

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA**



**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÁSTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
MICROBIOLOGÍA MÉDICA**

Efectos de la infección por Citomegalovirus durante la etapa fetal y los primeros 2 años de vida sobre el neurodesarrollo infantil. León, Nicaragua 2017-2018

AUTOR:

Lic. Evelin Lissette Martínez Rosales
Asistente de investigación
Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas

TUTOR:

Dr. Filemón Bucardo
Profesor titular
Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN-León

León, 2020

RESUMEN

El Citomegalovirus Humano (CMV) es un herpesvirus altamente prevalente a nivel mundial, los datos de prevalencia en la población son del 40% al 60% en los países industrializados y del 80% al 100% en áreas rurales de bajos recursos y países en vías de desarrollo. La infección congénita por CMV ha sido asociada con muerte fetal en útero, muerte neonatal, restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), nacimiento pre-termino y pre-eclampsia, además del creciente aumento de la cantidad de niños que nacen o desarrollan discapacidades permanentes, como pérdida de la audición, pérdida de la visión, deficiencias motoras y cognitivas asociado a la infección congénita por CMV.

Objetivo: Describir la incidencia de infecciones congénitas y en los primeros 2 años de vida por CMV y su correlación en el neurodesarrollo en una cohorte de niños del territorio de Salud Perla María Norori de León.

Metodología: estudio de cohorte que involucró 388 mujeres embarazadas que realizaron trabajo de parto en el Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales (HEODRA), se registró información epidemiológica y de las condiciones del parto, además se detectó la presencia de IgM anti-CMV en sangre de cordón umbilical para determinar la incidencia de infecciones congénitas y se detectó la presencia del genoma viral en muestras de orina mediante PCR. A los 2 años se seleccionó aleatoriamente a 175 niños de éstas madres a quienes se detectó la presencia de IgG anti-CMV para determinar la incidencia de infecciones infantiles. Se administró la Escala de Mullen de Aprendizaje Temprano en los hogares de los niños a los 2 años de edad y se realizaron 88 exámenes de la función visual y 83 exámenes de la capacidad auditiva.

Resultados: Las condiciones al nacimiento fueron las siguientes: promedio de semanas de gestación = 38.3 (SD: 1.7), parto vaginal = 57.6%, cesaríá = 42.4%. El 82.2% de los neonatos tuvo peso normal, 98.7% de los niños nacieron vivos y 1.3% (5/388) fallecieron, el 1% nació con hipotonía, 0.26% con hipertonía/espasticidad y 0.26% con microcefalia. Los análisis de IgM anti-CMV en muestras de cordón umbilical de los 388 niños examinados revelaron ausencia de infección durante la etapa fetal, es decir, las malformaciones congénitas encontradas no se atribuyen a la infección por CMV. En contraste, el genoma viral fue encontrado en 14% de las orinas colectadas a los 3 meses de edad y la prevalencia de infección por CMV a los 2 años de vida fue del 63%. Estos datos indican baja susceptibilidad a las infecciones por CMV durante el embarazo y una alta susceptibilidad a la infección durante la primera infancia, además, sugieren alta transmisión del virus a nivel comunitario. En este estudio también se encontró que la edad de la madre es un factor de riesgo para la infección por CMV del infante (22.9 vs 25.9; DM, -2.96, IC: -4.7, -1.2, $p = 0.001$), así como, las condiciones sanitarias insatisfechas (OR, 3.86; IC: 1.355, 11.054, $p = 0.012$). En este estudio no encontramos asociación entre la infección incidente por CMV en los primeros años de vida y el neurodesarrollo del infante.

Conclusión: El tema de la infección congénita y neonatal por CMV permanece inexplorado en Nicaragua y en Centroamérica. Este estudio demostró baja susceptibilidad de infecciones por CMV en embarazadas y una alta susceptibilidad de infecciones incidentes por CMV en niños de 2 años. No se demostró efecto de la infección incidente del CMV en la primera infancia sobre el neurodesarrollo del infante.

Palabras claves: CMV, infección congénita, infección infantil, neurodesarrollo.

A Gael y Aquiles

AGRADECIMIENTOS

Para poder lograr el éxito en nuestras vidas necesitamos de una mano amiga que nos aliente y de brillantes mentes que nos muestren el camino para llegar a la meta.

Por ello agradezco a:

Mi tutor **Dr. Filemón Bucardo** por su tiempo y conocimiento brindado a lo largo del estudio.

Dr. Filemón Bucardo, Dra Elizabeth Stringer investigadores principales de la cohorte Zika-GND que sirvió como fuente principal de la obtención de las muestras y los datos.

Equipo de Zika-PW, quienes hicieron un gran esfuerzo en recolectar las muestras de cordón umbilical e información clínica en el HEODRA.

Equipo de Zika-GND quienes hicieron una excelente labor realizando las evaluaciones neurológicas, recolectando información epidemiológica y toma de muestra.

Christian Toval-Ruiz por su apoyo en el procesamiento epidemiológico de los datos.

Mis amigos por darme aliento y ánimos para culminar el trabajo investigativo.

Mi familia por creer siempre en mí.

A todo el personal del Laboratorio de Microbiología y Parasitología que de manera directa e indirecta brindaron su ayuda.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES.....	9
JUSTIFICACION	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
OBJETIVOS	13
MARCO TEORICO	14
El virus.....	15
Propiedades de Citomegalovirus	16
Replicación.....	16
Epidemiología	18
Rutas de transmisión	20
Hospedero	20
Hospedadores inmunodeprimidos.....	21
Patogénesis de la infección congénita	21
Daño al Sistema Nervioso Central	24
Inmunidad contra Citomegalovirus.....	26
Diagnostico	27
Serología	27
Molecular.....	28
Histológica	28
Cultivo.....	28
Tratamiento	28
DISEÑO METODOLÓGICO	29
Tipo de estudio: Cohorte	29
Recolección de información.....	29
Recolección y procesamiento de la muestra.....	31
Detección de IgM-CMV por ELISA	31
Detección molecular de CMV.....	35
Consideraciones éticas.....	38
Análisis estadístico.....	38
RESULTADOS.....	40

DISCUSIÓN	44
CONCLUSIONES.....	47
RECOMENDACIONES.....	48
ANEXOS.....	57

INTRODUCCIÓN

El Citomegalovirus Humano (CMV) es un herpesvirus altamente prevalente a nivel mundial debido a que infecta a una gran proporción de individuos. En personas sanas la infección puede cursar de manera asintomática, seguida del establecimiento de la latencia, sin embargo, en aquellos individuos inmunocomprometidos o inmunológicamente inmaduros la infección primaria o reinfección puede conducir a una infección grave o mortal⁽¹⁻³⁾.

El CMV es un virus envuelto de doble cadena de ADN perteneciente a la familia del Herpesviridae, la cual incluye otros virus comunes como Epstein-Barr, Herpes simplex 1 y 2 y Varicella zoster. Es la causa más frecuente de infección congénita en todo el mundo y se puede adquirir tras el contacto con fluidos corporales infecciosos como saliva, sangre, orina, entre otros^(4, 5).

La seroprevalencia global de CMV es del 40% al 60% en los países industrializados y del 80% al 100% en áreas rurales de bajos recursos y países en vías de desarrollo^(6, 7). La incidencia mundial de la infección congénita por CMV se estima entre el 0.2% y el 2.5% de los nacidos vivos en países desarrollados y de 1% a 5% en países en vías de desarrollo⁽⁴⁾.

La infección congénita por CMV ha sido asociada con muerte fetal en útero, muerte neonatal, restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), nacimiento pre-termino y pre-eclampsia, además del creciente aumento de la cantidad de niños que nacen o desarrollan discapacidades permanentes, como pérdida de la audición, pérdida de la visión, deficiencias motoras y cognitivas asociado a la infección congénita por CMV^(8, 9).

El desarrollo de infección congénita por CMV se da por la transmisión transplacentaria por medio de Citotrofoblastos. El resultado de ésta interacción puede ser infección maternal primaria o secundaria, donde la infección primaria es seguida por el establecimiento de una infección latente de por vida a partir del cual es común la recurrencia. El CMV puede atravesar largos periodos de latencia seguidos de la reactivación de la cepa endógena o la reinfección con una nueva cepa exógena^(2, 3, 10-12).

A pesar de los cargos sanitarios y de salud que esta infección implica, la infección congénita por CMV no se detectan al nacer porque la mayoría de los bebés afectados son asintomáticos o presentan síntomas inespecíficos como para inducir sospecha clínica⁽⁴⁾. El diagnóstico para CMV

se da por aislamiento viral o demostrando su presencia mediante técnicas inmunológicas, moleculares o por seroconversión⁽⁵⁾. En la actualidad, el diagnóstico prenatal de infección por CMV se basa principalmente en serología materna, detección de CMV-ADN en líquido amniótico y sangre maternal y fetal⁽³⁾.

En este estudio de cohorte se abordó la búsqueda de anticuerpos IgM en plasma de cordón umbilical para determinar infección congénita por CMV y se determinó la incidencia de infecciones por este virus en los 2 primeros años de vida del infante, además se evaluó las secuelas en el neurodesarrollo que podrían estar asociados a la infección a temprana edad, así como los factores de riesgo asociado con infecciones incidentes del infante, además de evaluar la función visual y auditiva de los niños a los 2 años de edad.

ANTECEDENTES

La infección por CMV se asocia con un riesgo potencial para el feto, sin embargo hay datos limitados en países en vías de desarrollo con respecto a la epidemiología y el impacto de las infecciones por este virus⁽¹³⁾. En países industrializados, la infección congénita por CMV es vista en aproximadamente 0.4 - 1.2% de nacidos vivos, principalmente en infección primaria, pero no están exentos en infecciones no primarias en el embarazo^(2, 14).

En Turquía se realizó un estudio en 32,182 mujeres embarazadas, el cual demostró una seropositividad para CMV-IgG e IgM de 62% y 22% respectivamente, además el riesgo de transmisión transplacentaria del virus es del 24% y 75% con la primera infección de una mujer que no ha sido inmunizada, mientras que la infección no primaria tiene de 1% a 2.2% de riesgo⁽¹⁵⁾.

Las secuelas neurológicas en niños expuestos en útero al CMV es de 32.4% después de la primera infección materna en el primer trimestre y sin evidencia de secuelas en el segundo y tercer trimestre, según un estudio realizado en Francia⁽¹⁶⁾.

Un estudio retrospectivo realizado en Italia a 735 mujeres embarazadas con infección primaria por CMV demostró seroconversión en el 44.4% de los casos y detección de CMV-ADN en el 43.9%, de igual manera demostró que la tasa de transmisión vertical fue de 37.5%, de los cuales el 5.6% eran infecciones pre-concepcionales y el 64.1% fueron infecciones adquiridas en el tercer trimestre⁽¹⁷⁾.

Un estudio realizado en el país Europeo Bosnia-Herzegovina, donde buscaron la seroprevalencia de infecciones congénitas por CMV entre los años 2010-2019, encontraron que el 92.1% de las muestras de cordón umbilical fueron positivas para IgG y el 0.1% de las mismas fueron positivas para ADN de CMV, al realizar la búsqueda de CMV en hisopos de saliva de neonatos, encontraron el ADN viral en el 0.62% (8 neonatos), a los cuales se les dio seguimiento y a los 18 meses de edad no presentaban pérdida auditiva neurosensorial⁽¹⁸⁾.

En Estados Unidos la infección congénita por CMV ocurre en un gran número de bebés y niños, con un estimado de 40,000 nuevas infecciones cada año^(14, 19), además un estudio demostró la presencia de infección congénita por CMV en niños nacidos de madres infectadas por VIH,

resultando positivos por PCR en orina el 18% de los casos VIH positivos y un 4.9% de casos VIH negativos, demostrando la importancia de CMV en pacientes inmunocomprometidos⁽²⁰⁾.

En Brazil se realizó un estudio de prevalencia al nacimiento e historia natural de la infección congénita por CMV en una población altamente inmune. Sus principales resultados revelan que el 1.08% de niños nacieron con infección congénita, de los cuales se encontró pérdida auditiva neurosensorial a los 21 meses de edad en el 8.6% (5/58) de los casos, y pérdida auditiva profunda bilateral en 2 niños. Los resultados de este estudio sugieren que los recién nacidos en una población con alta seroinmunidad por CMV proporcionan evidencia adicional de que la enfermedad congénita por CMV ocurre en poblaciones con altas tasas de seroprevalencia, con una incidencia similar de pérdida auditiva relacionada con CMV a la reportada en la descendencia de mujeres de poblaciones en países desarrollados con tasas más bajas de seroinmunidad al CMV⁽²¹⁾.

Un único estudio en Nicaragua, realizado en Managua estudiaron por Amnioscentesis a 18 embarazadas con sospecha de fenopatías infecciosas por TORCHs que mostraron por ultrasonido la presencia de anomalías estructurales, éstas presentaron un IgG – CMV positivo en el 61% de los casos, también mostraron co-infección con Toxoplasmosis en el 22% de los casos⁽²²⁾, sin embargo no podemos atribuir dichos hallazgos a CMV por la ineficiencia de esta técnica.

En Nicaragua no existen estudios de seroprevalencia de CMV, de la misma manera no hay datos sobre el neurodesarrollo de los niños expuestos en útero, sintomáticos y asintomáticos ni de aquellos incidentes en la primera infancia.

JUSTIFICACION

El CMV es un virus ubicuo que tiene una alta prevalencia en países en vías de desarrollo, generalmente la infección es asintomática pero los principales grupos de riesgo con las mayores consecuencias son las personas inmunocomprometidas, mujeres embarazadas y neonatos, las complicaciones en el feto puede conllevar al aborto, restricción del crecimiento intrauterino, microcefalia, además, otras consecuencias aparecen a largo plazo como la pérdida auditiva neurosensorial, retinitis y problemas de aprendizajes.

En Nicaragua no existen reportes epidemiológicos de CMV, ya sean la seroprevalencia en la población en general ni en mujeres embarazadas, la incidencia de infección congénita e infantil. Además se desconocen las secuelas en nuestra población, tampoco se han estudiado las secuelas a corto y largo plazo que pueden causar en bebés con infección congénita. No existe medidas preventivas ni tratamientos a madres o bebés infectados.

La evaluación del neurodesarrollo de los niños en seguimiento va a aportar un dato importante para el entendimiento de la infección en edades muy tempranas y de ésta manera realizar la intervención de los familiares en la estimulación temprana de los niños con dificultades en las diferentes áreas cognitivas y sensoriales.

Existen varias técnicas diagnósticas utilizadas para determinar infección maternal o congénita por CMV, siendo el estudio serológico de uso común, sin embargo, no es una técnica concluyente para determinar infección aguda, además puede ir de la mano con las técnicas moleculares ya que son una herramienta útil para el diagnóstico temprano de infección por CMV.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las incidencias de la infección congénita por CMV e infección en los primeros 2 años de vida y su correlación en el neurodesarrollo en una cohorte de niños del territorio de Salud Perla María Norori de León, 2017-2018?

OBJETIVOS

General

- Describir la incidencia de infecciones congénitas y en los primeros 2 años de vida por CMV y su correlación en el neurodesarrollo en una cohorte de niños del territorio de Salud Perla María Norori de León, 2017-2018

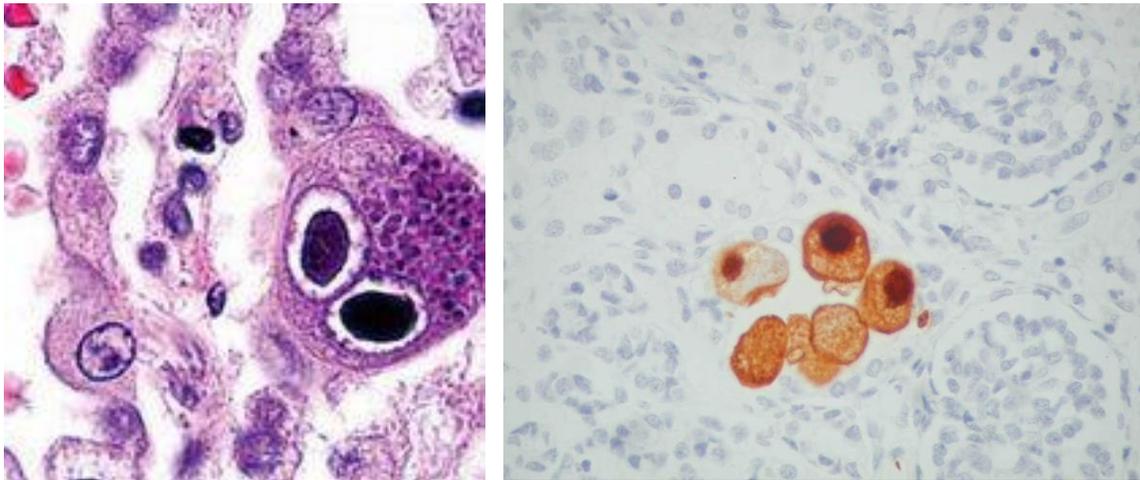
Específicos

- Describir las características clínicas y epidemiológicas de la población en estudio.
- Determinar la seroprevalencia de CMV en sangre de cordón umbilical e incidencia en los dos primeros años de vida del infante.
- Evaluar el neurodesarrollo de los infantes basados en el test de Mullen de aprendizaje temprano y asociar los resultados con el estatus serológico del mismo

MARCO TEORICO

El CMV es un agente ubicuo pero muy específico de cada especie y son una causa común de infecciones en muchas especies animales, incluidos los humanos⁽²³⁾. Los primeros reportes fueron en 1881 por Ribbert, quien observó cambios celulares característicos, incluidos el agrandamiento celular con inclusiones intranucleares en los riñones de un bebé muerto por sífilis congénita⁽²⁴⁾. Más de 20 años después, en 1904, los médicos Jesionekand y Kiolemenoglou del Royal Dermatological Hospital en Munich publicaron un estudio sobre hallazgos de estructuras similares a protozoo en los órganos de un feto lúteo, los elementos que observaron en el hígado, los riñones y los pulmones tenían un tamaño de 20-30 μm , los núcleos eran grandes y estaban colocados excéntricamente y cada uno tenía un cuerpo nuclear central, rodeados de dos zonas, una zona interna más oscura y una zona externa más clara. Recibió atención médica cuando las características inclusiones de ojo de búho se observaron de nuevo años después en una muerte fetal en 1910 y nuevamente en 1964 en pacientes sometidos a trasplantes de órganos pioneros (Figura 1) ^(25, 26).

Fig. 1: Izquierda. Histopatología de la infección por Citomegalovirus en el pulmón que muestra inclusiones típicas de ojo de búho. Derecha. Inmunohistoquímica en células de la placenta que demuestra la presencia de antígenos de Citomegalovirus⁽²⁷⁾.



En 1921 Ernest W. Goodpasture, en ese momento profesor asistente del Departamento de Patología y Comisión de Cáncer de la universidad de Harvard, describió un caso caracterizado por glomerulonefritis y hemorragia pulmonar, él observó los cambios celulares a los cuales le dio el

nombre de protozoarios, sugiriendo que se le llame a esa condición como Citomegalia Infantil y tras varios ensayos concluyeron que los cambios celulares no se deben a parásitos protozoarios si no a un virus de la misma familia que la varicela por las características celulares. En el mismo año Benjamin Lipschütz informó que inclusiones celulares similares se asociaron con lesiones en humanos y conejos infectados con Herpes simple, afirmando que los cuerpos vistos dentro de las células representan una reacción específica a un virus vivo, sin embargo este concepto no fue aceptado universalmente^(26, 28).

La aparición de la epidemia del SIDA en 1980 ha conducido a una expansión dramática del espectro de la enfermedad por CMV, ya que fue la infección oportunista más común en pacientes con SIDA y una causa importante de morbilidad y mortalidad, hasta la inclusión a la terapia antirretroviral⁽²⁹⁾.

Actualmente el CMV es una causa de morbilidad y mortalidad en bebés que adquieren la infección durante el periodo de gestación y personas con compromiso inmunológico⁽³⁰⁾.

El virus

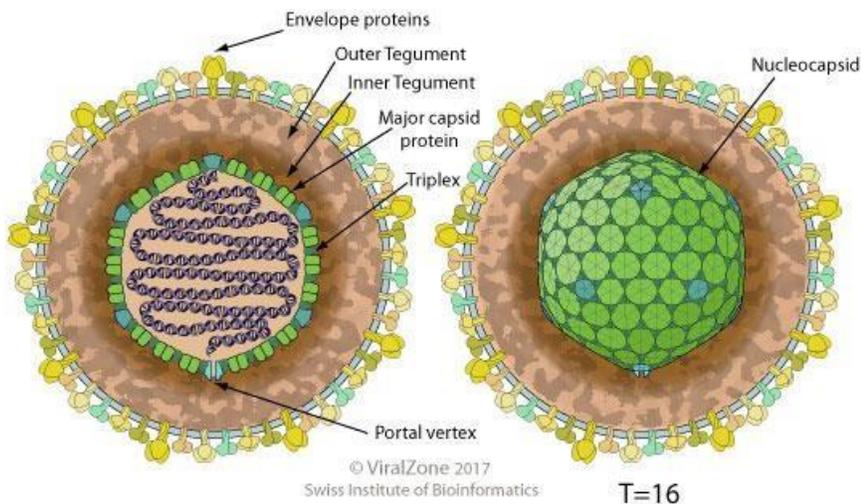


Fig. 2. Estructura del virión del Citomegalovirus. Envuelto, esférico a pleomórfico, 150200 nm de diámetro, T = 16 simetría icosaédrica. La cápside consta de 162 capsómeros y está rodeada por un tegumento amorfo. Los complejos de glicoproteínas están incrustados en la envoltura lipídica⁽³¹⁾.

CMV es un virus que pertenece a la familia Herpesviridae, de doble cadena de ADN dispuesta en el núcleo central. El peso molecular del ADN de los Herpesvirus varía en dependencia del virus, que va entre 125-290 kilobases. El núcleo de ADN está rodeado por una cápside que consta de 162 capsómeros, dispuesto en simetría icosaédrica. La cápside tiene un diámetro de aproximadamente 100 a 110 nanómetros. Muy adherido a la cápside es el tegumento, que parece consistir en material amorfo. Alrededor de la cápside y el tegumento se encuentra una

envoltura de bicapa lipídica derivada de las membranas de la célula huésped. La envoltura consta de poliaminas, lípidos y glicoproteínas. Estas glicoproteínas confieren propiedades distintivas a cada virus y proporcionan antígenos únicos a los que el huésped puede responder (Figura 2)⁽³²⁾.

Los Herpesvirus humanos se agrupan en tres subfamilias: alphaherpesvirinae, betaherpesvirinae y gammaherpesvirinae, su clasificación se da en función de las diferencias de las características virales (estructura del genoma, tropismo tisular, efecto citopatológico y sitio de infección latente), así como la patogenia y manifestación clínica de la enfermedad. Los herpesvirus humanos son Virus del Herpes Simple 1 y 2 (VHS1 y VHS2), virus varicela-zoster (VZV), virus de Epstein Barr, Citomegalovirus (CMV), herpesvirus humanos 6, 7 y 8 (HHV-6 y HHV-7)⁽³³⁾.

Propiedades de Citomegalovirus

Se han descrito más de 200 proteínas codificadas por el virus, entre ellas la glucoproteína de la superficie celular, el cual actúa como un receptor Fc de las inmunoglobulinas. Esto puede ayudar a las células infectadas a evadir la eliminación inmunitaria al proporcionar una cubierta protectora de inmunoglobulinas irrelevantes del hospedador⁽³⁴⁾.

Replicación

La replicación de CMV es lenta en comparación con otros Herpesvirus. La expresión del gen lítico del CMV, como la de los otros virus del herpes, ocurre en una cascada ordenada temporalmente. En términos generales, el proceso de entrada del virus requiere un paso de unión al receptor, un paso de activación y un paso de fusión de membrana⁽³⁵⁾.

La entrada de CMV comienza con la unión del virión a los proteoglicanos de sulfato de heparina expresados ubicuamente en la superficie celular, seguido de la unión de las glicoproteínas virales gB y gH / gL a uno o más receptores celulares que incluyen los heterodímeros de integrina $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ y $\alpha v\beta 3$, el crecimiento derivado de las plaquetas factor-receptor (PDGFR α), y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)⁽³⁶⁾.

Una vez el virus entra al citoplasma se da el acoplamiento y abordaje que se da por la interacción coordinada de las glucoproteínas virales con los receptores del huésped que inducen un reordenamiento del citoesqueleto dentro de la célula, por lo cual el virus puede caminar a lo largo de los microtubulos mediante el uso de proteínas motoras moleculares (dineína)⁽³⁷⁾. Luego de esto se da la fusión de la envoltura con la membrana celular para liberar las nucleocapsides en el citoplasma, las cuales se trasladan al núcleo donde se liberan el ADN viral.

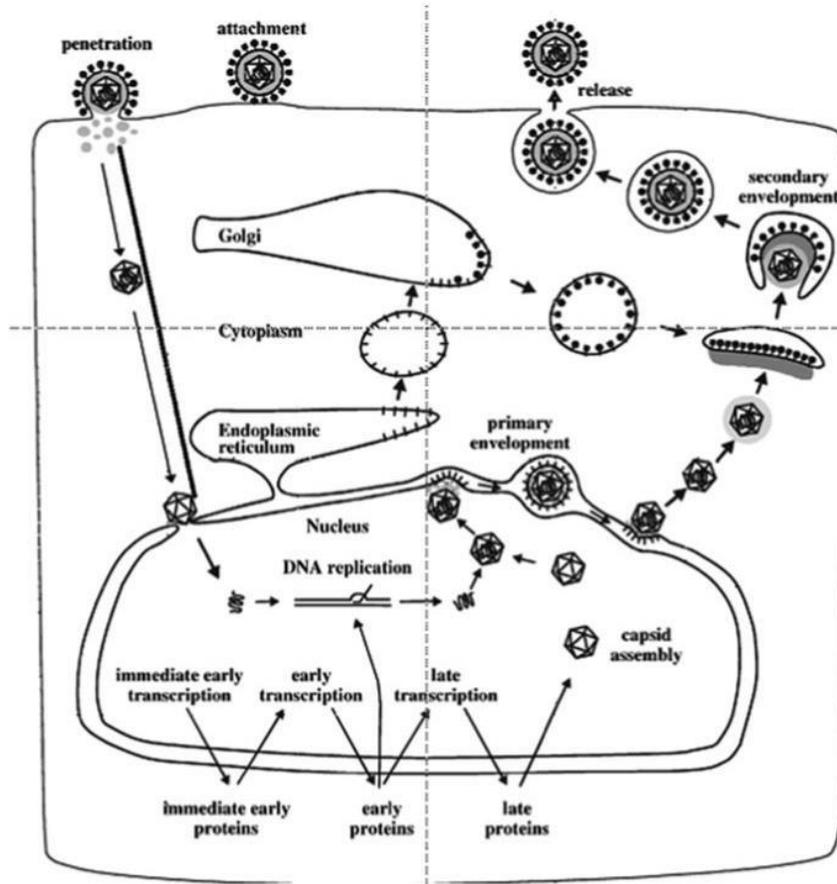
Una vez que el virus alcanza el núcleo inicia el proceso de replicación lítica que consiste en 3 pasos: 1. Circularización, en la que se fusionan los términos del genoma viral lineal de doble cadena 2. Replicación, en la que el ADN circular sirve como plantilla para la replicación del ADN, que genera grandes concatameros de ADN y 3. Maduración, en la que el ADN viral concatemérico se procesa en genomas de longitud unitaria, que se empaquetan en cápsidas.

Esto da inicio a la expresión de los genes IE-1 / IE-2, los cuales generan proteínas reguladoras para determinar la infecciones permisivas y latentes. Participan en múltiples interacciones con la maquinaria de transcripción de la célula huésped y también interactúan con los componentes del ciclo celular y las vías del control del crecimiento.

Después de la replicación sigue el proceso de expresión de genes tardíos, los cuales codifican para proteínas necesarias para la generación de la nueva progenie de viriones. Este proceso implica la encapsulación del ADN replicado, luego se trasladan desde el núcleo al citoplasma, donde se produce la envoltura secundaria en el retículo endoplasmático, por consiguiente, se da el complejo proceso de salida y envoltura final de dos etapas que conduce a la liberación del virión por exocitosis en la membrana plasmática (Figura 3)⁽³⁸⁻⁴⁰⁾.

La infección productiva por CMV se da por la síntesis de proteínas en 3 fases reguladas durante el proceso de replicación. La primera denominada inmediata precoz, se desarrolla en las primeras cuatro horas después de la infección, en la que se sintetizan las proteínas reguladoras claves que permiten al CMV controlar la célula; en la segunda o fase precoz, se sintetizan las proteínas para la replicación de ADN y proteínas estructurales; y en la tardía, que ocurre alrededor de 24 horas después de la infección, se sintetizan proteínas estructurales necesarias para el ensamblaje de la envoltura viral y la salida del virión⁽³⁸⁾. La liberación de virus infecciosos ocurre a través de un proceso de exocitosis regulada o después de la muerte de la célula infectada⁽⁴¹⁾ (Figura 3).

Fig. 3. Ciclo de replicación viral de Citomegalovirus en la célula huésped. Representación esquemática del ciclo de replicación del CMV que incluye la entrada del virus y la disociación del tegumento, el transporte de las cápsides entrantes al poro nuclear y la liberación del ADN viral en el núcleo donde se produce la transcripción en forma de cascada y la replicación del ADN, conformación del virión y salida de la nueva progenie⁽²⁶⁾.



Epidemiología

El CMV humano infecta del 30-98% de la población humana alrededor del mundo, existen diferentes variables que predisponen para adquirir la infección, entre ellas los grupos socioeconómicos más bajos, poblaciones de minorías raciales y étnicas, mujeres en edad fértil y de la tercera edad, los niños en mayor proporción se infectan antes de llegar a la pubertad^(42, 43). El hacinamiento y la falta de higiene favorecen la transmisión de CMV. En los países desarrollados, el 40% de los adolescentes son seropositivos, aumentando la prevalencia aproximadamente un 1% por año de vida^(2, 44, 45). La prevalencia de infecciones congénitas varía del 0.1% al 6.3% a nivel mundial, esto varía en dependencia de las condiciones económicas del país, la técnica de detección y el tamaño muestral, los países en vías de desarrollo y países con mayor población son los más vulnerables en adquirir la infección (Tabla 1). La prevalencia infantil varía en dependencia de la

edad encontrando que aquellos menores de 1 año la excreción viral varía del 40-58%, disminuyéndose con el aumento de la edad en algunos casos hasta el 12% aproximadamente al llegar a los 5 años (Tabla 2). La seroprevalencia de IgG-CMV en mujeres embarazadas al momento del parto varía del 60-100%⁽⁴⁶⁾ (Tabla 3).

Tabla1. Incidencia de infecciones congénitas por Citomegalovirus a nivel mundial

Continentes	No. de estudios	Período de estudio	Edad	% de infección congénita			Referencia
				Promedio % (SD)	Mínimo	Máximo	
Asia	6	2009-2017	Neonatos	2.38% (2.49)	0.40%	5.80%	(47-52)
Europa	4	1999-2019	Neonatos	0.7% (0.95)	0.10%	2.60%	(53-56)
África	1	2014-2015	Neonatos	5.45% (2.6)	2.60%	6.30%	(57)
América	4	2006-2017	Neonatos	1.49% (0.91)	0.60%	2.50%	(58-61)

Tabla 2. Incidencia de infección infantil por Citomegalovirus

País	Período de estudio	No. de sujetos	Detección	Muestra	edad	% de prevalencia	Ref.
Japón	2016	210	PCR	Saliva	< 1 a ³	40% (2/5)	(48)
					1 a	28% (23/82)	
					2 a	62% (18/29)	
					3 a	22.8% (8/35)	
					4 a	29% (9/31)	
					5 a	35.7% (10/28)	
China	2015-2016	32,542	PCR	Orina	<28 d ¹	3.09% (1006/32542)	(62)
					28 d-3 m ²	35.23% (11465/32542)	
					3-6 m	57.78% (18803/32542)	
					6-12 m	58.31% (18975/32542)	
					1-3 a	24.92% (7875/32542)	
					3-5 a	16.29% (5301/32542)	
					> 5 a	12.64% (4113/32542)	
Francia	2009-2012	1,770	PCR	Saliva	3-6 m	31.8% (14/44)	(63)
					6-12 m	44.7% (105/235)	
					12-18 m	40% (139/282)	
					18-24 m	40.2% (141/351)	
					24-30 m	41.1% (161/392)	
					30-36 m	35.4% (115/325)	
					>36 m	26.9% (38/141)	

¹: días, ²: meses, ³: años

Tabla 3. Seroprevalencia de Citomegalovirus en mujeres embarazadas

Continentes	No. De estudios	Período de estudio	% de prevalencia (SD)	Mínimo	Máximo	Ref.
Asia	2	2008-2017	64.35% (3.3)	62%	66.70%	(49, 64)
Europa	2	1999-2010	65% (15.5)	54%	76%	(54, 55)
África	1	2014-2015	100%	NA ¹	NA	(57)
América	2	2009-2016	93.4%(5.4)	89.6	97.3	(60, 65)

¹: No Aplica

Rutas de transmisión

El virus puede ser transmitido a la madre a través de secreciones corporales como orina, saliva, secreciones vaginales, semen, leche materna y a través de hemoderivados positivos para CMV. La infección primaria se produce comúnmente por contacto directo con estos fluidos de una persona infectada. La transmisión puede ser vertical, de la madre al hijo en el embarazo o periparto, y horizontal, en el período perinatal o posnatal. En adultos inmunocompetentes, la excreción viral es intermitente e indefinida mientras que en inmunodeprimidos e infección congénita, perinatal o posnatal temprana es prolongada (incluso años) y constante (Esquema 1)^(45, 66).

El riesgo de transmisión vertical al feto es significativamente mayor con la infección materna primaria que con la recurrencia. La transmisión congénita de CMV puede ocurrir con infección materna primaria, reactivación o reinfección durante el embarazo^(42, 67-69).

Hospedero

El CMV humano está restringido a infectar humanos, una vez que el virus ha ingresado a la célula huésped puede propagarse a cualquier tejido debido a su amplia gama de células diana. El tipo celular más conocido para la propagación de CMV es el fibroblasto, aunque también tiene tropismo por las células epiteliales

CMV puede transmitirse de persona a persona tras el contacto estrecho con material biológico que contenga el virus. El periodo de incubación es de cuatro a ocho semanas en niños mayores y en adultos después de la exposición al virus. El virus produce una infección generalizada, se ha aislado en pulmón, hígado, esófago, colon, riñones, monocitos y linfocitos T y B. La enfermedad es un síndrome parecido a la mononucleosis infecciosa espontánea.

Al igual que todos los herpesvirus, CMV en las enfermedades latentes de la vida. Es posible que el virus se elimine de forma intermitente en la fecha y en los próximos meses después de la infección primaria. La infección prolongada del riñón por CMV no parece ser nociva en personas normales. La afectación de las glándulas salivales es frecuente y probablemente crónica. La inmunidad mediada por células está deprimida en las infecciones primarias y esto puede contribuir a la persistencia de la infección viral. En ocasiones se requieren varios meses para el restablecimiento de las respuestas celulares^(34, 70).

Hospedadores inmunodeprimidos

CMV es una de las principales infecciones congénitas en todo el mundo y un patógeno oportunista importante para individuos inmunocomprometidos. En la mayoría de los bebés inmunocompetentes, la infección por CMV es asintomática; sin embargo, los niños infectados por el VIH están en riesgo de desarrollar enfermedad por CMV. Las infecciones primarias por CMV en hospedadores inmunodeprimidos son mucho más graves que en los hospedadores normales. Las personas con máximo riesgo para la enfermedad por CMV son las receptoras de órganos, las que tienen tumores malignos que están recibiendo quimioterapia y las que padecen sida. La excreción viral se incrementa y se prolonga, y la infección tiene más posibilidades de diseminarse. La neumonía es la complicación más frecuente. Se supone que la respuesta inmunitaria del hospedador mantiene al CMV en un estado latente en individuos seropositivos. Las infecciones reactivadas se relacionan con la enfermedad con mucha más frecuencia en pacientes inmunodeprimidos que en hospedadores normales. Aunque por lo general menos graves, las infecciones reactivadas pueden ser tan virulentas como las infecciones primarias^(71, 72).

Patogénesis de la infección congénita

La placenta fetal está compuesta de diferentes células que permitan una conexión entre la madre y el feto (Figura 4). El saco membranoso se forma al dividir las membranas en dos laminas separadas, la placa coriónica (en el lado fetal) y la placa basal (en el lado materno). Estas dos placas confinan el espacio intervillous, sirviendo como cubierta y fondo. El espacio intervilloso está perfundido con sangre materna, que circula directamente alrededor de las superficies trofoblásticas de las vellosidades placentarias. Las vellosidades son estructuras complejas en forma de árbol de la placa coriónica que se proyectan en el espacio intervillous. Dentro de las

vellosidades hay vasos fetales que están conectados al sistema circulatorio fetal a través de la placa coriónica y el cordón umbilical⁽⁷³⁾.

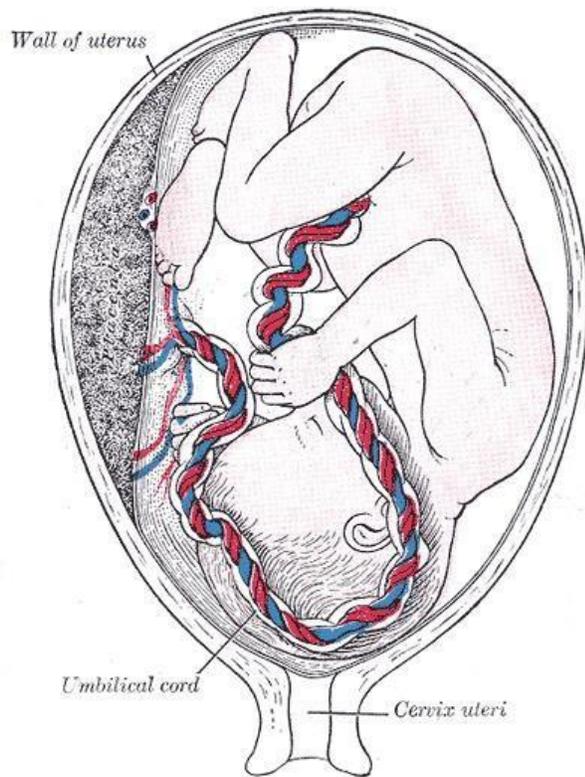


Figura 4. Desarrollo de las membranas fetales y la placenta, feto en útero, entre el 5to y 6to mes, cordón umbilical, cérvix uterino⁽⁷⁴⁾.

Diversos estudios han demostrado la presencia de células infectadas con CMV en la placenta, éstos fueron principalmente fibroblastos y células endoteliales en las vellosidades, macrófagos, linfocitos y trofoblastos, por lo que se puede sugerir los mecanismos por los cuales el feto puede adquirir la infección en útero⁽⁷⁵⁾. Durante la placentación se da la diferenciación de las células madres a citotrofoblasto a lo largo de dos vías, en la vía que da lugar a las vellosidades flotantes, los citotrofoblastos se diferencian al fusionarse en sincitiotrofoblastos multinucleados que cubren las superficies de las vellosidades que están en contacto directo con la sangre materna. (Figura: Zona I) Ésta población de trofoblasto es especialmente adaptado para transportar sustancias al feto incluida la IgG materna a través del receptor FC neonatal. La otra vía da lugar al anclaje de las vellosidades que unen la placenta a la pared uterina (Figura: Zona II), los citotrofoblastos se agregan en columnas celulares e invaden la decidua materna y el primer tercio del miometrio. Durante este proceso remodelan los vasos sanguíneos uterinos, desviando así el flujo sanguíneo hacia la placenta (Figura: Zona III)⁽⁷⁶⁾. Una cepa de CMV trópico de células endoteliales se replica en células endoteliales microvasculares uterinas y se propaga a citotrofoblastos invasivos in vitro, lo que sugiere que la transmisión hematogena ocurre en el útero.

Las posibles rutas de infección por CMV en la interfaz decidua-placentaria son (Figura 6):

- 1-El virus puede diseminarse de las células sanguíneas maternas infectadas a la decidua.
- 2-Los citotrofoblastos intersticiales y endovasculares en la pared uterina.
- 3-Columnas de citotrofoblastos de vellosidades de anclaje.
- 4-Otras vellosidades flotantes.

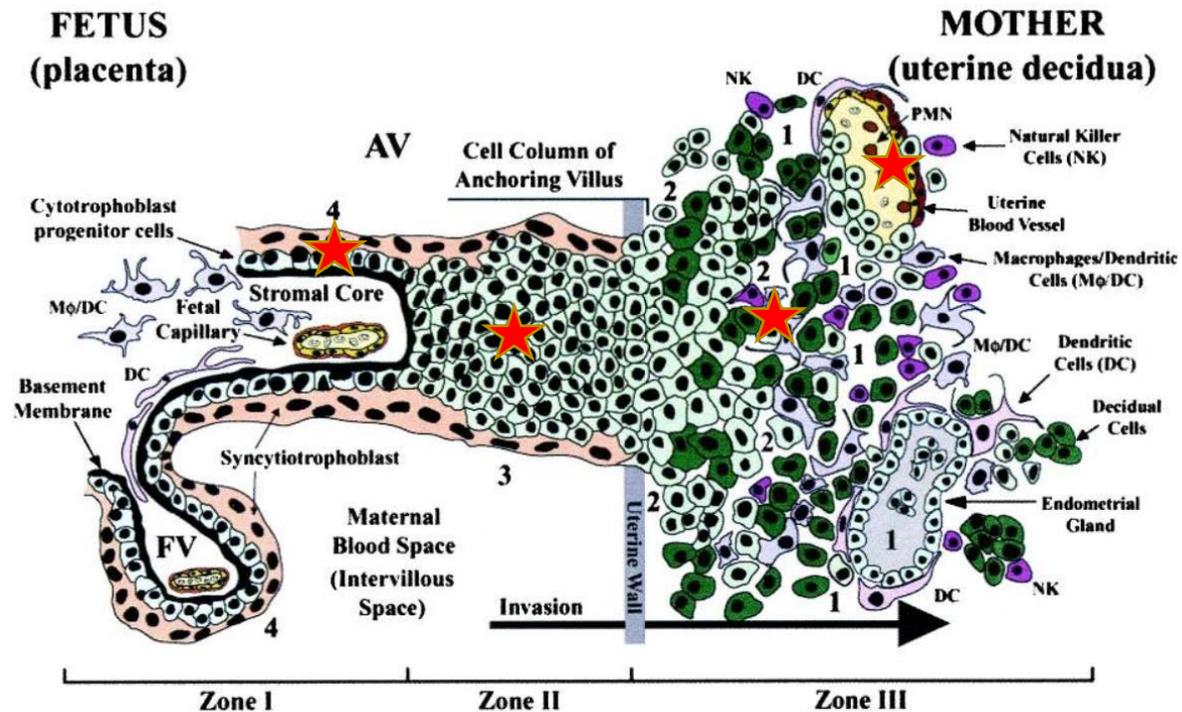


Figura 5: Diagrama de la interfaz placentaria (fetal) – decidua (uterina) con las posibles rutas de infección por CMV. Sección longitudinal que incluye una vellosidad flotante y una vellosidad coriónica de anclaje. La vellosidad de anclaje (AV) funciona como un puente entre los compartimentos fetales y maternos. La vellosidad flotante (VF), bañada por la sangre materna, contiene los capilares fetales. Los citotrofoblastos en AV (zona I) forman columnas celulares que se unen a la pared uterina (zona II). Los citotrofoblastos invaden el intersticio uterino, la decidua y el primer tercio del miometrio y la vasculatura materna (zona III), anclando así la placenta al útero y obteniendo acceso a la circulación materna. Las estrellas rojas representan las posibles rutas de infección por CMV. Los colores ilustran diferentes tipos de células: sincitiotrofoblastos (beige), células progenitoras de citotrofoblasto y células invasivas (verde claro), células deciduales (verde oscuro), células endoteliales (amarillo), células del músculo liso (marrón), células epiteliales en las glándulas endometriales (gris); células inmunes innatas: macrófagos / células dendríticas positivas para DC-SIGN (Mφ / DC) (púrpura), otro tipo de célula dendrítica (DC) (rosa), neutrófilos (PMN) (rojo) y células asesinas naturales (NK) (oscuro) rosado). Los sitios propuestos como rutas de infección por CMV en el útero están numerados del 1 al 4⁽⁷⁶⁾.

Una vez que el feto está infectado, la replicación viral ocurre principalmente en el epitelio tubular de los riñones. El virus luego se excreta en la orina fetal y posteriormente en el líquido amniótico. El feto ingiere el líquido amniótico infectado, el virus se replica aún más en la orofaringe, ingresa a la circulación fetal y se propaga a los órganos diana⁽⁷⁶⁻⁷⁸⁾.

La primo-infección, reinfección o reactivación con una cepa viral diferente de CMV en las mujeres en estado de gestación pueden causar lesiones fetales y resultados adversos. Hay muchos estudios en la literatura que evidencian que en este proceso no solo están involucrados los efectos directos del virus al feto, con los efectos citopáticos, sino también los efectos indirectos tras la infección placentaria y la disfunción⁽⁷⁹⁾.

Daño al Sistema Nervioso Central

Durante el desarrollo y maduración del SNC están involucrados diferentes procesos graduales que implica la diferenciación del tejido neural y la diferenciación morfológica del encéfalo, que a su vez están involucrados etapas de neurogénesis, migración, crecimiento de neuritas y formación de sinapsis. Hay diversos estudios que demuestran que el CMV pueden infectar células dentro del SNC de forma extensa, incluidas las células endoteliales, las neuronas, los astrocitos, los oligodendrocitos, las células microgliales, las células del plexo coroideo y las células ependimales, además de infectar células precursoras neurales. La infección conduce a una respuesta inflamatoria mononuclear acompañada de apoptosis, necrosis tisular y gliosis. La encefalopatía puede ser extensa y estar acompañada de células que contienen focos con cuerpos de inclusión de CMV. La destrucción del tejido conduce a atrofia cerebral, microcefalia, ventriculomegalia, parénquima y ependimalistas, lesiones cerebelosas y calcificaciones. Otros hallazgos relacionados con la patología del SNC observados con infecciones CMV congénitas incluyen pérdida auditiva neurosensorial y anomalías oculares, como coriorretinitis, atrofia óptica y anoftalmia⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

Como se describió anteriormente el CMV puede invadir el SNC durante cualquier etapa del desarrollo neurológico, resultado de una infección congénita o perinatal, y causar trastornos del desarrollo neurológico u otras enfermedades neurológicas a través de una infección viral aguda o persistente que impida la proliferación y diferenciación de las células madres neurales⁽⁸³⁾.

1-Microcefalia: La fisiopatología de la microcefalia congénita por CMV es conducida por la disminución de la masa del tejido cerebral, y, por lo tanto, contribuye a la disminución del tamaño

de la cabeza, ya que es el aumento de la masa cerebral lo que normalmente expande el cráneo fetal blando.

2-Hipoacusia neurosensorial (SNHL): La sordera neurosensorial siempre es causada por células ciliadas dañadas en la hélice coclear y las vías del nervio auditivo, lo que resulta en la percepción del sonido, la neurotransmisión y la disfunción cortical. La infección por CMV puede afectar la función auditiva y es una de las principales causas de SNHL no genético en los países desarrollados. El grado de pérdida auditiva causada por la infección por CMV puede variar de pérdida auditiva unilateral a bilateral, y la pérdida puede persistir o empeorar después del período perinatal. La misma discapacidad auditiva puede ser causada independientemente del área afectada del sistema auditivo o las fases del desarrollo del sistema auditivo afectadas por el CMV. La mayoría de los niños con infección congénita nacen asintomático pero desarrollan SNHL después del periodo perinatal ya que la sordera se retrasa o se intensifica progresivamente^(84, 85).

3-Complicaciones oftálmicas: La organogénesis del oculus uterque, la nariz y el encéfalo es un proceso co-evolutivo regulado por los mismos genes, lo que indica que el oculus uterque está estrechamente relacionado con el desarrollo del sistema nervioso. En el día 22 del desarrollo embrionario (al comienzo de la cuarta semana), el surco óptico se deriva de la cresta neural a ambos lados del prosencéfalo desarrollado a partir del tubo neural y luego inicia el desarrollo del ojo del embrión. Las enfermedades oculares causadas por la infección por CMV incluyen principalmente la retinocoroiditis, que se manifiesta como estrabismo, atrofia óptica, microftalmia, cataratas, necrosis y calcificación de la retina, ceguera y malformación de las aurículas y el disco óptico detectados por pupilografía. Sin detección, la infección sintomática por CMV puede conducir a una discapacidad visual moderada o incluso grave⁽⁸³⁾.

4-Autismo infantil: El autismo es una enfermedad representativa de los trastornos generalizados del desarrollo. Se caracteriza con disfunción social, trastornos de la comunicación, retraso del lenguaje, repeticiones conductuales estereotipadas y limitaciones de interés significativas. La infección congénita por CMV está relacionada con la aparición de autismo, y el riesgo puede ser mayor si la infección se da durante el tercer trimestre del embarazo. Los genes principales implicados en el autismo están asociados con el metabolismo, la modificación cromosómica, la regulación del ARNm, la síntesis de proteínas y la función sináptica. Además, un ambiente intrauterino anormal y la susceptibilidad genética pueden ser responsables del aumento de la

prevalencia del autismo, lo que indica que las anomalías ambientales pueden ser uno de los factores de riesgo para el desarrollo del autismo⁽⁸⁶⁻⁸⁹⁾.

Inmunidad contra Citomegalovirus

Las respuestas inmunitarias tanto humorales como celulares son importantes en las infecciones por CMV. En personas inmunocompetentes, la enfermedad clínica, si se presenta, es el resultado de una infección primaria. La reactivación y la excreción viral en las excreciones cervicales o el semen es invariablemente subclínica. En pacientes inmunocomprometidos, tanto la infección primaria como la reactivación son mucho más probables de ser sintomáticas.

Además, la infección de monocitos por CMV produce disfunción de estos fagocitos en pacientes inmunocomprometidos, lo que puede aumentar la predisposición a la sobreinfección por hongos y bacterias⁽⁹⁰⁾.

Las funciones efectoras celulares, incluidas las células asesinas naturales (NK) y los linfocitos T CD8 + citotóxicos específicos del virus, desempeñan un papel esencial en la limitación de la replicación del CMV. Estas respuestas controlan la replicación del virus durante la infección primaria y proporcionan vigilancia durante la latencia viral para limitar la reactivación. La pérdida de estas respuestas conduce a la reactivación, la propagación del virus, la infección de los órganos terminales y la enfermedad. Por lo tanto, las personas con inmunodeficiencias primarias que afectan la función de las células NK o linfocitos T, las inmunodeficiencias adquiridas, como la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o las inmunodeficiencias asociadas con la terapia para prevenir el rechazo de aloinjertos, corren el riesgo de desarrollar una enfermedad grave después de la infección por CMV. Quizás uno de los aspectos más interesantes de la relación de CMV con la célula huésped es la multitud de genes codificados por el virus que funcionan para evadir la inmunidad innata y adaptativa.

Las proteínas codificadas por estos genes regulan a la baja y degradan las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I y II y modulan la función y los receptores de las células NK. Además, varias actividades codificadas por virus previenen respuestas celulares intrínsecas a la infección, como la degradación del ADN, la inducción de interferón y la apoptosis.

El CMV codifica varias citoquinas funcionales, como la interleucina (IL) -8 y la IL-10, y los receptores de quimiocinas que modulan la respuesta inflamatoria para favorecer la persistencia del virus en el huésped. Estas funciones de evasión contribuyen a la persistencia viral al garantizar la

supervivencia de las células infectadas por el virus al limitar la actividad de los mecanismos de eliminación del huésped⁽⁴¹⁾.

Diagnostico

La infección por CMV se pueden diagnosticar mediante el aislamiento del virus en el cultivo de tejidos, la detección de antígenos virales o ácidos nucleicos virales en muestras clínicas y la evaluación de las respuestas serológicas⁽⁴¹⁾. Las muestras clínicas habituales para el estudio de CMV son: suero para detección de anticuerpos, sangre completa para estudio de la inmunidad celular y para técnicas de detección directa, y orina, saliva, sangre completa, plasma, suero, lavado broncoalveolar (LBA), líquido cefalorraquídeo y tejido para el estudio de CMV por técnicas de detección directa⁽⁹¹⁾.

Serología

Detección de IgG Anti-Citomegalovirus. Los análisis serológicos son las herramientas principales para evaluar las infecciones primarias por CMV durante el embarazo. En la actualidad, el estándar de oro para determinar las infecciones primarias es la seroconversión del CMV, que es la detección de IgG contra el CMV en una mujer embarazada no inmune conocida anteriormente.

Detección de IgM Anti-Citomegalovirus. Los anticuerpos IgM contra el CMV están presentes durante las infecciones primarias y no primarias y, por lo tanto, no son realmente informativos para determinar la seroconversión. La IgM de CMV puede persistir hasta 6 a 9 meses después de la infección, y los resultados falsos positivos pueden deberse a una IgM de reacción cruzada anormal y no específica (principalmente del virus del herpes simple [HSV], virus de la varicela-zoster [VZV] y virus de Epstein-Barr) o por la interferencia del factor reumatoide u otros trastornos autoinmunes.

Determinación de la avidéz de IgG Anti-CMV. El ensayo de avidéz de la IgG de CMV se considera una herramienta principal para fechar el momento de una infección. Esta prueba se basa en la noción de que la avidéz de la IgG aumenta con el tiempo; Las IgG de baja avidéz están asociadas con infecciones recientes, mientras que un índice de avidéz alto indica infecciones pasadas⁽³⁾.

Molecular

El ADN de CMV tiene algunas regiones homólogas al ADN humano que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar técnicas diagnósticas de laboratorio como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o sondas de hibridación. Hoy día, la PCR es la técnica molecular más empleada para la cuantificación de ADN de CMV en muestras clínicas. Concretamente, la PCR en tiempo real es el método de elección para llevar a cabo este propósito. Actualmente hay métodos moleculares completamente automatizados para determinación de carga viral de CMV. Para el diagnóstico prenatal de infección congénita, el método de elección es la PCR cuantitativa en líquido amniótico. La amniocentesis no debe practicarse antes de la semana 21 de gestación, por riesgo de falsos negativos. Está recomendada su realización si se ha producido primoinfección durante el embarazo (seroconversión, IgM, IgG, baja avidéz) o si se observan anomalías ecográficas, independientemente de si la madre ha tenido o no una infección primaria durante el embarazo, ya que CMV puede transmitirse congénitamente durante reactivación o reinfección. La presencia de ADN de CMV en líquido amniótico confirma la infección intraútero, mientras que una carga viral elevada, $> 10^5$ copias/ml en líquido amniótico, indica alto riesgo de desarrollar infección sintomática. En el recién nacido, la presencia de ADN de CMV en muestras de orina, tomadas en las 2 primeras semanas de vida, confirma el diagnóstico de infección congénita. La detección de ADN de CMV en sangre, saliva o líquido cefalorraquídeo también es diagnóstica de infección congénita, pero la sensibilidad es menor que en la orina^(45, 92, 93).

Histológica

Demonstración de la célula citomegálica: el sello histológico de la infección por CMV es la célula citomegálica, que es una célula agrandada que contiene un cuerpo de inclusión intranuclear basófilo denso, central, "ojo de búho". Las inclusiones se observan fácilmente con la tinción de Papanicolaou o hematoxilina-eosina⁽⁷⁰⁾.

Cultivo

CMV se puede cultivar en cultivos de fibroblastos humanos. Los cultivos deben incubarse durante períodos prolongados, ya que los efectos citopáticos (células refráctiles inflamadas con gránulos citoplásmicos) tienen una apariencia lenta⁽⁷⁰⁾.

Tratamiento

La farmacoterapia está reservada para pacientes inmunodeprimidos. Los principales fármacos son ganciclovir y valganciclovir⁽⁹⁴⁾.

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Cohorte

Población y área de estudio: 512 Mujeres embarazadas y sus hijos que pertenecen al territorio de salud Perla María Norori (PMN) en el período 2017-2018.

Muestra: 388 mujeres embarazadas

Criterios de inclusión:

- Mujer embarazada que iniciaran trabajo de parto en el HEODRA
- Que residían en la ciudad de León, Nicaragua.
- Que realizaron su control prenatal en el Centro de Salud Perla María Norori
- Que autorizaron participar en el estudio

Criterios de exclusión:

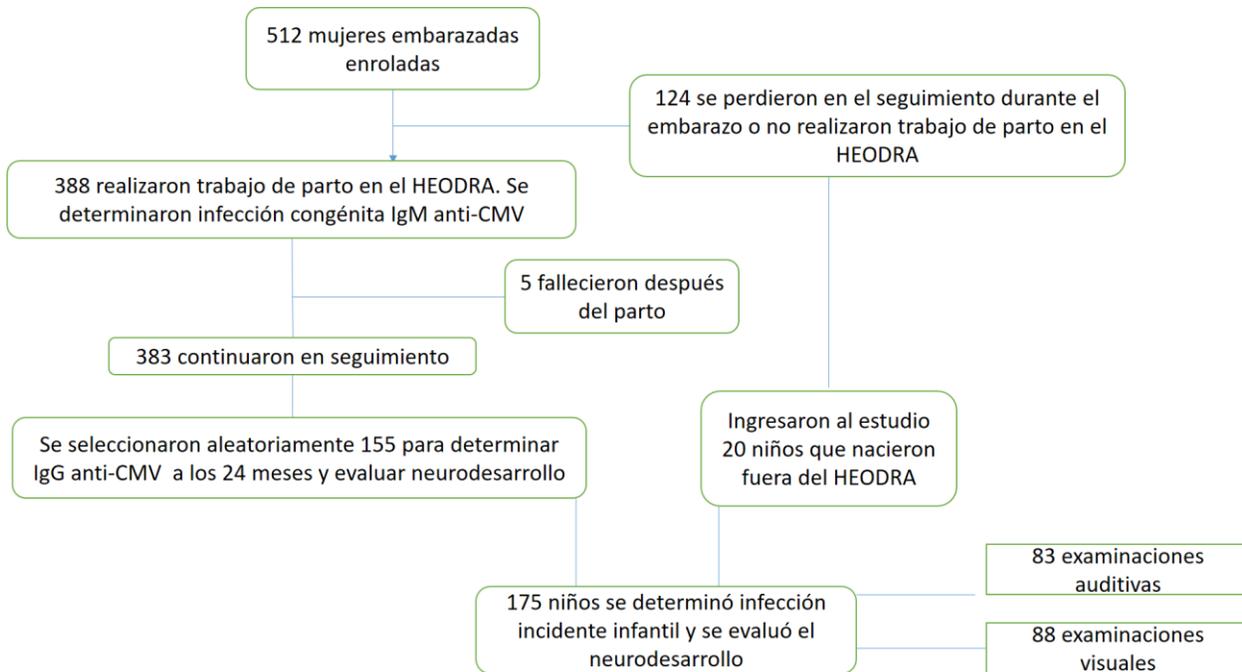
- Mujer que no estuvieron embarazada
- Que no asistieron al centro de salud
- Que no tuvieron planeado realizar trabajo de parto en el HEODRA

Recolección de información

Fuente primaria: se obtuvo mediante la información brindada por los participantes a través de una entrevista personal.

Instrumento: se utilizó cuestionario elaborado y estructurado que nos permitirá conocer aspectos generales, situación demográfica y socioeconómica, edad, de igual manera nos permitirá conocer la situación de salud que presente la madre en cada visita de control prenatal. Se utilizó una ficha elaborada para ingresar información de los datos importantes sobre el momento del parto y aspectos clínicos del bebé al nacer (Ver anexos 5 y 6).

Flujograma 1: Descripción del seguimiento de los niños desde el parto a los 24 meses de vida en la cohorte de León, Nicaragua, 2017 – 2018.



Indicador de pobreza

Para el presente estudio se utilizó el índice de pobreza desarrollado por el Centro de Investigación en Demografía y Salud (CIDS) de la UNAN-León, y ha sido validado para su uso en el municipio de León, Nicaragua⁽⁹⁵⁾ El estado socioeconómico del hogar se estimó mediante las Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI), el cual está basado en infraestructura de la vivienda, escolaridad de los habitantes, índice de dependencia y disponibilidad de servicios sanitarios. La infraestructura de la vivienda se consideró insatisfecha si la casa tenía piso de tierra y las paredes no eran de cemento, la escolaridad se consideró para los padres del niño, la puntuación era insatisfecha si no cumplían el ciclo básico de bachillerato, la tasa de dependencia económica se definió como insatisfecha para más de 2 personas desempleadas por cada persona empleada del hogar, las condiciones sanitarias se consideraron insatisfechas si no poseían agua potable y excretas por tubos de aguas negras. Éstos indicadores con puntaje de “0” para satisfecho y “1” para insatisfecho se sumaron para formar un índice de 0-1 y se consideraba No pobre, 2-3 se consideraba Pobre y más de 3 se consideraba Extremadamente pobre.

Recolección y procesamiento de la muestra

Sangre de cordón umbilical: Se recolectó un total de 388 muestras de cordón umbilical (10-100 ml) al momento del parto para la búsqueda de IgM-CMV

Orina: Se recolectó un total de 51 muestras de orina de infantes de 3 meses de edad para evaluar excreción viral.

Sangre de 24 meses: Se seleccionó aleatoriamente un total de 175 niños para realizar búsqueda de IgG-CMV, se recolectó 4ml de sangre venosa de los participantes a los 2 años de edad.

Detección de IgM-CMV por ELISA

Todas las muestras de sangre de cordón umbilical (n=388) fueron testeadas mediante la prueba de ELISA para CMV-IgM (REF 51103, HUMAN) está destinada para la detección de Anticuerpos clase IgM contra CMV en suero humano. Es una clásica técnica de ELISA tipo sándwich, los pocillos están recubiertos con Antígenos CMV derivados de cultivos celulares (Tabla 4).

Tabla 4. Soluciones para la técnica de ELISA CMV IgM proveídas por el fabricante.

Soluciones	Contenido	Preparación
DIL-M	Buffer de dilución de la muestra. Buffer fosfato, NaCl, Albúmina, Anti-IgG humana	Listo para usar
CON	Conjugado Anti-IgM Conjugado Anti-IgM humano, marcado con peroxidasa.	Listo para usar
WS20X	Solución de lavado Buffer TRIS NaCl	Realizar dilución 1:19, siendo 1 porción de solución WS20X y 19 porciones de agua desionizada
SUB	Sustrato 3,3',5,5-Tetramethylbenzidin (TMB) Peróxido de Hidrogeno	Listo para usar
STOP	Solución de parada. Ácido sulfúrico	Listo para usar
NC	Control IgM negativo humano	Listo para usar
PC	Control IgM positivo humano	Listo para usar

Procedimiento:

- Poner las muestras de suero a temperatura ambiente antes del uso.
- Diluir el suero del paciente 1+100 con DIL-M (10µL de muestra + 1 mL del diluyente), mezclar vigorosamente, incubar por 5 minutos.
- Colocar en los micropocillos 100µL de la muestra, control positivo, control negativo y blanco (DIL-M sin muestra).
- Cubrir con tiras adhesivas, incubar por 30 minutos a 17-25°C
- Lavar 4 veces con 350µL de WS 1X
- Colocar 100µL del CON, cubrir con tiras adhesivas, incubar por 30 minutos 17-25°C
- Lavar 5 veces con 350µL de WS 1X
- Colocar 100µL de SUB, incubar por 15 minutos a 17-25°C en oscuridad.
- Colocar 100 µL de STOP para proceder a la lectura de Absorbancia.
- Medir la Absorbancia a 450nm con longitud de onda de 630-690 nm
- Determinar el punto de corte para determinar el resultado de los pacientes.

Detección de IgG-CMV por ELISA

Todas las muestras de sangre venosa seleccionadas (n=175) para la búsqueda de IgG en niños de 24 meses se realizó mediante la prueba de ELISA IgG-CMV (REF 51203, HUMAN) está destinada para la detección de Anticuerpos clase IgG contra CMV en suero humano. Es una clásica técnica de ELISA tipo sándwich, los pocillos están recubiertos con Antígenos CMV derivados de cultivos celulares (Tabla 5).

Tabla 5. Soluciones para la técnica de ELISA Citomegalovirus IgG proveídas por el fabricante.

Soluciones	Contenido	Preparación
DIL-G	Buffer de dilución de la muestra. Buffer fosfato, NaCl, Albúmina.	Listo para usar
CON	Conjugado Anti-IgG Anticuerpos Anti-IgG humano, marcado con peroxidasa.	Listo para usar
WS20X	Solución de lavado Buffer TRIS NaCl	Realizar dilución 1:19, siendo 1 porción de solución WS20X y 19 porciones de agua desionizada
SUB	Sustrato 3,3',5,5-Tetramethylbenzidin (TMB) Peróxido de Hidrogeno	Listo para usar
STOP	Solución de parada. Ácido sulfúrico	Listo para usar
NC	Control IgG negativo humano	Listo para usar
PC	Control IgG positivo humano	Listo para usar

Procedimiento:

- Poner las muestras de suero a temperatura ambiente antes del uso.
- Diluir el suero del paciente 1+100 con DIL-G (10µL de muestra + 1 mL del diluyente), mezclar vigorosamente, incubar por 5 minutos.
- Colocar en los micropocillos 100µL de la muestra, control positivo, control negativo y blanco (DIL-G sin muestra).
- Cubrir con tiras adhesivas, incubar por 30 minutos a 17-25°C
- Lavar 4 veces con 350µL de WS 1X

-Colocar 100µL del CON, cubrir con tiras adhesivas, incubar por 30 minutos 17-25°C

-Lavar 5 veces con 350µL de WS 1X

-Colocar 100µL de SUB, incubar por 15 minutos a 17-25°C en oscuridad.

-Colocar 100 µL de STOP para proceder a la lectura de Absorbancia.

-Medir la Absorbancia a 450nm con longitud de onda de 630-690 nm -Determinar el punto de corte para determinar el resultado de los pacientes.

Cálculos del ensayo:

Valores promedios de la Absorbancia del NC y del PC calculado de la siguiente manera.

$$\text{MNC} = \frac{A_{1450} + A_{2450}}{2}$$

$$\text{MPC} = \frac{A_{1450} + A_{2450}}{2}$$

El punto de corte (COV) se calcula usando la siguiente formula: **COV=MNC+ (0.2 X MPC)**

-Parámetros a considerar para validación del ensayo IgM-CMV:

1. Blanco substrato $A_1 < 0,150$
2. $\text{MNC} \leq 0,250$
3. $\text{MPC} \geq 0,400$
4. $\text{MPC: MNC} \geq 3$

-Parámetros a considerar para validación del ensayo IgG-CMV:

1. Blanco substrato $A_1 < 0,150$
2. $\text{MNC} \leq 0,250$
3. $\text{MPC} \geq 0,750$
4. $\text{MPC: MNC} \geq 5$

Tabla 6: Parámetros para la interpretación de los resultados

A₄₅₀ (Paciente) ≥ COV - 15%	Anti-CMV-IgM / IgG positivo
A₄₅₀ (Paciente) ≤ COV - 15%	Anti-CMV-IgM / IgG negativo

Detección molecular de CMV

Se procesó un total de 51 muestras de orina provenientes de niños de 3 meses de edad para la búsqueda de excreción viral de CMV mediante un PCR en tiempo real con previa extracción de ADN.

Extracción de ADN

La purificación de ADN se realizó con un kit comercial QIAamp DNA mini kit 51304, cuyo principio se basa en el aislamiento de ADN en muestras de tejido humano con procedimientos rápidos de centrifugado. El ADN se une específicamente a la membrana de gel de sílice QIAamp, los inhibidores de la PCR, tales como cationes y proteínas divalentes se eliminan completamente en dos pasos de lavado eficientes, dejando el ADN puro diluido en un Eluyente provisto por el Kit.

Procedimiento:

- Pipetear 20µL de Proteasa K en un tubo eppendorf y agregar 200µL del suero.
- Añadir 200 µL de buffer AL a cada muestra
- Incubar a 56°C por 10 minutos
- Dar Vortex por 15 segundos y centrifugar a máxima velocidad por 1 minuto
- Pipetear 200 µL de etanol (96-100%) a la muestra, dar vortex por 15 segundos y centrifugar a máxima velocidad.
- Aplicar la mezcla anterior en una columna de centrifugación QIAamp sin humedecer el borde, cerrar la tapa y centrifugar a 8000rpm por 1 minuto
- Colocar la columna de centrifugación en un tubo de recolección limpio y desechar el tubo que contiene el filtrado anterior.

- Abrir la columna y agregar 500 µL del buffer AW1, cerrar la tapa y centrifugar a 8,000rpm por 1 minuto. Colocar la columna en un tubo colector limpio y descartar el que contiene el filtrado.
- Abrir la columna y agregar 500 µL del buffer AW2, cerrar la tapa y centrifugar a 14,000rpm por 1 minuto. Colocar la columna en un tubo colector limpio y descartar el que contiene el filtrado.
- Centrifugar nuevamente a máxima velocidad por 1 minuto y eliminar el filtrado en el tubo colector.
- Colocar la columna en un tubo eppendorff estéril, descartar el tubo con el filtrado. Abrir la columna y agregar cuidadosamente 200 µL de buffer AE. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto y centrifugar a 8,000rpm por 1 minuto. El producto está listo para usarse.
- Guardar el producto de la centrifugación (ADN) a -20°C si no se harán los análisis el mismo día

Detección Genómica de CMV

- 1- Descongelamiento de las muestras guardadas a -20°C
- 3- Preparar el Master mix (Tabla 7)
- 4- Agregar 20 µL del Master Mix en cada pozo de la placa a utilizar.
- 5- Agregue 5 µL de ADN viral, estándar o Agua en cada pozo.
- 6- Mezclar y centrifugar a 4000 rpm por 3 min.
- 7- Sellar los pocillos.
- 8- Colocar la placa en el equipo de PCR en tiempo real ABI 7500 (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA)
- 9- Correr el siguiente programa: 10 min a 95°C, 45 ciclos de 15 segundos a 95°C y 1 min a 60°C, la muestra se consideró positiva si se detectaron uno o más ge por reacción en ambas pruebas de PCR.

Tabla 7. Componentes pata la mezcla de PCR-RT para Citomegalovirus

Componente	[Final] (nM)	Vol x Rxn
ITaq Univrsal	1X 900 nM	10
Forward	900 nM	1
Reverse	900 nM	1
Sonda 250 nM	250 nM	1
Agua libre de nucleasas		7
ADN extraído		5
Total		25

Especificaciones de los Primer

Los cebadores de CMV corresponden a la región inmediata muy conservada del exón 5 (IE-2) (Tabla 8)

Tabla 8. Especificación de Primers y sonda para Citomegalovirus

	Secuencia (5' – 3')
Forward	GAG CCC GAC TTT ACC ATC CA
Reverse	CAG CCG GCG GTA TCG A
Sonda	VIC - ACC GCA ACA AGA TT - MGBNFQ

Control de calidad: Se utilizará control positivo interno de un bebé con sospecha clínica de infección por CMV

Evaluación del Neurodesarrollo

Se realizó el test de Mullen de aprendizaje temprano (MSEL por sus siglas en inglés) a los 2 años de edad por personal entrenado. Éste test brinda una evaluación validada del neurodesarrollo, el cual mide cinco dominios que incluyen Función Motora Fina (FMF), Función Motora Gruesa (FMG), Recepción visual (RV), Lenguaje Receptivo (LR) y Lenguaje expresivo (LE). Consiste en actividades realizadas con el niño que son presentados en un orden jerárquico de dificultad, los cuales son calificados si completan la tarea en cada elemento. Éste instrumento provee categorías descriptivas que corresponden a los puntajes generales, los cuales son: Muy alto, Por encima del promedio, Promedio, Por debajo del promedio y Muy bajo⁽⁹⁶⁾.

Evaluación de la capacidad visual

La capacidad visual fue evaluada por médicos especializados a 88 niños de la cohorte, los parámetros examinados corresponden a; examen de la vista funcional, hitos del desarrollo visual, medición de la agudeza visual, examen ocular externo, evaluación del segmento anterior, dilatación, refracción y evaluación del segmento posterior (fondo de ojo). En dependencia de los hallazgos encontrados se evaluó función visual, refracción y hallazgos oculares como apropiada o no apropiada para la edad.

Evaluación de otoemisiones acústicas

El examen de otoemisiones acústicas fue realizada en un total de 83 niños de la cohorte, los parámetros que se evaluaron fueron: exploración clínica donde se observó las características externas del conducto auditivo externo y coloración, integridad, contorno y movilidad de las membranas timpánicas, luego se realizó la medición de otoemisiones acústicas. Los resultados de las características externas y otoemisiones acústicas fueron evaluadas de manera global como Normal o Patológica.

Consideraciones éticas

Este estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética para las investigaciones biomédicas de la UNAN-León. Las madres que participaron dieron su aprobación al firmar el consentimiento informado (ver anexos 1, 2, 3 y 4), donde se les explicó los alcances del estudio, beneficios y perjuicios de participar en el mismo.

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico **IBM SPSS Statistics 21**. Los estadísticos de frecuencia se utilizaron para la variable dependiente (infección incidente), se estableció la asociación de infecciones incidentes con estadísticos de chi cuadrado para las variables categóricas independientes, para las variables cuantitativas se realizó diferencias de medias y pruebas de normalidad con los estadísticos de Kolmogorov y Smirnov; para las variables cuya distribución fue no normal se realizó pruebas no paramétricas para 2 muestras independientes usando la prueba de los rangos con signo de **Wilcoxon**. Se realizó un modelo de regresión logística múltiple para las variables que mostraron asociación estadística. Se considera significancia estadística si el valor de $p < 0.05$.

Las puntuaciones de T de VR, FM, RL y EL se combinan para formar una Puntuación Cognitiva Compuesta, el cual es la sumatoria de cada dominio para determinar el rendimiento cognitivo. Éstas se compararon en base a las características sociodemográficas de cada grupo de incidentes y no incidentes para CMV, éstas se compraron mediante una prueba de regresión logístico multinomial. Las distribuciones categóricas de cada subdominio de las puntuaciones MSEL basadas en los límites normativos de los EE. UU. (Muy alto, por encima del promedio, promedio, por debajo del promedio, muy bajo) se calcularon a los 24 meses.

Se utilizaron modelos ajustados de regresión logística multinomial donde se utilizó variables categóricas agrupadas en Normal (promedio y encima del promedio) y bajo (por debajo del promedio

y muy baja). La variable de referencia fue No incidente para CMV. Según las tendencias de los datos observados se incluyó sexo, la edad maternal y los indicadores de pobreza en el modelo ajustado. Se calcularon intervalos de confianza del 95% para los efectos fijos del modelo.

RESULTADOS

Características del parto. Entre Febrero 2017 a Noviembre del 2018 se enrolaron un total de 512 mujeres embarazadas en el Centro de Salud Perla Maria Norori, de las cuales 388 realizaron trabajo de parto en el HEODRA (Figura 1). Las características del parto fueron las siguientes, promedio de semanas de gestación = 38.3 (SD: 1.7), parto vaginal = 57.6%, cesaria = 42.4%. El 82.2% de los neonatos tuvo peso normal, 98.7% (383/388) de los niños nacieron vivos y 1.3% (5/388) fallecieron. Todos los niños fallecidos fueron del sexo femenino, 4 de ellos nacieron a término, 2 presentaron anencefalia y 1 hidrocefalia. La inspección clínica en los nacidos vivos reveló que el 95% tuvo una puntuación Apgar normal (8/10) al minuto y el 97% tubo una puntuación Apgar normal (9/10) a los 5 minutos, el 1% (4/383) nació con hipotonía, 0.26% (1/383) con hipertonia/espasticidad y 0.26% (1/383) con microcefalia.

Infecciones neonatales por Citomegalovirus. En este estudio se examinó la presencia de IgM anti-CMV en un total de los 388 plasmas recolectados de la sangre del cordón umbilical de los niños que nacieron en el hospital, resultando todas las muestras negativas indicando ausencia de infección congénita por CMV en esta cohorte (Tabla. 1). Sin embargo, los análisis de PCR demostraron infección temprana por CMV en 14% (7/51) de los niños que aportaron una muestra de orina a los 3 meses de edad (Tabla. 1).

Incidencia de infecciones por Citomegalovirus en los primeros 2 años de vida. Para explorar las infecciones incidentes por CMV en los primeros 2 años de vida, mediante análisis de IgG anti-CMV, se seleccionaron de forma aleatoria un total de 175 niños, encontrándose una tasa de infección de 0.31 infecciones/niño/año (110 infecciones/175/2 años), (Tabla. 9).

Tabla 9: Porcentaje de infección por Citomegalovirus mediante análisis serológicos y moleculares en una cohorte de niños de León, Nicaragua, 2017 – 2018.

Parámetro	Resultados	N	%
IgM cordón umbilical (n = 388)	Positivo	-	0
	Negativo	388	100
PCR de CMV en Orina (n = 51)	Positivos	7	13.7
	Negativo	44	86.3
IgG anti-CMV a los 24 meses (n = 175)	Positivo	110	62.9
	Negativo	65	37.1

Asociación entre las características del recién nacido y la incidencia por Citomegalovirus.

De los 175 niños incluidos en los análisis de infección incidente, 155 tenían información en el resumen del parto, de estos, 100 fueron clasificados con infección incidente y 55 como no-incidente. En este estudio encontramos que a menor edad materna mayor riesgo de infección por CMV en los primeros 2 años de vida (22.9 vs 25.9; DM, -2.96, IC: -4.7, -1.2, $p = 0.001$) (Tabla No.10). Después de comparar cada uno de los parámetros del resumen del parto y la inspección clínica con las infecciones incidentes y no incidentes, incluyendo, peso al nacer, talla, perímetro cefálico y sexo no encontramos diferencias estadísticas significativas (Tabla. 10).

Tabla 10: Condiciones del nacimiento y características clínicas de los grupos de infecciones incidentes y no incidentes para Citomegalovirus a los 2 años de edad (n=155)

Condiciones del nacimiento	Incidentes (n = 100)	No incidentes (n = 55)	Diferencia de medias. (95% CI)	ODDS RATIO. (95% CI)	p
Edad Materna, n (SD)	22.94 (5.4)	25.9 (5.9)	-2.96 (-4.7, -1.2)	-	0.001
Sexo n (%) Femenino	49 (31.6)	29 (18.7)	-	1.2 (0.616, 2.342)	0.592
Masculino n (%)	51 (32.9)	26 (16.8)	-	-	-
Parto vaginal n (%)	55 (35.5)	33 (21.3)	-	0.82 (0.416, 1.603)	0.555
Cesárea n (%)	45 (29)	22 (14.2)	-	-	-
Peso, gramos, Media, (SD)	3041.71 (452.1)	3046.2 (453.3)	-4.48 (-160.184, 140.401)	-	0.784
Edad gestacional, Media, SD	38 (1.6)	38.5 (1.5)	-0.16 (-0.7, 0.370)	-	0.549
Circunferencia cefálica, cm, media (SD)	33.7 (1.4)	33.9 (1.9)	-0.15 (-0.6, 0.3)	-	0.53
Talla, cm, mean (SD)	49.6 (2.6)	49.9 (3.2)	-0.2 (-1.2, 0.7)	-	0.519
Talla para la edad, WHO Z-score, Media (SD)	0.036 (1.4)	0.2 (1.7)	-0.16 (-0.7, 0.3)	-	0.439
Peso para la edad, WHO Z-score, Media (SD)	-0.5 (0.97)	-0.5 (0.93)	-0.04 (-0.3, 0.25)	-	0.96

Asociación entre las características socio-económicas y la incidencia de infección por Citomegalovirus.

Encontramos que el 73.1% de los participantes estaban en condiciones de pobreza, incluyendo condiciones insatisfechas para los indicadores sanitarios (49.7%), de vivienda (39.4%), educación (69.1%), ocupación (65.7%) y hacinamiento (32%). Después de estratificar según la incidencia de infección a CMV y realizar un análisis de regresión longitudinal, encontramos que los indicadores sanitarios (OR, 3.86; IC: 1.355, 11.054, $p = 0.012$) fueron factores de riesgo para la infección por CMV en los primeros 2 años de vida, sin embargo, las condiciones

insatisfechas de vivienda (OR: 0.388, IC: 0.169, 0.892, $p=0.012$) mostraron un factor de protección para la infección por CMV (Tabla 11).

Tabla 11: Asociación entre las condiciones socioeconómicas y las infecciones incidentes por Citomegalovirus en los primeros 2 años de vida ajustado a edad maternal y sector de procedencia. (n=175)

Categorías		Incidentes (n = 110)	No incidentes (n = 65)	ORc (95% CI)	p	ORaj (95% CI)	p
Índice de Pobreza	Pobre	80 (72.7)	48 (73.8)	0.944 (0.472, 1.891)	1	-	-
	No pobre	30 (27.3)	17 (26.2)				
Sanitarias	Insatisfecho	60 (54.5)	27 (41.5)	1.689 (0.909, 3.139)	0.12	3.86 (1.355, 11.054)	0.012
	Satisfecho	50 (45.5)	38 (58.5)				
Vivienda	Insatisfecho	38 (34.5)	31 (47.7)	0.579 (0.310, 1.082)	0.11	0.388 (0.169, 0.892)	0.026
	Satisfecho	72 (65.5)	34 (52.3)				
Educación	Insatisfecho	76 (69.1)	45 (69.2)	0.993 (0.511, 1.930)	1	-	-
	Satisfecho	34 (30.9)	20 (30.8)				
Ocupación	Insatisfecho	69 (62.7)	46 (70.8)	0.695 (0.359, 1.344)	0.32	-	-
	Satisfecho	41 (37.3)	19 (29.2)				
Hacinamiento	Insatisfecho	29 (26.4)	27 (41.5)	0.504 (0.263, 0.966)	0.05	-	-
	Satisfecho	81 (73.6)	38 (58.5)				

Asociación entre el neurodesarrollo del infante y la incidencia de infección por Citomegalovirus. En un análisis no ajustado se comparó la infección incidente y no incidente por la CMV y el neurodesarrollo a los 2 años de edad utilizando la Escala del Aprendizaje Temprano de Mullen, encontrándose que 11% de ambos grupos tenían un puntaje de aprendizaje temprano (ELC) por debajo del promedio, indicando que la infección temprana por CMV no está asociada con el neurodesarrollo en los primeros 2 años de vida. Tampoco se observaron diferencias estadísticas significativas entre la infección incidente y la no incidente con el desempeño normal de las habilidades motora gruesa (92.7% vrs 92.2%), recepción visual (92.7% vrs 82.8%), motora fina (74.3% vrs 64.1%), lenguaje receptivo (89% vrs 85.9%) y el lenguaje expresivo (78% vrs 62.5%) (Tabla 12).

Tabla 12: Evaluación del neurodesarrollo de niños de 2 años de edad con infecciones incidentes para Citomegalovirus y un grupo no incidentes, basados en el test de Mullen de Aprendizaje temprano. (n=173)

Área	Categoría	Infección por CMV (N= 173)		ORc (95% IC)	p
		Incidente n (%)	No-Incidente n (%)		
Motora gruesa	Normal	101 (92.7)	59 (92.2)	1.332 (0.368, 4.83)	0.662
	Baja	8 (7.3)	5 (7.8)		
Recepción visual	Normal	101 (92.7)	53 (82.8)	0.501 (0.156, 1.610)	0.246
	Baja	8 (7.3)	11 (17.2)		
Motora Fina	Normal	81 (74.3)	41 (64.1)	0.846 (0.358, 1.996)	0.702
	Baja	28 (25.7)	23 (35.9)		
Lenguaje Receptivo	Normal	97 (89)	55 (85.9)	2.402 (0.605, 9.54)	0.213
	Baja	12 (11)	9 (14.1)		
Lenguaje Expresivo	Normal	85 (78)	40 (62.5)	0.532 (0.217, 1.304)	0.168
	Baja	24 (22)	24 (37.5)		
ELC	Normal	90 (82.6)	44 (68.8)	0.612 (0.159, 2.37)	0.477
	Baja	19 (17.4)	20 (31.3)		

La infección por Citomegalovirus no afecta la capacidad visual y auditiva en los primeros 2 años de vida. De los 175 niños con análisis de infección incidente por CMV, 82 tuvieron evaluación auditiva y 88 evaluación de la función visual. Todos los niños examinados tuvieron un resultado normal de la capacidad auditiva y visual, con excepción de 2 niños que tenían problemas en la función visual, 1 con infección incidente y el otro con no-incidente (Tabla 13).

Tabla 13: Efecto entre las infecciones incidentes y no incidentes por CMV sobre la capacidad visual y auditiva en niños de 2 años de edad en una cohorte de León Nicaragua, 2017 - 2018.

Examinación	Resultado	Infección por CMV		OR (IC 95%)	p
		Incidente n (%)	No-Incidente n (%)		
Examinación auditiva (n = 82)	Normal	54 (65.9)	28 (34.1)	-	-
	Patológico	0 (0)	0 (0)		
Función visual (n =88)	Apropiada	57 (64.8)	29 (33)	0.794 (0.125, 5.045)	0.807
	No apropiada	1 (1.1)	1 (1.1)		

DISCUSIÓN

Este estudio evaluó el efecto de la exposición al CMV, durante la vida fetal y la primera infancia, sobre el neurodesarrollo, un tema inexplorado en Nicaragua y de gran importancia en la salud del neonato. Esta cohorte involucró un total de 388 mujeres embarazadas y sus bebés, así como el análisis sobre neurodesarrollo en 155 niños a los 2 años de vida. En la literatura revisada no encontramos antecedentes de la tasa infección congénita por CMV en Nicaragua, tampoco de la detección neonatal (< 3 meses) del virus en orina o de la incidencia de CMV en la primera infancia (≤ 2 años de vida).

En este estudio no se encontró infección congénita por CMV en 388 plasmas de cordón umbilical, lo que sugiere infección limitada del virus durante el embarazo, consideramos que para tener un estimado de infecciones neonatales en esta población será necesario ampliar la muestra de estudio y los años de estudio ya que los estudios a nivel global reportan tasas de infección neonatal, muy bajas, en promedio del 0.7% para los países Europeos, 1.5% para América, 2.3% para Asia y 5.5% para África (Ver página 16). Es probable que la infección por CMV en las mujeres embarazadas de Mesoamérica sea muy limitado o presente variaciones temporales, por ejemplo, *Alvarado-Esquivel C, et al.*,⁽⁶⁵⁾ en México no encontraron presencia de IgM en 289 mujeres al momento del parto, pero *Conde-Ferrández L, et al.*⁽⁵⁹⁾, estimaron el 0.86% entre el 2010 y 2011 en 345 neonatos. La mayoría de los estudios de otros países donde demostraron infección congénita, reportaron tasas muy bajas y en gran número de testeados, como el caso de *Yamada, H, et al.*⁽⁴⁷⁾ quienes siguieron una cohorte en Japón por 9 años ($n = 11,736$) y encontraron una tasa de infección del 0.48%, resultados similares reportaron en la India *Viswanathan R, et al.*⁽⁹⁷⁾. Otro factor importante sobre las bajas tasas de infección es la respuesta inmunológica desarrollada por las madres ante la infección persistente, dado que las infecciones ocurren en los primeros años de vida y el virus es ubicuo es muy probable que más del 90% de las madres en este estudio hayan desarrollado protección inmunológica.

Otro alcance de estudio fue demostrar por primera vez la detección del genoma viral del CMV en muestra de orina de niños nicaragüenses, mediante la técnica molecular de PCR, es decir, el 14% de los infantes tuvo infección perinatal o postnatal. Estos resultados sugieren que los niños son altamente susceptibles a la primera infección y que, además, existe una alta circulación de virus en nuestro entorno. De hecho, el CMV podría ser ubicuo, por ejemplo, en Francia *Alain S., et al.*⁽⁶³⁾,

encontraron una proporción de infección en saliva del 31.8% entre niños de 3 a 6 meses, de la misma manera un estudio realizado en China por *Li W, et al.*⁽⁶²⁾, encontraron una proporción de 35.23% entre niños de 28 días a 3 meses de edad, además un estudio realizado en Japón por *Watanabe M, et al.*⁽⁴⁸⁾, encontraron el 40% de infecciones en niños menores de 1 año.

La sugerencia de una alta circulación del CMV en la población estudiada es demostrada por la prevalencia de 63% a los 2 años de edad, resultados similares encontraron en Japón *Watanabe M, et al.*⁽⁴⁸⁾, quienes observaron que el 62% de niños de 2 años estaban excretando CMV en saliva. Es posible que las tasas de infección varíen de un país a otro, en China por ejemplo *Li W, et al.*⁽⁶²⁾, encontraron menor porcentaje de infecciones, siendo de 24.92% en niños de 2 a 3 años y en Francia *Alain S., et al.*⁽⁶³⁾, presentan el 40.2% de infecciones en niños de 18 a 24 meses.

La prevalencia de infecciones por CMV es mayor en países en vías de desarrollo, principalmente en el sector socioeconómico pobre ya que no satisfacen las necesidades sanitarias y ambientales para evitar adquirir la infección, en nuestro estudio demostramos que el 73.1% de los participantes se encontró en pobreza, cuyos indicadores evaluados nos sugiere que las condiciones sanitarias insatisfechas es una condición de riesgo para adquirir la infección a temprana edad ($p=0.003$). También observamos que cuando las condiciones de la vivienda son insatisfechas el riesgo de infección disminuye lo que resulta contradictorio, ya que otros estudios realizados en Estados Unidos indican que las condiciones de pobreza son un factor de riesgo para la infección por CMV, como es el caso de *Lantos P.M, et al.* y *Colugnati FA, et al.*^(98, 99). Dado que existe la posibilidad de variables confusoras, ajustamos el análisis de la vivienda con la variable edad de la madre y procedencia (urbano o rural) y la asociación continúa siendo significativa, dado que el 73% de las madres estudiadas viven en pobreza es muy probable el análisis no tenga suficiente poder para establecer dicha asociación. Es importante mencionar que todas las madres participantes en este estudio fueron captadas en el puesto de salud PMN y pertenecen a áreas rurales o semiurbanas.

Otro dato importante observado en este estudio es que la edad maternal es un factor clave, demostrando que mientras más joven es la madre, el niño tiene mayor probabilidad de adquirir una infección temprana por CMV ($p=0.001$), otros estudios han mostrado tendencias similares⁽¹⁰⁰⁾, hay diversos factores que pueden estar relacionado con éste hallazgo, como el inicio temprano de la vida sexual activa debido a la poca educación sexual, la actividad sexual en sí y la cantidad de compañeros sexuales, éstos parámetros no fueron considerados en este estudio.

Si bien los niños que nacen con infección sintomática por CMV pueden presentar microcefalia, defectos en la capacidad visual y auditiva, así como, coriorretinitis, ictericia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia y petequias, el 90% son asintomáticos. Las secuelas a largo plazo pueden ser deficiencia intelectual, pérdida auditiva neurosensorial y discapacidad visual, además hay estudios que indican autismo infantil. En este estudio la evaluación auditiva y visual no demostró diferencias significativas entre el grupo con infecciones incidentes por CMV y no incidentes, por lo tanto, se puede presumir que los niños evaluados infectados a temprana edad no tuvieron ningún daño visual y auditivo a los 2 años de edad. De la misma manera lo presentaron *Jim WE, et al.*⁽¹⁰¹⁾, quienes dieron seguimiento a 55 niños con infección postnatal sintomática transmitida por la leche materna, éstos no experimentaron efectos adversos en el estado neurológico y función auditiva a los 2 años de edad.

En relación al efecto de la infección temprana sobre el neurodesarrollo, este estudio no encontró asociación entre la infección incidente por CMV y las capacidades motoras, lenguaje expresivo y receptivo y recepción visual. Resultados similares fueron mostrados por *Gunkel J. et al.* en Holanda, en su estudio incluyeron 356 niños pre-término de los cuales el 14% habían adquirido la infección por CMV a los 16 meses de edad y no encontraron asociación con el neurodesarrollo y la capacidad auditiva, el seguimiento de estos niños se realizó hasta los 6 años de vida⁽¹⁰²⁾. En contraste, los resultados, *Yadav SS, et al.*, en la India dieron seguimiento a 6 niños con infección neonatal por CMV, de los cuales cuatro presentaron retraso en el neurodesarrollo, dos pérdida auditiva neurosensorial, uno coriorretinitis, demostrando que las infecciones muy tempranas pueden causar afectaciones en el neurodesarrollo, la visión y la audición⁽¹⁰³⁾.

Aunque la muestra analizada en este estudio incluyó 388 madres y sus bebés, se recomienda incrementar el tamaño de la muestra para determinar la incidencia de la infección congénita por CMV en Nicaragua, los datos presentados indican que la infección congénita en Nicaragua es poco frecuente.

CONCLUSIONES

En este estudio no se encontró infección congénita por CMV en 388 plasmas de cordón umbilical, lo que sugiere baja susceptibilidad del virus durante el embarazo, sin embargo, se demostró una alta circulación viral por la presencia del 14% de excreción de CMV en orina a los 3 meses de edad, además a los 2 años, el 63% de los infantes ya habían cursado con una infección incidente por CMV.

El 73% de los participantes del estudio se encontraba en condiciones de pobreza, y se determinó asociación estadísticamente significativa entre infecciones incidentes por CMV y los indicadores sanitarios insatisfechos (OR: 3.86 IC, 1.355, 11.054, $p = 0.012$), demostrando 3 veces más riesgo de adquirir la infección a temprana edad, de igual manera se demostró que los niños cuyas madres eran muy jóvenes estaban más propensos a adquirir la infección antes de los 2 años de edad (DM: -2.96 IC: -4.7, -1.2, $p = 0.001$).

La evaluación del desarrollo neurológico de los niños con infecciones incidentes y no incidentes no evidenciaron diferencias significativas, por lo tanto, no existe un efecto de infecciones incidentes por CMV sobre el neurodesarrollo en nuestro estudio, además, los niños con infecciones incidentes no presentaron daño en la función visual ni presentaron sordera auditiva neurosensorial a los 2 años de edad.

RECOMENDACIONES

Las bajas tasas de incidencia de infección por CMV en la etapa fetal reportadas a nivel global y la ausencia de infección fetal reportada en este estudio sugieren ampliar el tamaño de muestra para determinar el verdadero impacto de CMV en la salud del neonato.

Dado que las malformaciones congénitas reportadas en este estudio no se atribuyen a la infección por CMV durante el embarazo se sugiere completar el análisis de TORCH incluyendo Zika.

Dado que CMV se asocia con abortos espontáneos las nuevas cohortes deberían considerar el muestreo trimestral durante el embarazo para establecer el efecto del CMV en las etapas tempranas del embarazo.

REFERENCIAS

1. Brizić I, Šušak B, Arapović M, Huszthy PC, Hiršl L, Kveštak D, et al. Brain-resident memory CD8+ T cells induced by congenital CMV infection prevent brain pathology and virus reactivation. *European Journal of Immunology*. 2018;48(6):950-64.
2. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Reviews in medical virology*. 2007 Jul-Aug;17(4):253-76. PubMed PMID: 17579921. Epub 2007/06/21. eng.
3. Saldan A, Forner G, Mengoli C, Gussetti N, Palu G, Abate D. Testing for Cytomegalovirus in Pregnancy. *Journal of clinical microbiology*. 2017 Mar;55(3):693-702. PubMed PMID: 28031434. Pubmed Central PMCID: PMC5328437. Epub 2016/12/30. eng.
4. Marsico C, Kimberlin DW. Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment. *Italian journal of pediatrics*. 2017 Apr 17;43(1):38. PubMed PMID: 28416012. Pubmed Central PMCID: PMC5393008. Epub 2017/04/19. eng.
5. Zamora MR. DNA viruses (CMV, EBV, and the herpesviruses). *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2011 Aug;32(4):454-70. PubMed PMID: 21858750. Epub 2011/08/23. eng.
6. Ludwig A, Hengel H. Epidemiological impact and disease burden of congenital cytomegalovirus infection in Europe. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2009 Mar 5;14(9):26-32. PubMed PMID: 19317969. Epub 2009/03/26. eng.
7. Buxmann H, Hamprecht K, Meyer-Wittkopf M, Friese K. Primary Human Cytomegalovirus (HCMV) Infection in Pregnancy. *Deutsches Arzteblatt international*. 2017 Jan;114(4):45-52. PubMed PMID: 28211317. Pubmed Central PMCID: PMC5319378. Epub 2017/02/18. eng.
8. Rawlinson WD, Boppana SB, Fowler KB, Kimberlin DW, Lazzarotto T, Alain S, et al. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy. *The Lancet Infectious Diseases*. 2017;17(6):e177-e88.
9. Xie F, Hu Y, Magee LA, Money DM, Patrick DM, Krajden M, et al. An association between cytomegalovirus infection and pre-eclampsia: a case-control study and data synthesis. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2010;89(9):1162-7.
10. Lindholm K, O'Keefe M. Placental Cytomegalovirus Infection. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2018 Nov 30. PubMed PMID: 30500287. Epub 2018/12/01. eng.
11. Maingi Z, Nyamache AK. Seroprevalence of Cytomegalo Virus (CMV) among pregnant women in Thika, Kenya. *BMC research notes*. 2014 Nov 12;7:794. PubMed PMID: 25392013. Pubmed Central PMCID: PMC4247150. Epub 2014/11/14. eng.
12. Fisher S, Genbacev O, Maidji E, Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis. *Journal of virology*. 2000 Aug;74(15):6808-20. PubMed PMID: 10888620. Pubmed Central PMCID: PMC112198. Epub 2000/07/11. eng.
13. Chibwe E, Mirambo MM, Kihunrwa A, Mshana SE. Magnitude of the Cytomegalovirus infection among pregnant women attending antenatal clinics in the city of Mwanza, Tanzania.

BMC research notes. 2017 Sep 20;10(1):489. PubMed PMID: 28931421. Pubmed Central PMCID: PMC5607485. Epub 2017/09/22. eng.

14. Britt W. Controversies in the natural history of congenital human cytomegalovirus infection: the paradox of infection and disease in offspring of women with immunity prior to pregnancy. *Medical microbiology and immunology*. 2015 Jun;204(3):263-71. PubMed PMID: 25764180. Epub 2015/03/13. eng.

15. Sert Y, Ozgu-Erdinc AS, Saygan S, Engin Ustun Y. Antenatal Cytomegalovirus Infection Screening Results of 32,188 Patients in a Tertiary Referral Center: A Retrospective Cohort Study. *Fetal and pediatric pathology*. 2019 Jan 2:1-9. PubMed PMID: 30600762. Epub 2019/01/03. eng.

16. Faure-Bardon V, Magny JF, Parodi M, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, et al. Sequelae of congenital cytomegalovirus (cCMV) following maternal primary infection are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018 Dec 31. PubMed PMID: 30596974. Epub 2019/01/01. eng.

17. Revello MG, Fabbri E, Furione M, Zavattoni M, Lilleri D, Tassis B, et al. Role of prenatal diagnosis and counseling in the management of 735 pregnancies complicated by primary human cytomegalovirus infection: a 20-year experience. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2011 Apr;50(4):303-7. PubMed PMID: 21277825. Epub 2011/02/01. eng.

18. Arapović J, Rajič B, Pati S, Brizić I, Azinović I, Šušak B, et al. Cytomegalovirus Seroprevalence and Birth Prevalence of Congenital CMV Infection in Bosnia and Herzegovina: A Single-Center Experience. *The Pediatric infectious disease journal*. 2020;39(2):140-4.

19. Wald A, Corey L. Persistence in the population: epidemiology, transmission. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al., editors. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press 2007.; 2007.

20. Adachi K, Xu J, Ank B, Watts DH, Camarca M, Mofenson LM, et al. Congenital Cytomegalovirus and HIV Perinatal Transmission. *The Pediatric infectious disease journal*. 2018 Oct;37(10):1016-21. PubMed PMID: 30216294. Pubmed Central PMCID: PMC6129438. Epub 2018/09/15. eng.

21. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Moura Brito RM, de Lima Isaac M, de Carvalho e Oliveira PF, Boppana S, et al. Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus infection in a highly seroimmune population. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009 Aug 15;49(4):522-8. PubMed PMID: 19583520. Pubmed Central PMCID: PMC2778219. Epub 2009/07/09. eng.

22. Lopez Calero YM. Diagnóstico Prenatal Invasivo (AMNIOCENTESIS) En Pacientes Con Sospecha De Fetopatias Infecciosas (TORCH) En Hospital Bertha Calderón Roque Junio 2016-Enero 2017. 2017. . Repositorio de Nicaragua: UNAN-Managua; 2017.

23. Weller TH. The cytomegaloviruses: ubiquitous agents with protean clinical manifestations. I. *The New England journal of medicine*. 1971 Jul 22;285(4):203-14. PubMed PMID: 4325893. Epub 1971/07/22. eng.

24. Zentralbl. RD. Uber protozoenartige zellen in der niere eines syphilitischen neugoborenen und in der parotis von kindern. . *Allg Pathol*. 1904 (15):945-8.

25. Smith AJ WF. Infection of a stillborn infant by an amebiform protozoön (Entamoeba mortinatalium, N.S.). *Univ Penn Med Bull*. 1910 (23):285 - 98.

26. Halwachs-Baumann G. Congenital cytomegalovirus infection : epidemiology, diagnosis, therapy. Cham: Cham : Springer, 2018.; 2018.

27. Goncé A, Borrell A, Bosch J, Nadal A, Pumarola T, Coll O. Infección congénita por citomegalovirus con una afección ecográfica progresiva y grave. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*. 2005;48(10):490-4.
28. Tyzzer EE. The Histology of the Skin Lesions in Varicella. *The Journal of medical research*. 1906 Jan;14(2):361-92. PubMed PMID: 19971703. Pubmed Central PMCID: PMC2099794. Epub 1906/01/01. eng.
29. Jacobson MA, Crowe S, Levy J, Aweeka F, Gambertoglio J, McManus N, et al. Effect of Foscarnet therapy on infection with human immunodeficiency virus in patients with AIDS. *The Journal of infectious diseases*. 1988 Oct;158(4):862-5. PubMed PMID: 2844921. Epub 1988/10/01. eng.
30. Fowler SBBaKB. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Arvin A C-FG, Mocarski E, et al., editors., editor. Cambridge University Press 2007.
31. Zone V. Cutomegalovirus 2011. Available from: https://viralzone.expasy.org/180?outline=all_by_protein
32. RJ. W. Herpesviruses. . In: Baron S e, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. . Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston;; 1996.
33. Murray P, et al. *Medical microbiolog*. 8th edition ed. Philadelphia: Elsevier Inc. ; 2016.
34. Brooks GF, et al. *MICROBIOLOGÍA MÉDICA. JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG*. 25 ed. McGraw-Hill, editor. Mexico: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011.
35. Sathiyamoorthy K, Chen J, Longnecker R, Jardetzky TS. The COMPLEXity in herpesvirus entry. *Current opinion in virology*. 2017 Jun;24:97-104. PubMed PMID: 28538165. Epub 2017/05/26. eng.
36. Miller MS, Hertel L. Onset of human cytomegalovirus replication in fibroblasts requires the presence of an intact vimentin cytoskeleton. *Journal of virology*. 2009 Jul;83(14):7015-28. PubMed PMID: 19403668. Pubmed Central PMCID: PMC2704777. Epub 2009/05/01. eng.
37. Lyman MG, Enquist LW. Herpesvirus interactions with the host cytoskeleton. *Journal of virology*. 2009 Mar;83(5):2058-66. PubMed PMID: 18842724. Pubmed Central PMCID: PMC2643721. Epub 2008/10/10. eng.
38. Sinzger C, Grefte A, Plachter B, Gouw AS, The TH, Jahn G. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues. *The Journal of general virology*. 1995 Apr;76 (Pt 4):741-50. PubMed PMID: 9049319. Epub 1995/04/01. eng.
39. Halwachs-Baumann G, Wilders-Truschnig M, Desoye G, Hahn T, Kiesel L, Klingel K, et al. Human trophoblast cells are permissive to the complete replicative cycle of human cytomegalovirus. *Journal of virology*. 1998 Sep;72(9):7598-602. PubMed PMID: 9696860. Pubmed Central PMCID: PMC110014. Epub 1998/08/08. eng.
40. Halwachs-Baumann G. The congenital cytomegalovirus infection: virus-host interaction for defense and transmission. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2006 Aug;7(4):303-12. PubMed PMID: 16918406. Epub 2006/08/22. eng.
41. Engleberg C, DiRita, V., Dermody, T. *Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease* 5th ed. Wilkins LW, editor. Philadelphia 2013.
42. Krech U JM, Jung F. *Cytomegalo-virus infections of man*. Basel: Karger. 1971.
43. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Reviews in medical virology*. 2010 Jul;20(4):202-13. PubMed PMID: 20564615. Epub 2010/06/22. eng.
44. Gratacap-Cavallier B, Bosson JL, Morand P, Dutertre N, Chanzy B, Jouk PS, et al. Cytomegalovirus seroprevalence in French pregnant women: parity and place of birth as major

- predictive factors. *European journal of epidemiology*. 1998 Feb;14(2):147-52. PubMed PMID: 9556173. Epub 1998/04/29. eng.
45. Griffiths P. Cytomegalovirus. . In: Zuckerman AJ BJE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors., editor. *Principles and practice of Clinical Virology* 6th ed. Oxford: John Wiley and Sons; 2009. p. 161-97. .
46. Mhandire D, Rowland-Jones S, Mhandire K, Kaba M, Dandara C. Epidemiology of Cytomegalovirus among pregnant women in Africa. *Journal of infection in developing countries*. 2019 Oct 31;13(10):865-76. PubMed PMID: 32084016. Epub 2020/02/23. eng.
47. Yamada H, Tanimura K, Fukushima S, Fujioka K, Deguchi M, Sasagawa Y, et al. A cohort study of the universal neonatal urine screening for congenital cytomegalovirus infection. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2020;26(8):790-4.
48. Watanabe M, Torigoe S, Ito M, Negoro M, Suga S. Salivary cytomegalovirus excretion in children in daycare centers and home care facilities in Japan. *Journal of Medical Virology*. 2019;91(12):2182-7.
49. Torii Y, Yoshida S, Yanase Y, Mitsui T, Horiba K, Okumura T, et al. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. *BMC pregnancy and childbirth*. 2019 Jun 20;19(1):205. PubMed PMID: 31221131. Pubmed Central PMCID: PMC6585127. Epub 2019/06/22. eng.
50. Lee CY, Lin KY, Chen TH, Sung CH, Fang YP, Sung PL, et al. Prevalence of cytomegalovirus DNAemia and genotypic distribution among childbearing mothers and neonates in Taiwan. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;91:240-5.
51. Putri ND, Wiyatno A, Dhenni R, Sriyani IY, Dewantari AK, Handryastuti S, et al. Birth prevalence and characteristics of congenital cytomegalovirus infection in an urban birth cohort, Jakarta, Indonesia. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2019 Sep;86:31-9. PubMed PMID: 31207385. Epub 2019/06/18. eng.
52. Wang S, Wang T, Zhang W, Liu X, Wang X, Wang H, et al. Cohort study on maternal cytomegalovirus seroprevalence and prevalence and clinical manifestations of congenital infection in China. *Medicine*. 2017 Feb;96(5):e6007. PubMed PMID: 28151899. Pubmed Central PMCID: PMC5293462. Epub 2017/02/06. eng.
53. Puhakka L, Lappalainen M, Lönnqvist T, Niemensivu R, Lindahl P, Nieminen T, et al. The Burden of Congenital Cytomegalovirus Infection: A Prospective Cohort Study of 20 000 Infants in Finland. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2018;8(3):205-12.
54. Papaevangelou V, Christoni Z, Vliora C, Kottaridi C, Fotiou A, Malamitsi-Puchner A, et al. Neonatal screening for congenital CMV infection stresses the importance of maternal nonprimary infection even in an area where prenatal serology testing is common. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2019 Jun;32(11):1901-4. PubMed PMID: 29281927. Epub 2017/12/29. eng.
55. Barlinn R, Dudman SG, Trogstad L, Gibory M, Muller F, Magnus P, et al. Maternal and congenital cytomegalovirus infections in a population-based pregnancy cohort study. *APMIS*. 2018;126(12):899-906.
56. Arapović J, Rajič B, Pati S, Brizić I, Azinović I, Šušak B, et al. Cytomegalovirus Seroprevalence and Birth Prevalence of Congenital CMV Infection in Bosnia and Herzegovina: A Single-Center Experience. *The Pediatric infectious disease journal*. 2020 Feb;39(2):140-4. PubMed PMID: 31738327. Epub 2019/11/19. eng.

57. Madrid L, Varo R, Maculuvé S, Nhampossa T, Muñoz-Almagro C, Calderón EJ, et al. Congenital cytomegalovirus, parvovirus and enterovirus infection in Mozambican newborns at birth: A cross-sectional survey. *PloS one*. 2018;13(3):e0194186.
58. Sorichetti B, Goshen O, Pauwels J, Kozak FK, Tilley P, Kraiden M, et al. Symptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection Is Underdiagnosed in British Columbia. *The Journal of Pediatrics*. 2016;169:316-7.
59. Conde-Ferrández L, Ceh-Guerrero AL, Canché-Pech JR, Ayora-Talavera G, González-Losa MDR. Infección por citomegalovirus humano en neonatos de un hospital público de Mérida, Yucatán. *Gaceta medica de Mexico*. 2019;155(4):336-42. PubMed PMID: 31486792. Epub 2019/09/06. eng.
60. Arellano-Galindo J, Villanueva-García D, Cruz-Ramírez JL, Yalaupari-Mejía JP, Uribe-Gutiérrez G, Velázquez-Guadarrama N, et al. Detection and gB genotyping of CMV in Mexican preterm infants in the context of maternal seropositivity. *Journal of infection in developing countries*. 2014 Jun 11;8(6):758-67. PubMed PMID: 24916875. Epub 2014/06/12. eng.
61. Yamamoto AY, Anastasio ART, Massuda ET, Isaac ML, Manfredi AKS, Cavalcante JMS, et al. Contribution of Congenital Cytomegalovirus Infection to Permanent Hearing Loss in a Highly Seropositive Population: The Brazilian Cytomegalovirus Hearing and Maternal Secondary Infection Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2019;70(7):1379-84.
62. Li W, Liu L, Tao R, Zheng X, Li H, Shang S. Epidemiological characteristics of human cytomegalovirus infection and glycoprotein H genotype in Chinese children. *Pediatrics & Neonatology*. 2020;61(1):63-7.
63. Alain S, Garnier-Geoffroy F, Labrunie A, Montané A, Marin B, Gatet M, et al. Cytomegalovirus (CMV) Shedding in French Day-Care Centers: A Nationwide Study of Epidemiology, Risk Factors, Centers' Practices, and Parents' Awareness of CMV. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2020.
64. Sert Y, Ozgu-Erdinc AS, Saygan S, Engin Ustun Y. Antenatal Cytomegalovirus Infection Screening Results of 32,188 Patients in a Tertiary Referral Center: A Retrospective Cohort Study. *Fetal and pediatric pathology*. 2019 2019/03/04;38(2):112-20.
65. Alvarado-Esquivel C, Terrones-Saldivar MdC, Hernandez-Tinoco J, Munoz-Terrones MDE, Gallegos-Gonzalez RO, Sanchez-Anguiano LF, et al. Seroepidemiology of Cytomegalovirus Infection in Pregnant Women in the Central Mexican City of Aguascalientes 2018.
66. Griffiths P, Baraniak I, Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *The Journal of pathology*. 2015 Jan;235(2):288-97. PubMed PMID: 25205255. Epub 2014/09/11. eng.
67. Cannon MJ, Hyde TB, Schmid DS. Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. *Reviews in medical virology*. 2011 Jul;21(4):240-55. PubMed PMID: 21674676. Pubmed Central PMCID: PMC4494736. Epub 2011/06/16. eng.
68. Davis NL, King CC, Kourtis AP. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *Birth defects research*. 2017 Mar 15;109(5):336-46. PubMed PMID: 28398680. Epub 2017/04/12. eng.
69. Evans GA, Gold EA, G. A. . Cytomegalovirus. In *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*. New York: Plenum Press. 1976:143-61.
70. Surinder K. *Essentials of Microbiology*. New Delhi, India: The Health Sciences Publisher; 2016.
71. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, Griffiths PD, Davey CC, Johnson MA, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of

- HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS* (London, England). 1997 Jun;11(7):889-93. PubMed PMID: 9189214. Epub 1997/06/01. eng.
72. van der Sande MA, Kaye S, Miles DJ, Waight P, Jeffries DJ, Ojuola OO, et al. Risk factors for and clinical outcome of congenital cytomegalovirus infection in a peri-urban West-African birth cohort. *PloS one*. 2007 Jun 6;2(6):e492. PubMed PMID: 17551573. Pubmed Central PMCID: PMC1876257. Epub 2007/06/07. eng.
73. Beer AE, Sio JO. Placenta as an immunological barrier. *Biology of reproduction*. 1982 Feb;26(1):15-27. PubMed PMID: 6175353. Epub 1982/02/01. eng.
74. Heil JR, Bordoni B. Embryology, Umbilical Cord. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2020.
75. Uenaka M, Morizane M, Tanimura K, Deguchi M, Kanzawa M, Itoh T, et al. Histopathological analysis of placentas with congenital cytomegalovirus infection. *Placenta*. 2019 Jan;75:62-7. PubMed PMID: 30712668. Epub 2019/02/05. eng.
76. Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Genbacev O, Fisher S. Human cytomegalovirus transmission from the uterus to the placenta correlates with the presence of pathogenic bacteria and maternal immunity. *Journal of virology*. 2003;77(24):13301-14. PubMed PMID: 14645586. eng.
77. Damsky CH, Librach C, Lim KH, Fitzgerald ML, McMaster MT, Janatpour M, et al. Integrin switching regulates normal trophoblast invasion. *Development* (Cambridge, England). 1994 Dec;120(12):3657-66. PubMed PMID: 7529679. Epub 1994/12/01. eng.
78. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2008 Mar;41(3):192-7. PubMed PMID: 18054840. Epub 2007/12/07. eng.
79. van Zuylen WJ, Ford CE, Wong DDY, Rawlinson WD. Human Cytomegalovirus Modulates Expression of Noncanonical Wnt Receptor ROR2 To Alter Trophoblast Migration. *Journal of virology*. 2015;90(2):1108-15. PubMed PMID: 26559837. eng.
80. Cheeran MC-J, Lokensgard JR, Schleiss MR. Neuropathogenesis of Congenital Cytomegalovirus Infection: Disease Mechanisms and Prospects for Intervention. *Clinical microbiology reviews*. 2009;22(1):99-126.
81. Lago EG, Baldisserotto M, Hoefel Filho JR, Santiago D, Jungblut R. Agreement between ultrasonography and computed tomography in detecting intracranial calcifications in congenital toxoplasmosis. *Clinical Radiology*. 2007;62(10):1004-11.
82. Ludlow M, Kortekaas J, Herden C, Hoffmann B, Tappe D, Trebst C, et al. Neurotropic virus infections as the cause of immediate and delayed neuropathology. *Acta Neuropathologica*. 2016 2016/02/01;131(2):159-84.
83. Zhang X-Y, Fang F. Congenital human cytomegalovirus infection and neurologic diseases in newborns. *Chin Med J (Engl)*. 2019;132(17):2109-18. PubMed PMID: 31433331. eng.
84. Ciorba A, Bovo R, Trevisi P, Bianchini C, Arboretti R, Martini A. Rehabilitation and outcome of severe profound deafness in a group of 16 infants affected by congenital cytomegalovirus infection. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2009 Oct;266(10):1539-46. PubMed PMID: 19283400. Epub 2009/03/14. eng.
85. Lanzieri TM, Chung W, Flores M, Blum P, Caviness AC, Bialek SR, et al. Hearing Loss in Children With Asymptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics*. 2017 Mar;139(3). PubMed PMID: 28209771. Pubmed Central PMCID: PMC5330400. Epub 2017/02/18. eng.

86. Markowitz PI. Autism in a child with congenital cytomegalovirus infection. *Journal of autism and developmental disorders*. 1983 Sep;13(3):249-53. PubMed PMID: 6315673. Epub 1983/09/01. eng.
87. Landa RJ. Diagnosis of autism spectrum disorders in the first 3 years of life. *Nature clinical practice Neurology*. 2008 Mar;4(3):138-47. PubMed PMID: 18253102. Epub 2008/02/07. eng.
88. Yamashita Y, Fujimoto C, Nakajima E, Isagai T, Matsuishi T. Possible association between congenital cytomegalovirus infection and autistic disorder. *Journal of autism and developmental disorders*. 2003 Aug;33(4):455-9. PubMed PMID: 12959425. Epub 2003/09/10. eng.
89. Engman ML, Sundin M, Miniscalco C, Westerlund J, Lewensohn-Fuchs I, Gillberg C, et al. Prenatal acquired cytomegalovirus infection should be considered in children with autism. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2015 Aug;104(8):792-5. PubMed PMID: 25900322. Epub 2015/04/23. eng.
90. Kenneth J. Ryan ea. *Medical Microbiology Sherris*. 6th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2014.
91. Sanbonmatsu Gamez S, Ruiz MP, Navarro Mari JM. [Infection by human cytomegalovirus]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2014 Feb;32 Suppl 1:15-22. PubMed PMID: 24630579. Epub 2014/03/19. *Infección por citomegalovirus humano*. spa.
92. Boppana SB, Ross SA, Shimamura M, Palmer AL, Ahmed A, Michaels MG, et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. *The New England journal of medicine*. 2011 Jun 2;364(22):2111-8. PubMed PMID: 21631323. Pubmed Central PMCID: PMC3153859. Epub 2011/06/03. eng.
93. Boppana SB, Ross SA, Novak Z, Shimamura M, Tolan RW, Jr., Palmer AL, et al. Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assays to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection. *Jama*. 2010 Apr 14;303(14):1375-82. PubMed PMID: 20388893. Pubmed Central PMCID: PMC2997517. Epub 2010/04/15. eng.
94. Talaro KP, Chess, B. *Foundations in Microbiology*. 10th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
95. Peña R, Wall S, Persson LA. The effect of poverty, social inequity, and maternal education on infant mortality in Nicaragua, 1988-1993. *American journal of public health*. 2000 Jan;90(1):64-9. PubMed PMID: 10630139. Pubmed Central PMCID: PMC1446115. Epub 2000/01/12. eng.
96. Milosavljevic B, Vellekoop P, Maris H, Halliday D, Drammeh S, Sanyang L, et al. Adaptation of the Mullen Scales of Early Learning for use among infants aged 5- to 24-months in rural Gambia. *Developmental science*. 2019 Sep;22(5):e12808. PubMed PMID: 30739382. Pubmed Central PMCID: PMC6767903. Epub 2019/02/11. eng.
97. Viswanathan R, Bafna S, Mergu R, Deshpande G, Gunjkar R, Gaikwad S, et al. Direct Saliva Real-time Polymerase Chain Reaction Assay Shows Low Birth Prevalence of Congenital Cytomegalovirus Infection in Urban Western India. *The Pediatric infectious disease journal*. 2019 Apr;38(4):e65-e8. PubMed PMID: 30882739. Epub 2019/03/19. eng.
98. Lantos PM, Hoffman K, Permar SR, Jackson P, Hughes BL, Kind A, et al. Neighborhood Disadvantage is Associated with High Cytomegalovirus Seroprevalence in Pregnancy. *Journal of racial and ethnic health disparities*. 2018 Aug;5(4):782-6. PubMed PMID: 28840519. Pubmed Central PMCID: PMC5826762. Epub 2017/08/26. eng.

99. Colugnati FAB, Staras SAS, Dollard SC, Cannon MJ. Incidence of cytomegalovirus infection among the general population and pregnant women in the United States. *BMC Infect Dis.* 2007;7:71-. PubMed PMID: 17605813. eng.
100. Ju D, Li XZ, Shi YF, Li Y, Guo LQ, Zhang Y. Cytomegalovirus shedding in seropositive healthy women of reproductive age in Tianjin, China. *Epidemiol Infect.* 2020;148:e34-e. PubMed PMID: 32070447. eng.
101. Jim W-T, Chiu N-C, Ho C-S, Shu C-H, Chang J-H, Hung H-Y, et al. Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection via Breast Milk: A Two-Year Prospective Follow-Up Study. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(43):e1835-e. PubMed PMID: 26512588. eng.
102. Gunkel J, de Vries LS, Jongmans M, Koopman-Esseboom C, van Haastert IC, Eijsermans MCJ, et al. Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics.* 2018 Feb;141(2). PubMed PMID: 29330315. Epub 2018/01/14. eng.
103. Yadav SS, Narula G, Narayan S, Biswas S, Gupta G. Cytomegalovirus infection in six neonates. *Indian pediatrics.* 2010 Feb;47(2):174-5. PubMed PMID: 19430062. Epub 2009/05/12. eng.

ANEXOS

ANEXO 1 Aprobación del comité de ética para estudio Infección materno-infantil por Zika en Nicaragua

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN - León

Comité de Ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB)
"Dr. Uriel Guevara Guerrero"
FWA00004523 / IRB00003342

León, 21 de Septiembre del 2016

ACTA No. 93

Miembros Fundadores
Dr. Uriel Guevara Guerrero
Médico Patólogo
Dr. Jaime Granera Soto
Médico y Sociólogo
Dra. Nubia Pacheco Solís
Médico y Dermatóloga

Comité Ejecutivo
Dra. Nubia Pacheco Solís
Presidenta
Dr. Efrén Castellón C.
Vice - Presidente
Dr. Orlando Morales N.
Secretario

Miembros alternos
Dr. Jorge Alemán Pareda
MSc. Irbia Romero S.
Dr. William Ugarte

Dr. Filemón Bucardo
Profesor Titular
Departamento de Microbiología.
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN-León
Sus Manos

Estimado Dr. Bucardo:

El CEIB le informa que recibió su trabajo de Investigación para que sea analizado por este Comité, titulado: "Infección Materno-Fetal por Zika en Nicaragua". Después de haber efectuado dicha revisión se determina lo siguiente: **Se aprueba la conducción de dicha Investigación, basados en que cumple con los principios delineados en la Declaración de Helsinki y reúne los principios éticos básicos.**

Como Comité de Ética, valoramos muy positivamente la importancia de este trabajo y esperamos que sus resultados sean positivos. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e informe final.

Sin otro particular, nos es grato suscribirnos.

Atentamente,

DRA. NUBIA PACHECO SOLÍS
Presidenta del CEIB
Facultad de CC. MM.

DR. EFRÉN CASTELLÓN
Vice-Presidente del CEIB
Facultad de CC. MM.

DRA. MERCEDES CÁCERES, PhD
Vice-Decana
Facultad de Ciencias Médicas



Co: Archivo
NPS/rhl

Expiration date 13/03/2017
IRB00003342

A la libertad por la Universidad

Fundado en la Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León Nicaragua Abril de 1995 comiteceiba@unleón.edu.ni Telf: 2311-4675

ANEXO 2 Aprobación del comité de ética para estudio de “Efecto de la exposición e infección intrauterina con Zika en el crecimiento y desarrollo neurológico del infante”

 <p>Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León</p> <p>Comité de Ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB) “Dr. Uriel Guevara Guerrero” FWA00004523 / IRB00003342</p>	
<p>Miembros Fundadores</p> <p>Dr. Uriel Guevara Guerrero Médico Patólogo</p> <p>Dr. Jaime Granera Soto Médico y Sacerdote</p> <p>Dra. Nubia Pacheco Solís Médico y Dermatóloga</p> <p>Comité Ejecutivo</p> <p>Dra. Nubia Pacheco Solís Presidenta</p> <p>Dr. Efrén Castellón C. Vice - Presidente</p> <p>Dr. Orlando Morales N. Secretario</p> <p>Miembros Alternos Propietarios</p> <p>MSc. Irelia Romero Dra. Yvette Reyes MSc. Arlen Soto PhD Dr. Augusto Guevara</p> <p>Consultores Independientes</p> <p>MSc. José Ramón Morales Dr. Sergio Midence Dra. Yadiria Malespín Dra. Albertina Ruiz Dr. Mauricio Picado Dr. Donoso Peñaiba Dr. Javier Zamora</p> <p><i>Fundado en la Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León Nicaragua Abril de 1995 comiteetica1995@gmail.com Telf: 2311-4675</i></p> <p>Expiration IRB 04/06/2020 FWA 12/11/2022 IORG0002760</p>	<p style="text-align: right;">León, 24 Julio del 2020.</p> <p>Dr. Filemón Bucardo Investigador Principal Proyecto GND</p> <p>Estimado Doctor Bucardo:</p> <p>En respuesta a su solicitud con carta del 03 Junio 2020, en la que se solicita extensión de la vigencia del protocolo de investigación titulado "Efecto de la exposición e infección intrauterina con Zika en el crecimiento y desarrollo neurológico del infante (ZIKA-GND)", el cual fue aprobado inicialmente por el CEIB en Julio 2017, (Acta N° 38) y en Marzo del 2019 fue revisado nuevamente debido a un Adendum con fecha de expiración del 4 Junio del 2020.</p> <p>Después de haber efectuado dicha revisión se determina que se aprueba la extensión de vigencia del protocolo de investigación hasta el 4 de junio del 2021.</p> <p>Agradeciendo su amable atención aprovecho la ocasión para saludarlo.</p> <p>Atentamente,</p> <p style="text-align: center;"> Dr. Efrén Castellón Cisneros Vicepresidente.</p> <p style="text-align: right;"></p> <p>Cc. Archivo.</p> <p style="text-align: center;">A la libertad por la Universidad</p>

sabemos qué tipo de efectos tiene el virus Zika en fetos que están expuestos a dicho virus en el útero y que no están infectados al nacer. Tampoco sabemos qué tipo de efectos tiene el virus Zika cuando los bebés contraen la infección del Zika después del parto.

Se le pide que participe en el estudio por las siguientes razones: Usted ha participado previamente en otro estudio relacionado ("*Infeción Materno-Fetal por Zika en Nicaragua*"); usted vive en León, Nicaragua; usted asistió a uno de los tres Centros de Salud centrales de León, y usted ha dado a luz a su bebé en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA).

¿Hay alguna razón por la cual usted no debería participar en el Estudio?

Usted no debe participar en este estudio si no planea asistir a uno de los tres Centros de Salud de León para el seguimiento del lactante. Tampoco podrá participar en el estudio si tiene planes de migrar a otro país o ciudad.

¿Cuántas personas tomarán parte en el Estudio?

En este estudio vamos a enrolar 220 niños de los cuales aproximadamente 5 recién nacidos estarán infectados con el virus Zika y aproximadamente 50 recién nacidos fueron expuestos al virus Zika en el útero, pero no están infectados con el virus.

¿Cuánto tiempo durará su participación en el estudio?

Su participación en el estudio durará 2 años que van desde la inclusión en el estudio, al nacimiento de su bebé, hasta que cumpla 2 años de edad. En dicho periodo realizaremos 8 visitas trimestrales para recolección de información y toma de muestras. La primera será a los 3 meses de edad y continuaremos a los 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 meses. Cada visita durará aproximadamente 1 hora

¿Qué ocurrirá si usted toma parte en el estudio?

Si decide participar en este estudio, tomaremos muestras de sangre (1.5 cc), saliva (0.1cc) y orina (2 cc) de su bebé en cada visita. También le haremos preguntas sobre su situación social, económica y su historial médico. Repetiremos algunas de estas preguntas cuando a los 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 meses. Además, haremos algunas medidas para comprobar el estado de desarrollo del cerebro del bebé, tales como: capacidad auditiva (a los 6, 12, 18 y 24 meses), capacidad visual (a los 12 y 24 meses) y ultrasonido cerebral (USC), que es la técnica más usada para el diagnóstico de anomalías en el cerebro del neonato y lactante. El especialista colorará un gel sobre la cabeza de su bebé y tomará imágenes escaneada usando una computadora. Este procedimiento no causa ningún tipo de dolor al bebé.

¿Cuáles son los posibles beneficios de participar en el estudio?

La investigación está diseñada para beneficiar a la sociedad mediante la obtención de nuevos conocimientos. Hay pocas posibilidades de que usted se beneficie directamente al estar en este estudio de investigación. Un beneficio potencial de su participación en el estudio es que usted recibirá los resultados de las pruebas de la infección por el virus Zika de su bebé y podrá consultar a un perinatólogo y un pediatra en el HEODRA si la prueba resulta positiva.



¿Cuáles son los posibles riesgos o molestias involucradas en la participación en el estudio?

Riesgos en las tomas de muestras de Sangre

Se utilizará una aguja para tomar una muestra de sangre del brazo de su bebé. Esto puede producir un dolor breve causado por la aguja y enrojecimiento, de la parte afectada, en raras ocasiones, infección. Existe un pequeño riesgo de pérdida de sangre o infección.

Riesgos en la toma de muestra de la saliva

Se utilizará un hisopo para recolectar la muestra de saliva, el cual se introducirá en la boca del bebé y se frotará con gentileza la parte interna de la mejilla hacia arriba y abajo, y de atrás hacia adelante, esto no le ocasionará molestias al bebé más que solo un leve cosquilleo.

Riesgos de daño social

Aunque los encargados del estudio harán todo lo posible para proteger su privacidad y confidencialidad, es posible que su colaboración en el estudio como participante pueda ser conocida por otros (si no es conocida aún) y que esto puede resultar en daños sociales (debido a que usted podría ser identificada como infectado con Zika). Por ejemplo, podría ser tratado injustamente o discriminado por miembros de la familia, amigos y/o la comunidad. Usted debe reportar cualquier problema al investigador.

Estrés de descubrir sobre la infección de Zika

Si la prueba de su bebé es positiva para la infección por Zika, descubrirlo puede aumentar su nivel de estrés. Si se encuentra que es positivo, la persona responsable de su cuidado de salud puede darle información y consejos que pueden ayudarlo a manejar su estrés.

Si decide no participar en el estudio, ¿qué otras opciones de tratamiento tiene?

Usted no tiene que estar en este estudio de investigación para recibir tratamiento. Usted puede seguir acudiendo a su clínica habitual para recibir atención.

¿Cómo se protegerá su información?

Los registros en papel de este estudio se almacenarán en un lugar seguro y bajo llave que sólo será accesible para el personal del estudio. Los registros electrónicos se almacenarán usando su código de estudio en lugar de su nombre. Estos registros electrónicos se almacenarán en un ordenador cifrado protegido por una contraseña. El documento que relaciona su nombre y su código de estudio se almacenará por separado.

Los participantes no serán identificados en ningún informe o publicación sobre este estudio. Aunque se harán todos los esfuerzos para mantener los registros de investigación privados, puede haber ocasiones en que la ley federal o estatal requiera la divulgación de dichos registros, incluida información personal. Esto es muy poco probable, pero si la revelación se requiere alguna vez, UNC-CH tomará las medidas permitidas por la ley para proteger la privacidad de la información personal. En algunos casos, su información en este estudio de investigación podría ser revisada por representantes de la Universidad y patrocinadores de investigación.



¿Recibirá usted resultados de la investigación relacionados con sus especímenes?

Es poco probable que la parte de la investigación efectuada con sus especímenes produzca información lo suficientemente significativa para ser compartida con usted personalmente. No planeamos volver a ponernos en contacto con usted u otros sujetos con información sobre los resultados de la investigación. La única excepción es que si los resultados revelan que su bebé podría tener Zika le entregaremos dichos resultados.

¿Qué pasará con los especímenes?

Las muestras especímenes serán almacenados en freezers del laboratorio de Microbiología de la UNAN-León, en el campus medico. Este laboratorio es seguro, accesible solamente para su personal y cumple con las buenas practica del laboratorio clínico. Las muestras biológicas de su hijo (a) serán etiquetados con un código. Durante los primeros 2 años después del estudio, el nombre de su hijo (a) permanecerá vinculado a este código. Sólo los investigadores y co-investigadores y su equipo de investigación tendrán acceso a la información. Después de ese periodo las muestras serán almacenadas por 5 años como indican los lineamientos del Comité Internacional de Armonización para las buenas practica clínicas. Los datos y los especímenes pueden ser compartidos con otros investigadores para hacer nuevas investigación, pero el nombre de su hijo (a) o la información de identificación no será compartida. Si los especímenes ya no son necesarios, serán destruidos.

¿Qué pasará si se le causa algún perjuicio en esta investigación?

Existe una mínima posibilidad de que algo pueda pasarle a su bebe por su participación en un proyecto de investigación. Esto puede incluir el riesgo de lesiones personales. A pesar de todas las medidas de seguridad, el bebe podría desarrollar una reacción o lesión por estar en este estudio. Si estos problemas ocurren, los investigadores le ayudarán a obtener atención médica, que se proporciona de forma gratuita en nuestro sistema de salud. UNAN-León y UNC-CH, no ha reservado fondos para pagarle por tales reacciones o lesiones, ni por la atención médica relacionada. Usted no renuncia a ninguno de sus derechos legales firmando este formulario.

¿Qué pasa si desea detener su participación en la investigación antes de completar su parte en el estudio?

Usted puede retirarse de este estudio en cualquier momento, sin penalidad. Los investigadores también tienen el derecho de detener su participación en cualquier momento. Esto podría deberse a que ha tenido una reacción inesperada, o no ha seguido las instrucciones, o porque se ha detenido todo el estudio.

¿Recibirá usted algo por estar en este estudio?

Usted recibirá 200 Córdoba (\$ 7) en compensación por su tiempo y transporte por asistir a cualquier visita asociada con este estudio y que no sea parte del cuidado prenatal de rutina.

¿Le costará algo estar en este estudio?

Estar en este estudio no le costara nada.

¿Qué hacer si tiene preguntas sobre este estudio?



Usted tiene el derecho a preguntar y a que le contesten cualquier interrogante que usted pueda tener sobre esta investigación. Si tiene preguntas sobre el estudio (incluidos los pagos), quejas, preocupaciones o si se produce una lesión relacionada con la investigación, debe comunicarse con los investigadores que aparecen en la primera página de este formulario.

¿Qué hacer si tiene preguntas sobre sus derechos como participante en la investigación?

Toda investigación en voluntarios humanos es revisada por un comité que trabaja para proteger sus derechos y bienestar. Si tiene preguntas o inquietudes acerca de sus derechos como sujeto de investigación, si desea obtener información o tiene sugerencias, puede comunicarse con la Junta de Revisión Institucional de UNC-CH al 919-966-3113 o por correo electrónico a IRB_subjects@unc.edu. En Nicaragua, puede comunicarse con el Comité de Ética para las Investigaciones Biomédica al 505-2311-4675 o por correo electrónico a comiteticanleon@gmail.com.

Título del Estudio: IGHID 11704 – *Efecto de la exposición e infección intrauterina con Zika en el crecimiento y desarrollo neurológico del infante.*

Investigador Principal: Elizabeth Stringer, MD (UNC), Filemón Bucardo, PhD (Nicaragua)

Consentimiento del Participante:

He leído la información proporcionada arriba. He hecho todas las preguntas que tengo en este momento. Yo voluntariamente acepto participar en este estudio de investigación.

Firma del Participante de la investigación

Fecha

Nombre completo de la madre escrito con letra de molde

Firma del miembro del equipo de investigación que obtuvo el consentimiento

Fecha

Nombre completo de la madre escrito con letra de molde

Firma del Investigador Principal

Fecha



17-

V 1.0 Marzo 7, 2017

Estudio ZIKA 00

Anexo 4: Consentimiento informado de Efecto de la infección materno-fetal por Zika

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN) y University of North Carolina-Chapel Hill (UNC)

Consentimiento para participar en un estudio de investigación

Sujetos adultos – Cohorte de Zika Vigilancia en Mujeres Embarazadas

Fecha de la versión del formulario de consentimiento: 2 septiembre 2016

Nº de estudio del IRB 16-1402 (IGHID 11609)

Título del estudio: Entender la infección materno fetal de Zika en Nicaragua

Investigador principal: Elizabeth Stringer, MD (UNC), Filemon Bucardo (Nicaragua)

Departamento de la UNC-Chapel Hill: Ob/Gyn

Dirección de correo electrónico: elizabeth_stringer@med.unc.edu; fili_bucardo@hotmail.com

Patrón del estudio: Universidad de Carolina del Norte-Chapel Hill

Número telefónico del contacto del estudio: +505 904 0938

¿Cuáles son algunas de las cuestiones generales que usted debe saber sobre los estudios de investigación?

Se le pide que participe en un estudio de investigación. La participación en este estudio es voluntaria. Puede negarse a participar, o puede retirar su consentimiento para participar en el estudio, por cualquier motivo. Los estudios de investigación tienen como objetivo obtener nueva información que pueda ayudar a otras personas en el futuro. Es posible que no reciba ningún beneficio directo por participar en este estudio de investigación. También pueden existir riesgos asociados con la participación en estudios de investigación. La decisión de no participar en el estudio o de abandonar el estudio antes de su finalización no afectará su relación con el investigador, con el prestador de atención médica o con la University of North Carolina-Chapel Hill. Si es un paciente enfermo, no tiene que participar en el estudio de investigación con el fin de recibir atención médica.

Los detalles sobre este estudio se analizan a continuación. Es importante que entienda esta información de modo que pueda decidir en forma fundamentada acerca de la participación en este estudio de investigación. Se le entregará una copia de este formulario de consentimiento. Debe preguntar a los investigadores mencionados anteriormente, o a los miembros del personal que los asisten, cualquier consulta que tenga acerca de este estudio en cualquier momento.

¿Cuál es el objetivo de este estudio?

El propósito de esta investigación es estudiar cuántas mujeres embarazadas son infectadas por el virus de Zika durante el embarazo; con qué frecuencia el virus es transmitido a sus bebés durante el embarazo y cuáles son los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de esta transmisión.

Le hemos pedido que participe en esta investigación porque Ud. es una mujer embarazada que vive en León en Nicaragua, se atiende en una de las tres clínicas centrales y planifica dar a luz en el hospital.

¿Existe algún motivo por el que usted no deba participar en este estudio?

Tenga en cuenta de que Ud. no debiera ser incluida en este estudio si no está embarazada ni se atiende en una de las tres clínicas centrales en León o si no planifica dar a luz en HEODRA.

¿Cuántas personas participarán en este estudio?

Si decide participar en este estudio, será una de entre aproximadamente 3100 de mujeres embarazadas en este estudio de investigación.

¿Cuánto tiempo participará en este estudio?

Su participación en esta investigación durará aproximadamente un año, desde su primera visita prenatal hasta el momento en que dé a luz. La visita de hoy durará unos 15 minutos durante los cuales le haremos algunas preguntas personales. Después de hoy, cada visita no tomará más tiempo que el acostumbrado durante sus visitas prenatales.

¿Qué ocurrirá si participa en este estudio?

Si decide participar en esta investigación, al firmar este consentimiento Ud. nos autoriza a obtener muestras de sangre de los sobrantes de la sangre extraída durante su control prenatal. También obtendremos sangre de los sobrantes de los controles realizados durante el primer, segundo y tercer trimestre de su embarazo. Estudiaremos esas muestras de sangre para determinar su exposición a virus propagados por mosquitos, tal como el virus de Zika, y los factores que puedan predisponerla, o hacerla más susceptible, a infecciones de este tipo. Las muestras serán destruidas después de 5 años si ya no se las necesite.

Cuando dé a luz en el hospital HEODRA, obtendremos una muestra de sangre suya untando un papel en la superficie de la placenta. También extraeremos una muestra de sangre de entre 10-100cc del cordón umbilical después del parto. Si un miembro de nuestro equipo de investigación no estuviera presente durante el parto, obtendremos una pequeña muestra de sangre del talón de su bebé antes de que se vayan del hospital.

Nosotros estudiaremos sus antecedentes médicos para saber dónde ha recibido previamente atención médica, su edad, cuántos embarazos ha tenido, enfermedades durante sus embarazos y los resultados de laboratorio de exámenes prenatales. Además, obtendremos información sobre su bebé, tal como su estado vital, peso, sexo, largo y circunferencia de su cabeza, abdomen y pecho. Si Ud. no da a luz en el hospital, nos gustaría llamarla para determinar el resultado de su embarazo.

¿Cuáles son los posibles beneficios por participar en este estudio?

La investigación está diseñada para beneficiar a la sociedad mediante la obtención de nuevos conocimientos. Es poco probable que usted se beneficiará personalmente por su participación en este estudio de investigación.

¿Cuáles son los posibles riesgos o molestias que implica la participación en este estudio?

Los riesgos para participar en este estudio son limitados porque usaremos porciones de muestras ya obtenidas por su control prenatal y otras muestras que son obtenidas fácilmente después de su parto. Si tuviéramos que obtener sangre del talón de su bebé, es posible que él/ella sienta dolor leve. Puede ser riesgos poco comunes o anteriormente desconocidos. Debe informar a los investigadores cualquier problema que tenga.

Si opta por no participar en el estudio, ¿con qué otras opciones de tratamiento cuentan?

No es necesario que participe en este estudio de investigación para recibir tratamiento. Ud. Puede seguir con su control prenatal y dar a la luz en HEODRA aunque no participe en este estudio.

¿Cómo se procederá si durante el estudio obtenemos nuevos hallazgos o información?

Se le proporcionará cualquier información nueva obtenida durante el transcurso del estudio que pueda afectar su deseo de seguir participando. No va a recibir resultados de investigaciones que utilizan sus muestras.

¿De qué manera se protegerá su privacidad?

Los registros impresos de este estudio serán conservados en un lugar seguro y cerrado con llave, accesible solo para el personal del estudio. Los registros digitales serán guardados bajo el código asignado para usted, no bajo su nombre. Además, serán guardados en una computadora encriptada protegida por una contraseña. La clave que une su nombre con el código del estudio será guardada en forma separada.

No se identificará a ninguna persona en ningún informe o publicación relacionada con este estudio. Aunque se realizarán todos los esfuerzos por conservar los registros de investigación en forma privada, podrá ocurrir que la ley federal o estatal exija que tales registros, incluida la información personal, sean revelados. Esto es muy poco probable, pero si alguna vez se pide que sean revelados, UNC-Chapel Hill tomará las medidas permitidas por ley para proteger la privacidad de la información personal. En algunos casos, su información reunida en este estudio de investigación podría ser examinada por representantes de la Universidad, patrocinadores de la investigación u organismos gubernamentales para controlar de calidad o la seguridad.

¿Qué ocurrirá si resulta lesionado por esta investigación?

A pesar de todas las medidas de seguridad, usted podría desarrollar una reacción o padecer una lesión personal durante su participación, aunque sea muy poco probable en este tipo de estudio. Si tales problemas se presentan, los investigadores lo ayudarán a obtener atención médica, pero los costos por la atención médica serán facturados a usted y/o a su compañía de seguros. Las universidades de UNC y UNAN no han reservado fondos para pagarle por ninguna de tales reacciones o lesiones, o para la atención médica relacionada. Sin embargo, al firmar este formulario, no renuncia a ninguno de sus derechos legales.

¿Qué sucede si usted desea finalizar su participación antes de que la misma se haya completado?

Puede retirarse de este estudio en cualquier momento, sin que ello le ocasione ninguna sanción. Los investigadores también tienen el derecho de finalizar su participación en cualquier momento. Eso podría suceder si usted ha tenido una reacción inesperada, si no ha cumplido con las instrucciones o porque el estudio se ha detenido por completo.

¿Recibirá algo por participar en este estudio?

Usted no recibirá nada por participar en este estudio.

¿Le costará algo la participación en este estudio?

No le costará nada participar en este estudio.

¿Qué sucede si desea formular preguntas sobre este estudio?

Tiene el derecho de preguntar, y que le respondan, cualquier duda que tenga acerca de esta investigación. Si tiene preguntas o si ocurre una lesión relacionada con la investigación, debe ponerse en contacto con los investigadores mencionados en la primera página de este formulario.

¿Qué sucede si desea formular preguntas sobre sus derechos como sujeto de una investigación?

Toda investigación realizada con voluntarios humanos es examinada por un comité que trabaja para proteger sus derechos y su bienestar. Si tiene preguntas o inquietudes acerca de sus derechos como sujeto de una investigación, puede ponerse en contacto, de manera anónima si lo desea, con el Institutional Review Board (Comité de revisión institucional, IRB por sus siglas en inglés) al 919-966-3113 o por correo electrónico a IRB_subjects@unc.edu. En Nicaragua, puede ponerse en contacto el Comité Para la Ética de Investigación Biomédica a 505-2311-4675 o comiteticauanleon@gmail.com.

Título del estudio: Entender la infección materno fetal de Zika en Nicaragua

Investigador principal: Elizabeth Stringer, MD (UNC), Filemon Bucardo (Nicaragua)

Acuerdo del sujeto:

He leído la información proporcionada más arriba. He realizado todas las preguntas que tengo en este momento. Acepto voluntariamente participar en este estudio de investigación.

Firma del sujeto de investigación

Fecha

Nombre del sujeto de investigación en imprenta

Firma de la persona que obtiene el consentimiento

Fecha

Nombre de la persona que obtiene el consentimiento en imprenta

Información para seguimientos:

Dirección del paciente

Número de teléfono

Anexo 5: FICHA DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Resumen del Parto

1. Número de identificación del paciente: _____
2. Fecha del parto: _____ Día/Mes/Año
3. Edad gestacional en el momento del parto: _____ Semanas _____ Días
4. Peso del bebe: _____ gramos
5. Sexo: _____ Masculino _____ Femenino
6. Apgar 1 min: _____ /10 5 min: _____ /10
7. Modo de parto: _____ Parto normal vaginal _____ Cesárea
- 7a. Si fue cesárea: _____ electiva programada _____ emergencia
- 7b. Si fue una cesárea inesperada:
Dilatación cervical en el momento de cesárea: _____ cm
8. Duración del parto: _____ horas _____ cesáreo electivo
9. ¿Las membranas se rompieron antes del parto? Sí _____ No _____
- 9a: En caso afirmativo, ¿cuánto tiempo antes del parto se rompieron? _____ horas
10. ¿Hubo infecciones en el parto? Sí _____ No _____
11. ¿Se trataron con antibióticos? Sí _____ No _____
 - a. ¿Qué tipo de infección fue y que antibióticos fueron suministrados?

12. Disposición del bebé:

_____ Con la madre _____ unidad de cuidados intensivos _____ muerte fetal

a. ¿En caso de cuidados intensivos o muerte fetal, cual fue la razón?

b. Edad del bebe al momento de muerte fetal: _____ Días

13. Examen físico infantil:

- a. Circunferencia de la cabeza (cm): _____
- b. Talla (cm): _____
- c. Esplenomegalia: SI _____ NO _____
- d. Hepatomegalia: SI _____ NO _____
- e. Erupción Cutánea: SI _____ NO _____

14. ¿Alguna anomalía del bebé? Sí _____ No _____

14a. Si la respuesta es afirmativa, por favor describa:

15. Examen neurológico del bebé antes de alta hospitalaria:

- a. Hipotonía: SI _____ NO _____
- b. Hipertonía/Espasticidad: SI _____ NO _____
- c. Ojos capaces de rastrear: SI _____ NO _____
- d. Hiperreflexia: SI _____ NO _____
- e. Irritabilidad: SI _____ NO _____
- f. Convulsiones/Tremores: SI _____ NO _____
- g. Microcefalia: SI _____ NO _____
- h. Alguna otra normalidad neurológica (Describe):

16. ¿Algún hallazgo anormal en el ultrasonido durante el embarazo?

Sí _____ No _____

16a. Si la respuesta es afirmativa, por favor describa:

Anexo 6: FICHA DE RECOLECCIÓN DEL INFANTE A LOS 2 AÑOS DE EDAD

A. INFORMACIÓN DEMOGRAFICA:

1. **Fecha de hoy (dd/mm/aa)** ___ / ___ / ___
2. **Nombre del (de la) encuestador/a:** _____
3. **Nombre complete del (de la) niño/a:** _____

Nombres

Apellidos

4. **¿Ha cambiado la dirección de la casa desde la última visita? Si no SALTE A 6**

Si

No

5. **En caso afirmativo, escribe la nueva dirección:**

5a. **¿Donde vive el niño(a)-Barrio?** _____

5b. **¿Donde vive el niño(a)-Reparto?** _____

5c. **Dirección exacta de la casa:** _____

5d. **Código de la casa:** _____

6. **¿Ha cambiado el celular desde la ultima visita? Si no SALTE a 7**

Si

No

6a. **En caso afirmativo, escribe el nuevo teléfono :**

6b. **Indique si tiene:**

Claro

Movistar

No tiene celular

Otro: _____

Desconocido/ninguna respuesta

B. PREGUNTAS SOBRE LAS EXPOSICIONES A LOS MOSQUITOS:

7. **¿Qué porción del día no está el niño debajo de un techo?**

1 0%

2 1-50%

3 51-99%

4 100%

99 Desconocido/ninguna respuesta

8. **¿Durante que parte del día no esta bajo un techo? Marque a todos los que aplican**

1 Por la mañana

2 Por la tarde

3 Por la noche

4 No aplica

99 Desconocido/ninguna respuesta

9. **Durante la mayoría del día, ¿quien cuida al niño/la niña? Marque a todos los que aplican**

1 Madre o padre

2 Otro pariente o amigo/a

3 Niñera

4 Guarderia

99 Desconocido/ninguna respuesta

10. **Usualmente (la mayoría de los días) ¿adónde pasa el niño/la niña la mayor parte del tiempo?**

- 1 En su casa
- 2 En la casa de otra persona
- 3 En una guardería
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

11. En este momento, ¿tiene el niño/la niña picaduras de mosquito?

- 1 Si
- 2 No
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

12. Durante los últimos tres meses, ¿ha utilizado el niño/a un moquitero en la cama?

- 1 Si
- 2 No, SALTE A 14
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

13. Si el niño/a utiliza mosquitero, ¿con qué frecuencia?

- 1 Cada noche
- 2 1-6 noches por la semana
- 3 Nunca
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

14. En los últimos tres meses, ¿ha utilizado el niño/a repelente contra los insectos?

- 1 Si
- 2 No, SALTE a 16
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

15. Si el niño/a utiliza repelente personal, ¿con que frecuencia?

- 1 Cada día
- 2 1-6 días por semana
- 3 1-3 veces por mes
- 4 Nunca
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

16. ¿El ministerio de salud fumiga en la calle afuera de la casa del niño/a?

- 1 Si
- 2 No, SALTE a 18
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

17. Si el ministerio de salud lo hace, ¿cuándo fue la última vez?

- 1 El el ultimo mes
- 2 Hace 1-3 meses
- 3 Hace más de 3 meses
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

18. ¿El ministerio de salud fumiga adentro de la casa del niño/a?

- 1 Si
- 2 No, SALTE a 20
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

19. Si el ministro de salud lo hace, ¿cuándo fue la última vez?

- 1 En el ultimo mes
- 2 Hace 1-3 meses
- 3 Hace mas de 3 meses
- 99 Desconocido/ninguna respuesta

20. ¿El ministro de salud aplica "Abate®" alrededor de la casa del niño/a?

- 1 Si
- 2 No, SALTE a 22

99 Desconocido/ninguna respuesta

21. Si el ministro de salud lo hace, ¿cuándo fue la última vez?

1 En el ultimo mes

2 Hace 1-3 meses

3 Hace mas de 3 meses

99 Desconocido/ninguna respuesta

22. ¿Aplica usted mismo insecticida (como Baygon®) o usa repelente ambiental (como Plagatox®) en la casa del niño/a en los ultimos tres meses?

1 Si

2 No, SALTE a 24

99 Desconocido/ninguna respuesta

23. Si lo ha hecho, ¿cuándo fue la última vez?

1 En el ultimo mes

2 Hace 1-3 meses

3 Hace mas de 3 meses

99 Desconocido/ninguna respuesta

C. HISTORIA MEDICA DEL NIÑO/A:

24. ¿El/la niño/a ha visto un proveedor medico en los últimos tres meses?

Si

No, salte a 26

Desconocido/ninguna respuesta

25. Si ha visto un proveedor medico, indique la razón porque:

Visita de control

Visita por enfermedad; Razon: _____

Medidas Antropométricas:

26. Peso _____ (kg)

27. Talla _____ (cm)

28. Circunferencia de la Cabeza _____ (cm)

Examinaciones Físicas:

29. ¿Tiene el/la niño/a una erupción o alguna cicatriz?

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

30. ¿Tiene el/la niño/a distensión abdominal?

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

Examinación Neurológica: Exhibe el/la niño/a algo de lo siguiente durante el examen neurológico?

31. Irritabilidad

Si

No

32. Letargo

Si

No

33. Convulsiones

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

34. Tono bajo/reflejos disminuidos

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

35. Asimetría

Si, especifique el tipo de asimetría: _____ (Si afirmativo por favor referir a un pediatra)

No

36. Problemas al abrir o mover los ojos

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

37. Otros problemas con movimiento

Si, especifique el problema con movimiento: _____ (Si afirmativo por favor referir a un pediatra)

No

38. Disfagia

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

39. Llanto continuo

Si

No

40. Artogriposis

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

41. Hipertonia

Si; Si afirmativo por favor referir a un pediatra

No

42. ¿Ha tenido el/la niño/a una evaluación auditiva?

Si; fecha: _____

No

43. ¿Ha tenido el/la niño un examen de ojos?

Si; Fecha: _____

No

Preguntas sobre la alimentación del niño(a):

44. ¿Sigue amamantando el niño/a?

Si

No, salte a 46

Desconocido/ninguna respuesta

45. ¿A qué edad dejó de amamantar al niño/la niña? _____

46. En este momento, ¿el bebé esta teniendo problemas amamantando/comiendo?

Si

No

Desconocido/ninguna respuesta

Preguntas sobre el estado de salud del niño(a):

47. En los últimos 3 meses, ¿cuáles de estos síntomas ha tenido (marque a todos los que apliquen)?

		Fecha del síntoma (mm/aa)	
1 Fiebre	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
2 Erupción de la piel	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
3 Ojos enrojecidos	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
4 Nausea/vomito	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
5 Cancancio	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
6 Moretones	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
7 Debilidad de las piernas y brazos	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
8 Parálisis	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
9 Convulsiones	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
10 Sensibilidad a la luz	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
11 sensibilidad al ruido	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	_____
12 <input type="checkbox"/> Otro: _____			
13 <input type="checkbox"/> Ninguno			
99 <input type="checkbox"/> Desconocido/ninguna respuesta			

48. En los últimos 3 meses, ¿el niño/a ha sido diagnosticado con el Zika por algún profesional de la salud?

- Si, fecha: _____
 No
 Desconocido/ninguna respuesta

49. En los últimos 3 meses, ¿el niño/a ha sido diagnosticado con dengue por algún profesional de la salud?

- Dengue febril leve, fecha (dd/mm/aa): _____
 Dengue severo (por ejemplo, dengue hemorrágico o con síndrome de shock que requiere hospitalización) fecha (dd/mm/aa): _____
 No
 Desconocido/ninguna respuesta

50. ¿Alguna vez ha sido diagnosticado con Chikungunya por algún profesional de la salud?

- Si, fecha (dd/mm/aa): _____
 No
 Desconocido/ninguna respuesta

Indicadores de Cuidado Familiar:

51. ¿Tienen libros en la casa (pueden ser compartidos, no tienen que ser comprados)?

- Ningunos
 1-2 libros
 3-5 libros
 Más de 6 libros
 Desconocido/ninguna respuesta

52. ¿Tienen revistas o periódicos en la casa (pueden ser compartidos, no tienen que ser comprados, ni al día)?

- Ningunos
 1-2 revistas o periódicos
 3-5 revistas o periódicos
 Más de 6 revistas o periódicos
 Desconocido/ninguna respuesta

53. ¿Tienen fuentes de materiales con cual jugar? (marque a todos los que apliquen)

- Ningunos
- Objetos caseros
- Cosas de afuera (por ejemplo palos, piedras, mascotas, rompecabezas, etc)
- Juguetes (como muñecas, peluches, camiones, carros, etc)
- Juguetes hechos en la casa
- Desconocido/ninguna respuesta

54. ¿Tienen una variedad de materiales con cual jugar? (marque a todos los que apliquen)

- Ningunos
- Cosas que hacen/tocan música
- Cosas para dibujar/escribir
- Libros con imágenes
- Cosas que se puedan usar para aplilar, construir (bloques)
- Cosas que se pueden mover (bolas, bates, etc)
- Cosas para aprender formas y colores
- Cosas para estimular la imaginación (muñecas, peluches, etc)
- Desconocido/ninguna respuesta

55. ¿Usted a alguien en su casa comparten diferentes actividades con el niño/a? (marque a todos los que apliquen)

- Ningunas
- Leer libros o mirar a libros con imágenes con el niño/a
- Contarle historias al niño/a
- Cantar canciones con el niño/a
- Sacar al niño/a afuera para jugar
- Jugar con juguetes con el niño/a
- Pasar tiempo con el niño/a nombrando cosas, contando, dibujando
- Desconocido/ninguna respuesta

56. Muestra de sangre del niño/a

- Se obtuvo
- No se obtuvo

57. Si afirmativo, Hora y fecha de colección: _____

58. Muestra de saliva del niño(a) [child saliva sample]

- Se obtuvo (obtained)
- No se obtuvo (not obtained)

59. Si afirmativo, Hora y fecha de colección [if collected, enter time and date of collection]:

60. ¿El niño(a) fue referido a un pediatra?

- Si
- No