente la infección es recomendable realizar pruebas cuantitativas de los anticuerpos presentes (2).

En ocasiones se puede presenciar un diagnóstico falso positivo, el cual ocurre cuando se detecta la presencia de anticuerpos heterófilos estando ausente la enfermedad por el VEB; esto es muy frecuente en pacientes con antecedentes de hepatitis viral, virus de la rubeola, toxoplasmosis, y diferentes enfermedades inmunológicas como el lupus eritematoso sistémico (2).

En la mayoría de casos alrededor del 70% de pacientes con sintomatología asociada a mononucleosis infecciosa (MI) dan positivos los resultados en cuanto a la prueba de anticuerpos heterófilos; del 30% restante aproximadamente la mitad de ellos tienen IgM anti-VCA que también me representa un diagnóstico de infección aguda por VEB; el porcentaje restante de pacientes (15%) con síndromes febriles y proliferación de linfocitos similares a la mononucleosis infecciosa (MI), puede manifestarme una infección provocada por otros tipos de virus como citomegalovirus (CMV), virus del herpes humano 6 (VHH6), toxoplasma, hepatitis, VIH, etc. (3).

### **1.3.2) Anticuerpos IgG e IgM frente a VCA (virus cápside antigen) mediante ELISA**

Basándonos en el inserto Vircell. S, (2010) el método de ELISA se basa en una reacción de antígeno-anticuerpo, en donde las inmunoglobulinas que no se unen en la reacción con el antígeno se eliminan mediante un lavado; Luego de esto la globulina anti-humana reacciona con el complejo (antígeno-anticuerpo) formado eliminando mediante lavados la que no se une en este nuevo paso; mientras que la unida reacciona con un sustrato adicionado dando una coloración azul, que cambia tras la adición de solución de parada a una coloración amarilla (11).

La serología específica de anticuerpos virales IgG e IgM frente a antígenos VCA, EA, EBNA del VEB, es un método eficaz para determinar la infección aguda en personas inmunocompetentes, y así poder monitorear la progresión de la infección con el paso del tiempo (9).

Según Ruano. J, Ramos. J, (2014), los antígenos del VEB son de 3 tipos; los cuales se describen en la presente tabla:

A. Tipos de antígeno y anticuerpo del VEB		
	Antígenos	Anticuerpos
EBNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Es el primero en aparecer</li> <li>- Localizado en el núcleo de la célula infectada</li> <li>- Presente en todas las células transformadas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aparecen tardíamente</li> </ul>
EA antígeno temprano	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El EA-R aparece antes que el EA-D</li> <li>- Primer signo de entrada en fase de infección lítica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El anti-EA-D aparece en MI y en reactivaciones y el anti-EA-R en linfoma de Burkitt</li> </ul>
VCA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Antígeno tardío</li> <li>- Localizado en el citoplasma celular</li> <li>- Se detecta en células productoras de virus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El anticuerpo de clase IgM es transitorio y el de clase IgG persiste</li> </ul>

Fuente obtenida de Ruano. J, Ramos. J, (2014).

La técnica de ELISA es muy eficaz para la detección de antígenos específicos frente a VEB, ya que presenta una especificidad y sensibilidad muy elevada entre 80-100% (9).

A continuación, describiremos las características de cómo se comportan los anticuerpos frente a los diferentes antígenos que presenta el VEB:

- **Anticuerpos frente al antígeno de la cápside viral**

Estos anticuerpos son el IgG y el IgM. Los IgM aparecen tras la infección aguda por VEB; mientras que los IgE aparecen desde los 3 meses de la infección y se mantienen en el huésped durante toda la vida (9).

- **Anticuerpos contra el antígeno precoz (Anti-EA)**

Estos aparecen al inicio de la infección persistiendo hasta las 12 semanas y son capaces de reaparecer en cualquier momento (9).

- **Anticuerpos contra el EBNA**

Estos aparecen a partir de entre la segunda a la cuarta semana de que haya iniciado la sintomatología (9).

### 1.3.3) Anticuerpos IgM frente a VCA mediante inmunofluorescencia

Las pruebas de inmunofluorescencia son de gran utilidad al momento de realizar el análisis de anticuerpos frente al VEB, debido a que poseen gran sensibilidad y especificidad al igual que el método de ELISA. De las diversas determinaciones de anticuerpos frente al VEB, la más útil para diagnosticar mononucleosis infecciosa (MI) es la detección de IgM anti-VCA ya que es positiva para más del 90% de infectados (8).

La infección se considera aguda siempre que haya la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra el VCA. En la mayor parte de determinación de antígenos virales se analizan 2 sueros y se comparan los títulos para realizar dicho diagnóstico, pero en el caso de la determinación de infección por VEB siempre se utiliza una muestra de suero ya que en la fase aguda de la infección es característica la detección de IgM en valores elevados mientras que la IgG no es posible detectar cuando se emplea un suero convaleciente (8).

La determinación de la IgM anti-VCA se la realiza separando en el suero la fracción IgM de la fracción IgG para que así no se produzca una falta de sensibilidad y especificidad (8).

#### **1.3.4) Detección del DNA del virus mediante PCR**

La detección de ADN en la actualidad es una de las técnicas de mayor elección en el diagnóstico de cualquier infección viral, este análisis se basa en identificar secuencias específicas tanto de ADN como de ARN viral en cualquier tipo de virus. A este análisis se recurre cuando existen infecciones con carga bacteriana o viral muy baja y no es posible la detección mediante inmunoanálisis, ya que se logra detectar la presencia del genoma que caracteriza a cada virus (6) (10).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) me permite amplificar segmentos muy pequeños de ADN utilizando partidores específicos y un ADN polimerasa termoestable. En casos de que se requiera detectar ARN del VEB; esta amplificación de segmentos debe estar mediada por un paso de transcripción reversa, donde el ARN se copia a un ADN-copia. Y este ADN-copia se lo utilizará en el siguiente proceso de amplificación por la polimerasa (10).

El importante rol que cumple esta prueba en el diagnóstico virológico, se basa en que gracias a la amplificación del genoma viral permite caracterizar las secuencias nucleotídicas de los virus detectados mediante técnicas de secuenciación nucleotídica (10).

“Durante los últimos 8 años numerosos han sido los estudios que han demostrado el elevado potencial diagnóstico de la PCR en LCR para la identificación del ADN del VHS” (1).

Las pruebas de PCR utilizan iniciadores y cebadores los cuales me permiten delimitar la amplificación de un segmento determinado del ADN utilizando un ADN polimerasa resistente a la temperatura. Como resultado de esta prueba se evidencia una amplificación de un fragmento de ADN específico de tamaño conocido, el cual se lo detecta en geles de agarosa mediante electroforesis donde se lo visualiza como una banda discreta mediante la fluorescencia que se produce a la luz UV (6).



Para iniciar el proceso de detección de ADN viral mediante PCR se calienta la mezcla de la reacción para lograr separar las 2 hebras del ADN diana, una vez que estén separadas se enfría para permitir que se anillen los cebadores al ADN diana; después el ADN polimerasa inicia la extensión desde los extremos de cada uno de sus cebadores en direcciones opuestas. Los productos obtenidos mediante esta extensión de los cebadores se disocian de la diana de ADN mediante calor. Es entonces como cada uno de los productos obtenidos nos puede servir como molde para los siguientes procesos de anillamiento y extensión del cebador (3). En muchas investigaciones las pruebas de PCR han demostrado ser las más eficaces al momento de diagnosticar una infección provocada por agentes virales ya que estas diagnostican cuantitativamente los genes que caracterizan al virus brindando una mayor sensibilidad y especificidad. Sin embargo, el uso de estas técnicas en el uso de diagnóstico clínico de cualquier infección requiere de la validación y estandarización de los protocolos a seguir en cada laboratorio (6).

## **2) Resultados**

- En el análisis cualitativo de anticuerpos heterófilos del VEB, se considera positiva la prueba al momento de presentarse una aglutinación y negativo en el caso de no presentar aglutinación. Por ende, el resultado tiende a ser binario (positivo o negativo). Mientras que en ocasiones suele presentarse un diagnóstico falso-positivo (cuando se detecta la presencia de EA estando ausente la infección por VEB).
- En la detección de anticuerpos IgG e IgM frente a VCA mediante ELISA, el diagnóstico positivo se demuestra al momento de que la reacción antígeno-anticuerpo nos da un cambio de coloración de azul (al momento de adicionar el sustrato) a amarillo (tras adicionar la solución de parada).

La presente tabla nos muestra el estado clínico de una infección producida por el VEB frente a cada antígeno específico:

**Tabla IV. Diagnóstico de estado clínico según resultados serológicos**

<b>Estado clínico</b>	<b>VCA IgM</b>	<b>VCA-IgG</b>	<b>Anti-EBNA</b>	<b>Anti-EA</b>
Susceptible	-	-	-	-
Infección primaria	+	+ 0 -	-	+ 0 -
Infección crónica	-	+	-	+
Infección pasada	-	+	+	-
Reactivaciones	+ 0 -	+	+	+

*Fuente obtenida de Ruano. J, Ramos. J, (2014).*

- En la detección de anticuerpos IgM frente a VCA mediante inmunofluorescencia, esta prueba es positiva para más del 90% de infectados, considerándose aguda siempre que haya la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra el VCA.
- En cuanto a la detección de ADN del virus mediante PCR, esta técnica cuantitativa en el caso de ser positiva me permite detectar la presencia del genoma viral, mediante la amplificación del mismo para poder caracterizar las secuencias nucleotídicas del VEB.

### **3) Conclusión**

Para dar respuesta a la pregunta del caso clínico:

¿Mediante qué prueba de laboratorio interpretaría desde el punto de vista clínico un resultado positivo para el diagnóstico etiológico de mononucleosis infecciosa por VEB en LCR?

En el caso se presenta diagnóstico negativo para VEB en serología, lo cual no me confirma la presencia del virus causante de la infección debido a que estas pruebas serológicas suelen identificar cualitativamente la presencia de antígenos de virus en general lo cual puede generar una confusión con otros tipos de virus relacionados que pueden provocar la misma sintomatología que produce el VEB.

Para un diagnóstico más específico se recomienda la utilización del análisis cuantitativo del VEB por PCR en LCR ya que esta técnica es de mayor sensibilidad y especificidad que las

anteriores en serología, permitiéndome identificar el genoma que caracteriza al virus para dar un resultado seguro y satisfactorio que demuestre la presencia del VEB.

### **Bibliografía:**

- 1) Armenta, A.; López, S.; bioquímica; diagnóstico de las infecciones virales del sistema nervioso central. [online], 2000, 25, 109-115.
- 2) Arnal, A.; segundo médico.com; prueba para mononucleosis Paul Bunnell o monotest. [online], 2017.
- 3) Bernard, J.; el laboratorio en el diagnóstico clínico; mononucleosis infecciosa e infecciones relacionadas; reacción en cadena de la polimerasa y otras técnicas de amplificación; Marbán Libro, S.L; Madrid, 2007.
- 4) Calore, E.; Pérez, N.; Martins, J.; Cárdenas, P.; Rev.Chil.Infectol; inmunohistoquímica en un caso de encefalitis por virus Epstein Barr. [online], 2012, 29, 6, (visitado 17/07/2017).
- 5) Carballo, F.; Merchán, V.; Vilchez, L.; An. Fac. Med; linfoma de hodgkin con deplecion linfocítica e infiltración difusa de médula ósea. [online], 2011, 72, 2, (visitado 19/07/2017).
- 6) Catalán, P.; Alba, A.; Rev.Chil.Infectol; Profilaxis de enfermedad por virus de Epstein Barr en niños y adultos receptores de trasplante de órganos sólidos y de precursores hematopoyéticos. [online], 2012, 29, 1, (visitado 18/07/2017).
- 7) Cocho, P.; AEPap; diagnóstico de la infección por virus de Epstein Barr. [online], 2014, 1-8.
- 8) Correa, C.; Kouri, V.; Pérez, L.; Alemán, Y.; Soto, Y.; Álvarez, A.; Añé, A.; panorama cuba y salud; infecciones por virus Epstein-Barr y Citomegalovirus en pacientes con síndrome mononucleósico. [online], 2013, 8, 15-20.
- 9) Ferrer, E.; revista multidisciplinaria del consejo de investigación de la universidad de oriente; técnicas moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. [online], 2015, 27, 359-371.
- 10) García, R.; Palacios, M.; Crespo, M.; Rev.Pediatr. Aten. Primaria; edema palpebral como expresión oligosintomática de mononucleosis infecciosa. [online], 2012, 14, 54, (visitado 18/07/2017).
- 11) Lara, P.; revista médica de Costa rica y Centroamérica; mononucleosis infecciosa. [online], 2009, 587, 73-77.

- 12) Iarreal, Y.; Andrade, E.; Cuevas, Y.; Mendoza, A.; Montiel, M.; Levy, A.; Valero, N.; Acta bioquim. Clin. Latinoam; pruebas de funcionalismo hepático en pacientes con infección viral aguda. [online], 2012, 46, 1, (visitado 18/07/2017).
- 13) Navarro, M.; Gimeno, C.; Mendoza, J.; procedimientos en microbiología clínica; diagnóstico de laboratorio de las infecciones por herpesvirus. [online], 1995, 8, 1-27.
- 14) Porras, O.; Acta Med. Costarric; linfocitosis hemofagocítica, el espectro desde la enfermedad genética al síndrome de activación macrofágica. [online], 2011, 53, 2, (visitado 19/07/2017).
- 15) Ruano, J.; Ramos, J.; pediatría integral; mononucleosis infecciosa en la infancia. [online], 2014, 3, 141-152.
- 16) Salamano, R.; Lewin, S.; Arch. Med. Int; las encefalitis herpéticas. encefalitis producidas por la familia herpes. [online], 2011, 33, 3, (visitado 19/07/2017).
- 17) Santos, L.; Azevedo, L.; Oliveira, L.; Rev. Assoc.Med.Bras; virus Epstein-Barr in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. [online], 2014, 60, 3, (visitado 17/07/2017).
- 18) Tapia, L.; REV. MED. CLIN. CONDES; laboratorio de virología en la práctica clínica. [online], 2015, 6, 744-752.
- 19) Vircell, S.; inserto vircell microbiologists; Epstein-Barr VCA ELISA IgM. [online], 2010, 1-4.