

EL LABORATORIO CLÍNICO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN O ENFERMEDAD POR CITOMEGALOVIRUS

Aguilar-Gamboa Franklin-Rómulo^{1,a}, Nieto-Baca Juan-Miguel^{2,a}

RESUMEN

En la actualidad existen muchas técnicas empleadas para la detección de infección y enfermedad por citomegalovirus humano (CMVH). Estas varían en términos de especificidad, sensibilidad, eficacia y disponibilidad. En este texto se revisa la utilidad de estas técnicas en el apoyo al diagnóstico y la conveniencia de su elección de acuerdo al tipo de infección. El texto se divide en 2 secciones: la primera analizando el fundamento y aplicación de cada técnica y la segunda exponiendo su eficacia y pertinencia en los diferentes cuadros clínicos producidos por este virus.

Palabras clave: Infecciones por citomegalovirus, Prueba de laboratorio, Diagnóstico. (Fuente: DeCS- BIREME).

THE CLINICAL LABORATORY DIAGNOSIS OF CYTOMEGALOVIRUS

ABSTRACT

At present there are many techniques used for the detection of infection and disease human cytomegalovirus (HCMV). These vary in terms of specificity, sensitivity, efficiency and availability. In this text the usefulness of these techniques in supporting the diagnosis and the appropriateness of their choice according to the type of infection is reviewed. The text is divided into two sections: the first analyzing the fundament and application of each technique and the second exposing its effectiveness and relevance in different clinical pictures produced by this virus.

Key words: Cytomegalovirus infections, Laboratory test, Diagnosis. (Source: MeSH-NLM).

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus humano (CMVH) también denominado herpesvirus humano 5, es el virus más grande perteneciente a la familia *Herpesviridae*, posee un ADN lineal de doble cadena de una extensión de 236 kpb⁽¹⁾. Como todos los herpesvirus, una vez se produce la infección, este permanece de por vida en un estado de latencia, pudiendo ciertas situaciones propiciar la reactivación en el huésped⁽²⁾. Posee la capacidad de infectar células in vivo, pero solamente se replica en fibroblastos humanos in vitro⁽³⁾. En las células que infecta, el virus se replica formando cuerpos de inclusión intranucleares e intracitoplasmáticos denominados cuerpos de inclusión citomegálica⁽⁴⁾.

El CMVH puede infectar cualquier célula en el cuerpo humano. Luego de la infección de las células endoteliales y hematopoyéticas ocurre la propagación sistémica de la infección. Se sabe que el virus permanece en el endotelio arterial y actualmente se sugiere que esto contribuya a la aterosclerosis, principalmente en pacientes diabéticos⁽⁵⁾. Sin embargo se ha demostrado que las moléculas CD34 presentes en células hematopoyéticas y progenitoras de

granulocitos-macrófagos que normalmente residen en la médula ósea y CD14 en monocitos, son los sitios más importantes para el estado de latencia del virus⁽⁶⁾.

Los mecanismos de su patogénesis son altamente complejos e implican antígenos de leucocitos humanos, diversas moléculas de adhesión endoteliales y citoquinas⁽⁷⁾. En cuanto a las manifestaciones clínicas, estas van a depender principalmente del tipo de huésped. Así, las Infecciones por CMVH en pacientes inmunocomprometidos cursan con una elevada morbimortalidad, especialmente entre los receptores de trasplante y los infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)⁽⁸⁾. En inmunocompetentes la infección es generalmente asintomática o puede presentarse como un síndrome de mononucleosis con anticuerpos heterófilos negativos, sin embargo, en ocasiones la infección primaria por CMVH puede conducir a complicaciones graves de órganos específicos⁽⁹⁾. En mujeres embarazadas la infección es asintomática, aunque la verdadera importancia de este evento radica en el riesgo del síndrome de CMVH congénita⁽¹⁰⁾.

¹ Laboratorio de Microbiología, Dirección de Investigación, Hospital Regional Lambayeque, Lambayeque - Perú.

² Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú.

^a Biólogo - Microbiólogo.

Existen diversas pruebas de laboratorio que apoyan al diagnóstico clínico de la infección por CMVH. Así tenemos a las tradicionales pruebas serológicas que detectan anticuerpos IgG e IgM, la determinación de la avididad de anticuerpos IgG, las de antigenemia que detectan el antígeno pp65, el cultivo celular, estudios anatomopatológicos y detección de ADN viral por PCR, esta última muy requerida y útil en la actualidad debido a su uso cada vez más extendido en países en vías de desarrollo⁽¹¹⁾.

Ante las diversas herramientas de apoyo al diagnóstico es necesario conocer la utilidad y los beneficios de cada una de ellas, de modo que se puedan aclarar y mejorar los criterios al momento de emitir solicitudes médicas. Elegir las técnicas en laboratorio más apropiada y sobretodo la interpretación de acuerdo al cuadro clínico no es una tarea simple, por este motivo la presente revisión aborda las técnicas en laboratorio disponibles para el diagnóstico confirmatorio de la infección y enfermedad por citomegalovirus, así como las pruebas más apropiadas de acuerdo al cuadro clínico específico. Para brindar al clínico un mejor panorama en el diagnóstico de esta enfermedad.

TÉCNICAS DE DIAGNOSTICO PARA EL CMVH

1. Aislamiento en cultivo celular

El aislamiento de CMVH en cultivo celular es un procedimiento que ofrece un diagnóstico definitivo por ser altamente específico. Clásicamente, se utilizan muestras de orina, sangre y saliva del paciente, sin embargo existen una gran variedad de especímenes (secreciones respiratorias, heces, líquido cefalorraquídeo, biopsias) que pueden utilizarse en el cultivo celular y que dan una buena producción de virus⁽¹⁴⁾. Las muestras de orina tienen a menudo una buena cantidad de partículas virales, además, su obtención no invasiva la hace una muestra confiable y conveniente. Sin embargo la detección de CMVH mediante cultivo no se relaciona necesariamente con enfermedad por lo que no se recomienda para la mayoría de los pacientes excepto en niños seronegativos para CMVH, en los que el cultivo positivo puede tener relevancia clínica; el cultivo de los leucocitos de una muestra de sangre positiva se asocia a infección activa. Toda muestra para cultivo (que no sean orina, heces o saliva) tienen un alto valor diagnóstico para detectar enfermedad y progresión de una infección hacia esta⁽¹³⁾.

Los fibroblastos diploides humanos son el tipo de célula en que es cultivado el CMVH, entre las líneas celulares más utilizadas tenemos a MRC-5, WI-38, MA-184 y Flow-2000⁽¹²⁾. Otros tipos celulares que se utilizan con menor frecuencia son células musculares lisas vasculares, células epiteliales del pigmento de la retina, trofoblastos de la placenta, hepatocitos, células cerebrales neuronales y gliales, células epiteliales de riñón, macrófagos derivados de monocitos, células dendríticas derivadas de monocitos y las células endoteliales vasculares⁽¹⁴⁾.

La limitación fundamental de esta técnica, la cual es común para los cultivos celulares de otros virus, es el tiempo relativamente prolongado requerido para la aparición de las características citopatológicas en las células cultivadas (focos

de células planas e hinchadas). En promedio toma de 1 a 2 semanas, sin embargo; cuando el número de partículas virales en la muestra es pequeño puede llevar hasta 6 semanas. Otro problema es la baja a moderada sensibilidad de la técnica, que contrasta con su alta especificidad. Para dar solución se ideó la técnica *Shell vial* en donde se utilizan viales con una monocapa de células adheridas a un cubreobjetos, las monocapas son centrifugadas para aumentar hasta cuatro veces la infectividad del inóculo; después de una incubación de algunas horas se utilizan anticuerpos monoclonales para detectar antígenos tempranos de CMVH en unas 48 horas, mucho antes de la aparición de los signos citopatológicos. A pesar de esta modificación la prueba sigue siendo menos sensible que la detección de antígenos y los ensayos moleculares⁽¹⁴⁾.

Actualmente los cultivos celulares han sido reemplazados por técnicas más sensibles, sencillas y rápidas. Los cultivos de células han quedado como técnicas ya no de diagnóstico, si no de investigación, por ejemplo: la secuenciación del genoma del CMVH⁽¹⁾; estudios de mutaciones del CMVH que ocurren en las diferentes líneas celulares que podría dilucidar algunos mecanismos de la infección a diferentes tejidos o también alertar que estas alteraciones podrían interferir en investigaciones⁽¹⁵⁾; investigaciones acerca del endoteliotropismo de CMVH que explicaría su diseminación en el organismo⁽¹⁸⁾; estudios inmunológicos acerca del reconocimiento de fibroblastos infectados con CMVH por las células NK⁽¹⁸⁾; experimentos e investigaciones acerca de la resistencia a algunas drogas usadas en el tratamiento de la infección⁽¹⁹⁾; estudios acerca de la latencia de CMVH y de sus posibles receptores celulares, entre otros.

2. Diagnóstico histológico

Las técnicas histológicas se aplican con el fin de encontrar las inclusiones intranucleares de las células características de la infección por CMVH y siguen siendo la prueba estándar para el diagnóstico de la infección invasiva a tejidos^(13,20). Se pueden observar estas células con inclusiones en muestras de saliva, leche materna, secreciones cervicales y traqueales, en muestras de biopsia o necropsia^(20,25). La característica microscópica distintiva de las células infectadas por CMVH es una inclusión intranuclear grande de 25 a 35 µm (células citomegálicas) y de anfófila a basófila, conocida como "ojo de búho" debido a la apariencia que le da la separación de la membrana nuclear por un halo, se observan mediante las técnicas de Papanicolaou y tinción de hematoxilina-eosina. Racimos de pequeñas inclusiones intracitoplasmáticas también pueden observarse en la infección por CMVH, estas se observan mejor con tinción Wright o Giemsa. La sensibilidad de las técnicas histológicas es baja a comparación del aislamiento del virus, independientemente del tipo de muestra, por ejemplo solo el 50 % de las muestras de orina de recién nacidos con infección congénita sintomática darán un resultado positivo. Estas células tampoco se consideran patognomónicas cuando se encuentran en el sedimento urinario^(12,13).

3. Observación del agente por microscopía electrónica

La microscopía electrónica no es una técnica que se aplique comúnmente en el laboratorio clínico. Se ha logrado identificar CMVH por microscopía electrónica en la orina, con una sensibilidad que fluctúa entre 25% y 95% en los cultivos virales⁽¹²⁾. Los laboratorios clínicos que poseen los equipos e insumos necesarios para realizar esta técnica reciben muestra de orina, heces y diversos líquidos que se pueden procesar con una tinción negativa en pocos minutos. Actualmente la microscopía electrónica se usa para la investigación de la estructura fina del CMVH, así como sus efectos patológicos en las células y su ciclo de replicación⁽²⁶⁾.

4. Métodos basados en ácidos nucleicos

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aplicada para el ADN de CMVH es una técnica altamente sensible que se basa en la amplificación selectiva de secuencias específicas de ácidos nucleicos. Es un ensayo rápido (aproximadamente 6 horas) y versátil que da resultados cualitativos (PCR de diagnóstico) o cuantitativos (mide la carga viral, que es proporcional al nivel de ADN de CMVH). Su alta sensibilidad se puede utilizar para diferenciar cepas de CMVH por medio de la amplificación de regiones hipervariables de su genoma⁽¹²⁾. Los genes más utilizados para su amplificación son los genes de la ADN polimerasa, gen de la glicoproteína B, gen inmediatamente temprano, el gen temprano inmediato principal, UL83, entre otros⁽¹³⁾.

Se puede aplicar a diversas muestras como glóbulos blancos, sangre completa, plasma, líquido cefalorraquídeo, lavado broncoalveolar y otros fluidos. El ADN de CMVH en plasma se correlaciona con la presencia de infección por CMVH en muestras de lavado broncoalveolar. Su detección en sangre (DNAemia) se correlaciona con el riesgo y gravedad de la enfermedad en pacientes inmunocomprometidos.

Con la técnica de PCR se puede detectar la infección por CMVH hasta dos semanas antes de iniciarse los síntomas, dando así una ventaja que ha modificado las estrategias de terapia preventiva aplicada a pacientes de alto riesgo. Recientemente se está aplicando un PCR en tiempo real cuantitativo en pacientes receptores de trasplantes con el fin de determinar si pertenece a una población de riesgo y así poder iniciar la terapia antiviral preventiva^(12,13,27).

La principal desventaja de este ensayo, paradójicamente, es su elevada sensibilidad ya que puede detectar niveles muy bajos de ADN viral que no siempre son predictivos de enfermedad; esta alta sensibilidad conduce a una disminución de la especificidad clínica (12,13). Esto se traduce en que se puede detectar el ADN de CMVH latente, lo cual podría resultar en un tratamiento antiviral innecesario. Quedando en manos del clínico la determinación de infección activa o no.

Como el CMVH es un virus de ADN de doble cadena, en su ciclo de replicación se forman ARNm virales. Y aunque el blanco más común para la PCR de CMVH es su ADN, se han creado también protocolos que tienen como objetivo el ARNm usando transcriptasa reversa. La determinación de la presencia de ARNm de CMVH es un buen indicador de

infección activa. La desventaja de la técnica de PCR con transcriptasa reversa es que las moléculas de ARN se degradan rápidamente pudiendo dar falsos negativos, por ello se recomienda preparar y procesar rápidamente estas muestras. En comparación con la PCR de ADN, presenta una menor sensibilidad pero mayor especificidad, como reporta un estudio en donde se encontró ARNm PP67 con una especificidad del 100% para enfermedad activa por CMVH en pacientes trasplantados, pero solo detectable en aquellos con elevada carga viral⁽²⁸⁾.

Por otro lado existe un método de detección de híbridos ADN-ARN de citomegalovirus, el cual se basa en la detección de ARNv-2 dentro del ADN específicamente en la región oriLyt, de este modo se emplea la enzima bacteriana RNasa H, una endorribonucleasa que degrada específicamente el componente ARN de una RNA-DNA estructura híbrida, para localizarlas dentro oriLyt. Estos productos intermedios de replicación intracelular indican replicación de ADN viral, lo cual la hace una prueba altamente específica⁽²⁹⁾.

Otra solución que se propuso para la especificidad de las pruebas de PCR para ADN viral es la ya mencionada PCR en tiempo real cuantitativa que da resultados de carga viral por volumen de muestra. La replicación activa del virus se indica con valores de carga viral altos o con una tendencia a aumentar, mientras que las cargas virales de bajo nivel indicarían ADN de CMVH latente⁽¹³⁾. Las ventajas del PCR en tiempo real (sensibilidad, rapidez, amplio intervalo de linealidad y riesgo reducido de contaminación) compensan su elevado costo. Así es como los programas de trasplantes de varios centros médicos han adoptado esta técnica para la monitorización de los pacientes y predicción de posibles recaídas; asimismo en estos pacientes se han realizado estudios comparativos de las técnicas de ADNemia y antigenemia observándose una clara ventaja de la primera^(30,31,32).

5. Determinación de antígenos virales por inmunofluorescencia (IFA)

El ensayo de inmunofluorescencia (IFA) se utiliza con frecuencia en inmunología para demostrar las ubicaciones y las funciones de las proteínas diana. Existen dos enfoques para la preparación de las muestras utilizadas en IFA. El primer método utiliza células o microbios que se fijan en cubreobjetos; el segundo método usa las células adherentes que se cultivan directamente en cubreobjetos. El mantenimiento de la morfología natural de la célula y la posición de la proteína diana es más clara en esta última. Una señal fluorescente se detecta cuando el colorante se activa por la luz de longitud de onda apropiada. En IFA, un Ab secundario, que se une específicamente al Ab primario, se conjuga con un fluoróforo que se activa de manera similar por la radiación de excitación⁽³²⁾. La detección de antígenos de CMVH en sangre es el método fenotípico más utilizado para el diagnóstico rápido y sensible de la infección por CMVH en receptores de órganos sólidos trasplantados (TOS)^(13,33,34).

La prueba de detección de antígenos más utilizada es la detección de la fosfoproteína tardía de matriz PP65 del CMVH (codificada por el gen UL83) expresada en leucocitos (antigenemia); el resultado se expresa como número de

células total contadas y la interpretación se basa en el conteo del número de leucocitos positivos por 200.000 leucocitos estudiados⁽³⁵⁾.

Desde su introducción en los años 80 esta técnica ha tenido un gran impacto en el diagnóstico de la enfermedad por CMVH. La prueba es bastante rápida (4 a 5 horas), además las células sanguíneas positivas para PP65 aparecen entre 1 a 3 semanas (en promedio 9 días) antes de los signos serológicos positivos a una infección activa, siendo su detección incluso más temprana que la de la IgM para CMVH. Entre mayor es el número de células positivas mayor es la gravedad, sin embargo, algunos estudios han demostrado que un paciente con un pequeño número de células PP65-positivo puede todavía desarrollar la enfermedad por CMVH, mientras que algunos pacientes con un mayor número de células positivas pueden resolver su infección espontáneamente⁽¹³⁾.

Este ensayo es sensible, específico y rápido, además es cuantitativo lo que lo hace útil para estimar la posible progresión de la enfermedad y el seguimiento de la respuesta a un tratamiento. Algunas investigaciones han demostrado que la antigenemia tiene mayor especificidad y sensibilidad que la PCR, otros por el contrario indican que sería menor^(13,36). Este diagnóstico veloz también ayudaría a instaurar un tratamiento temprano^(12,13,37). En caso de que la disminución de la antigenemia sea signo de un buen progreso, también ayuda a interrumpir la administración de los medicamentos antivirales y así disminuir sus efectos secundarios. Asimismo se ha demostrado que puede haber aumentos intermitentes en el nivel de antigenemia durante las primeras 2 semanas de tratamiento antiviral. El mecanismo de este aumento intermitente no se conoce completamente, pero no sugiere necesariamente el fracaso del tratamiento, siempre que el paciente mejore clínicamente; en algunos casos indican la reactivación de la enfermedad⁽³⁸⁾. El tratamiento antiviral debe continuar hasta que la antigenemia PP65 ya no se detecta en la sangre o haya descendido por debajo de un umbral predefinido. Una persistencia o aumento en el número de células PP65-positivos pueden indicar el virus resistente a los medicamentos⁽³⁹⁾.

Las desventajas de las pruebas de antigenemia son de naturaleza manual. La interpretación de la prueba es subjetiva, y la estandarización de los umbrales de los recuentos de células positivas para diversas acciones clínicas es limitada. Las muestras de sangre que se someten a pruebas de antigenemia PP65 deben procesarse rápidamente (idealmente dentro de 6 h) para optimizar la sensibilidad, ya que los resultados de la prueba dependen de la duración de la vida de los leucocitos ex vivo. Dado que la prueba se basa en un número suficiente de leucocitos polimorfonucleares, tiene utilidad limitada y puede dar un resultado falso negativo para los pacientes con leucopenia grave^(12,13,40). El ensayo de inmunofluorescencia es uno de los más usados en el laboratorio clínico. Además de la antigenemia para detectar PP65, también se han podido detectar otros antígenos como son las proteínas del complejo gH/gL/UL128–131 (41) y también IE1, UL44⁽³²⁾.

6. Diagnóstico Serológico

Serología se basa en la detección de anticuerpos contra CMVH en sangre. Varias metodologías están disponibles para la detección de anticuerpos como la fijación al complemento, inmunofluorescencia anticomplemento, hemaglutinación indirecta y radioinmunoensayo, pero en la actualidad el más utilizado es el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Esta prueba es sencilla y rápida (algunas horas), además de estar disponibles comercialmente por varios fabricantes.

La serología en el diagnóstico de CMVH se utiliza por dos razones principales: una es para determinar la sensibilidad a una infección primaria y la otra es para un *screening* en sangre de la posible transmisión de CMVH latente, antes del trasplante de órganos (y sangre) de los donantes y los candidatos a trasplante^(12,13,42). La seroconversión (seronegativos a seropositivos) sigue siendo un indicador fiable de infección primaria por CMVH^(4,13). Se recomienda la detección de IgG anti-CMVH, pero no de IgM anti-CMVH por los resultados falsos positivos frecuentes.

El conocimiento del estado serológico del IgG anti-CMVH del donante y el receptor ayudan a la estratificación de los pacientes de los programas de TOS en diferentes categorías de riesgo de enfermedad por CMVH después del trasplante. La categoría de alto riesgo incluye pacientes CMVH D + / R- (donante positivo/receptor negativo), la categoría de riesgo moderado incluye CMVH D + / R + y CMVH D - / R +, la categoría de bajo riesgo incluye pacientes CMVH D- / R-. Dependiendo de la categoría de riesgo, las medidas de prevención recomendadas varían, ya sea con la profilaxis antiviral o tratamiento anticipado guiado por la prueba de antígenos o pruebas de ácidos nucleicos⁽¹³⁾.

La serología para detectar anticuerpos IgM e IgG no se recomienda para el diagnóstico de infección activa o enfermedad en receptores de TOS. Tampoco se usa para monitorear el curso de una infección o la respuesta a un tratamiento debido a la supresión inmune inducida por fármacos, los receptores de TOS tienen una capacidad deteriorada para desarrollar respuestas de anticuerpos, lo que limita la utilidad clínica de la serología para el diagnóstico en tiempo real de la infección aguda por CMVH. La utilidad clínica de la prueba serológica para evaluar la seroconversión CMVH (o su ausencia) en receptores de TOS D+/R- ha sido evaluada como un potencial predictor de enfermedad por CMVH de aparición tardía. La seroconversión al final de un 3 meses profilaxis antiviral en receptores de TOS CMVH D+ / R- no se asoció significativamente con la protección frente a la enfermedad por CMVH de aparición tardía. Por el contrario, la detección de IgG a los 6 meses (en pacientes que recibieron 3 meses de profilaxis antiviral) se asoció con un menor riesgo de enfermedad por CMVH de aparición tardía, aunque el beneficio clínico de este se ve atenuada por el hecho de que la mayoría de CMVH casos de la enfermedad se produce antes de los 6 meses después del trasplante^(12,13).

Este tipo de exámenes presenta varios problemas de interpretación. Por ejemplo la positividad para IgG-CMVH no indica enfermedad, estos anticuerpos persisten de por vida

luego de la infección primaria; la IgM es persistente por 3 a 4 meses después de la primoinfección, pero no se eleva en inmunocompetentes en los que se ha reactivado la infección, por el contrario los inmunosuprimidos no tienen elevaciones en la infección primaria, pero sí en la reinfección; los inmunosuprimidos también pueden tener falsos negativos de IgG debido a que tienen títulos muy bajos; los resultados no diferencian una reinfección de una reactivación⁽³⁵⁾.

Un problema puntual con respecto con la detección de IgM son los falsos positivos producidos por la interferencia del Factor Reumatoide de la clase IgM (IgM-RF), esto se solucionó utilizando la técnica de ELISA de captura en donde la fase sólida contiene anticuerpos IgM monoclonales específicos para una fosfoproteína no estructural de unión al ADN (PP 52 o ppUL44), mostrando una especificidad del 100% para este ensayo⁽⁴⁾. La prueba de oro para detectar anticuerpos IgM es el inmunoblot, tiene una sensibilidad y especificidad de 100%⁽⁴³⁾.

7. Prueba de avidéz y anticuerpos heterófilos

En el diagnóstico de la infección por citomegalovirus es importante diferenciar una infección primaria de una reinfección o una reactivación. Normalmente se asocia un resultado positivo a la prueba de IgM-CMVH con una infección primaria o reciente, sin embargo la persistencia de este anticuerpo en el suero es de hasta 12 meses⁽⁴⁴⁾. Debido a esto es necesario realizar una prueba que permita reconocer los anticuerpos que aparecen en una infección primaria.

La técnica que se emplea es la prueba de avidéz de IgG-CMVH. Este ensayo se sustenta en que los anticuerpos IgG recién producidos frente un patógeno tienen una avidéz (fuerza de unión o intensidad con que un anticuerpo multivalente se une a un antígeno multivalente) baja y que, después de una selección clonal, esta propiedad aumenta, obteniéndose anticuerpos de elevada avidéz contra antígenos específicos^(43,45,46). Por esta razón los anticuerpos de baja avidéz se encuentran en la infección primaria o en una infección reciente, por el contrario los anticuerpos de alta avidéz indican una infección no reciente. Los anticuerpos IgG de avidéz baja aparecen a las 18 -20 semanas de iniciados los síntomas en personas inmunocompetentes⁽⁴³⁾.

Los resultados de la prueba se reportan como porcentajes de IgG unida al antígeno tras el tratamiento con un agente desnaturante como la urea, el cual disocia los complejos antígeno-anticuerpo de baja avidéz⁽⁴⁾.

La principal utilidad de esta prueba es para el diagnóstico de CMVH congénita, el cual depende mucho del estado sérico de la madre. La determinación de anticuerpos IgG-CMVH avidéz, realizado antes de la semana 16 a la 18 del embarazo, identifica todas las mujeres que tendrán un feto / recién nacido infectado (sensibilidad del 100%). Después de una gestación de 20 semanas, la sensibilidad se reduce drásticamente (62,5%). Un índice de alta avidéz durante las primeras 12-16 semanas de gestación podría ser considerado como un buen indicador de una infección pasada⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾.

Es muy importante diferenciar la etiología en la mononucleosis infecciosa, la cual puede ser producida por CMVH y por el virus de Epstein barr (VEB), siendo la producida por este último más relevante desde el punto de vista clínico. En este sentido la prueba de anticuerpos

heterófilos de Paul-Bunell (HetAb) son en realidad un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas, en su mayoría del tipo IgM, que se generan como respuesta a una infección aguda producida solo por el VEB. El antígeno de Paul-Bunell es una glicoproteína compleja que se encuentra en las células infectadas por VEB. Epítomos estructuralmente similares en eritrocitos no humanos (cordero y caballo) producen una reacción cruzada con los HetAb, formando la base de la prueba de aglutinación de células rojas. Los resultados de las pruebas se mejoran absorbiendo los anticuerpos no heterófilos del suero del paciente con ayuda de células del riñón de cobayas y utilizando eritrocitos de caballo, en lugar de los de cordero que se usaban clásicamente. También existen ensayos de aglutinación en látex e inmunocromatografía⁽⁴⁷⁾.

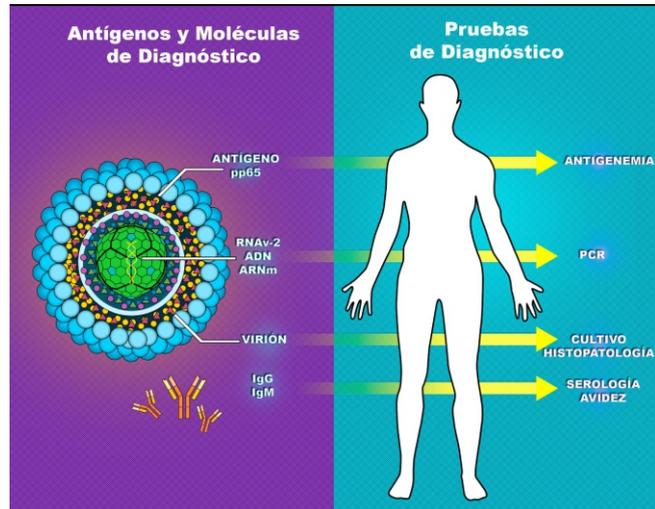


Figura 1: Antígenos y moléculas involucradas en el diagnóstico.

EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Es importante conocer la diferencia entre infección y enfermedad por CMVH, lo cual permitirá elegir la prueba más oportuna y realizar una interpretación apropiada de la misma de acuerdo al cuadro clínico. Así, la infección por CMVH está referida a la replicación viral activa sin presencia de signos o síntomas evidentes, mientras que la enfermedad por CMVH es definida como la presencia de síntomas en asociación con esta misma replicación viral⁽⁴⁸⁾. Asimismo, términos como reinfección, reactivaciones y persistencia son empleados comúnmente bajo el contexto de infección o enfermedad por CMVH. En este sentido tenemos que:

Reinfección: implica que el paciente se infecta de nuevo con una cepa diferente a la de la infección primaria. **Reactivación:** el virus que se encuentra en estado latente y sin replicarse (no se detecta ARNm viral), inicia un nuevo ciclo de replicación, con producción de virus, aunque no necesariamente con sintomatología. **Persistencia:** el virus se replica constantemente aunque en baja tasa, siempre se puede detectar ARNm viral, se ha determinado este estado de persistencia principalmente en pacientes con Sida. En cuanto a las reactivaciones, pueden darse en seropositivos, inclusive hasta de dos cepas latentes diferentes. Se ha observado que el proceso, es edad dependiente, así que la probabilidad de reactivaciones baja casi a cero después de los 30 años de edad⁽³⁵⁾.

1. Diagnóstico En Inmunocompetentes: Mononucleosis Infecciosa

La mononucleosis infecciosa (MI) es un síndrome clínico que es común en adolescentes y adultos jóvenes caracterizado por fiebre, linfadenopatía, faringitis y fatiga. Además otro criterio diagnóstico es la presencia de más de 50% de células mononucleares en sangre periférica, con un porcentaje de linfocitos atípicos mayor de 10 %. Aunque la MI está mayormente asociada con el virus de Epstein-Barr (EBV) en la que los hallazgos de laboratorio incluyen linfocitosis con elevación de linfocitos atípicos, prueba de anticuerpos heterófilos y serología para el VEB positiva. Aproximadamente el 10 % de los pacientes con MI no serán infectados con este virus. Muchos de estos individuos tendrán sus síntomas atribuidos a la infección por CMVH⁽⁴⁹⁾.

La MI producida por CMVH es propia de inmunocompetentes, para su diagnóstico tenemos que considerar que los resultados de laboratorio se caracterizan por una menor proporción de linfomonocitosis, sin los anticuerpos heterófilos ni los específicos del VEB. Asimismo las pruebas hepáticas se encuentran alteradas con aumento de transaminasas y fosfatasa alcalina, a veces con aumento de bilirrubinas. En cuanto a las pruebas específicas para CMVH por tratarse de inmunocompetentes las serológicas son muy útiles, el diagnóstico de infección reciente por citomegalovirus se efectúa mediante la detección de IgM específica, seroconversión o aumento cuádruple del título de IgG específica, en presencia de un cuadro clínico compatible⁽⁵⁰⁾ en el caso de presentarse un cuadro clínico inespecífico la prueba de avidez de IgG representaría una gran ayuda.

2. Diagnóstico de infecciones por CMVH en Inmunodeprimidos

La infección con CMVH es una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, principalmente los sometidos a trasplante. En este grupo los cuadros clínicos más frecuentes son:

Neumonía: enfermedad potencialmente mortal con síntomas no específicos en la mayoría de los casos. El diagnóstico se basa en evidencias clínicas y radiológicas. Además microbiológicamente CMVH puede detectarse en la sangre, el lavado bronco alveolar o en el tejido pulmonar. La tinción inmunohistoquímica para la identificación viral o la demostración de cuerpos de inclusión citomegálica en la biopsia de pulmón es la prueba patrón de oro, pero la biopsia no es siempre una opción viable en tales casos⁽⁷⁾.

Infección gastrointestinal: Suele ocurrir dentro de uno a dos años del trasplante. Es una condición ulcerosa que afecta principalmente el tracto gastrointestinal superior. El cuadro característico es la esofagitis con odinofagia y disfagia. Las pruebas serológicas y de antigenemia tienen poca utilidad, el examen endoscópico permite revelar la ulceración característica que se confirma por la presencia de cuerpos de inclusión citomegálica en una biopsia⁽⁷⁾.

Infecciones del sistema nervioso central: Se observa en pacientes con trastorno de inmunodeficiencia profunda como en el trasplante de médula ósea o el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Se presenta con una rápida progresión del trastorno cognitivo, junto con parálisis del nervio craneal. En este caso, ante la imposibilidad de solicitar biopsia, y la ineficacia de la serología y antigenemia por la ausencia de respuesta inmunológica en este tipo de pacientes, la herramienta diagnóstica más apropiada es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de CMVH en el Líquido Cefalorraquídeo.

Retinitis: es un trastorno progresivo lento que generalmente comienza a partir de un sitio periférico de la retina, causando un daño mínimo a las capacidades visuales de los pacientes en la etapa temprana de la infección. La linfopenia es un factor de riesgo importante para el desarrollo de la retinitis por HCMV. El dosaje de carga viral en humor acuoso en un PCR cuantitativo se puede utilizar como herramienta de diagnóstico en este tipo de patología⁽⁵¹⁾.

3. Infección en embarazadas

El diagnóstico más definitivo de la infección primaria CMVH en una mujer embarazada es mediante la detección de la seroconversión, es decir, la aparición de anticuerpos IgG CMVH específica durante el embarazo en una mujer previamente seronegativa. Cuando este resultado no se puede lograr, la detección de anticuerpos IgM durante el embarazo, así como durante el seguimiento (cuando sea posible) se puede utilizar para determinar la infección por CMVH primaria clínicamente significativa. La prueba adicional por la prueba de avidez de IgG puede ser de gran ayuda tanto en confirmar y aclarar el significado clínico de anticuerpos IgM. Cuando, al final del algoritmo de diagnóstico, una infección primaria CMVH o bien se diagnostica o se sospecha, el diagnóstico prenatal debe ofrecerse a una mujer embarazada para verificar si la infección se ha transmitido al feto. Sin embargo, antes de la realización de procedimientos de diagnóstico prenatal, el diagnóstico de la infección primaria puede ser confirmada o sustancialmente el apoyo de la realización de ensayos para la detección de virus o virus de productos de la sangre de la madre⁽⁴⁾.

4. infección congénita por CMVH

La enfermedad congénita por CMVH con frecuencia produce graves trastornos del neurodesarrollo, que incluyen la pérdida de audición neurosensorial, retraso mental, microcefalia, retraso del desarrollo, trastornos convulsivos y parálisis cerebral⁽⁵²⁾. Los mecanismos por los que el CMVH lesiona el feto son complejos y es probable que incluyan una combinación de lesión fetal directa inducida por los productos génicos codificados por virus patológicos, la incapacidad de la respuesta inmune materna para controlar la infección, y el impacto directo de la infección en la función placentaria. CMVH codifica productos génicos que funcionan, tanto en el ARN y a nivel de proteína, para interferir con muchos procesos celulares⁽⁵³⁾.

Es muy importante diferenciar la infección congénita de la infección adquirida perinatal, debido a que la segunda no representa un mayor riesgo de secuelas. Por ello las 2 herramientas principales para su diagnóstico son el aislamiento viral y la identificación del ADN viral por PCR a partir del líquido amniótico. El diagnóstico en el recién nacido se realiza mediante la detección viral en los fluidos corporales a través de PCR, cultivo, o la prueba de antígeno (antígeno pp65) dentro de las primeras 3 semanas de vida. El hallazgo de anticuerpos CMVH o ADN viral después de este punto hace indistinguibles la infección congénita de la posnatal. Los títulos de anticuerpos no pueden hacer el diagnóstico fiable debido a que la IgG CMVH materna atraviesa la placenta, y los recién nacidos suelen montar respuestas IgM débiles. Las muestras preferidas son la saliva y la orina debido a que los recién nacidos arrojan altos niveles del virus de estos fluidos. Las muestras de saliva se pueden obtener con mayor facilidad y han demostrado ser tan fiable como las muestras de orina en el diagnóstico de CMVH, por lo que algunos proponen que el PCR de la saliva se debe considerar la prueba de elección⁽⁵²⁾.

5. Infección perinatal

La frecuencia de la infección perinatal y posnatal temprana por CMVH es alta. La exposición temprana o prolongada a la leche materna es un factor asociado. Sin embargo, la mayoría de las infecciones son asintomáticas, lo que indica que la infección por CMVH en los recién nacidos prematuros no es un problema grave con frecuencia⁽⁵⁴⁾. Para establecer este diagnóstico se requiere un estudio tanto de la madre como del niño, en la cual se puede determinar por serología la positividad de la madre o analizando la presencia de ADN viral en leche materna y en la orina del infante⁽⁵⁵⁾.

El 2014 el Comité de Estándares y el Grupo Castrillo de la Sociedad Española de Neonatología emitió una propuesta sobre el cribado de infección por CMVH en prematuros <1.500g⁽⁵⁶⁾. En ella se recomienda realizar cribado universal mediante PCR en orina a los prematuros <1.500g entre las 4 y 6 semanas de vida. Esta estrategia permitiría detectar a los pacientes con infección congénita y posnatal por CMVH. El problema surge al intentar diferenciar el origen congénito o posnatal de la infección en pacientes asintomáticos. El algoritmo sugiere la realización de una PCR en muestra de sangre seca de las pruebas metabólicas recogida en las 2 primeras semanas de vida (práctica poco extendida en países en vías de desarrollo). Una PCR positiva indicaría infección congénita y una prueba negativa una infección probablemente adquirida. Sin embargo, la escasa sensibilidad de la PCR que oscila entre 35% y 50% en sangre seca podría ocasionar un alto porcentaje de falsos negativos en niños con infección congénita, con implicaciones en el tratamiento y seguimiento a largo plazo⁽⁵⁷⁾.

CONCLUSIONES

Existen diversas pruebas de apoyo al diagnóstico para la infección y/o enfermedad por CMVH, las cuales deben de ser empleadas considerando el tipo de cuadro clínico. Una elección inadecuada de las mismas, podría llevar a sobrediagnósticos y tratamientos inadecuados en perjuicio de la salud del paciente.

TÉCNICA	PRINCIPIO	UTILIDAD	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Aislamiento en cultivo celular				
Cultivo en tubo	Crecimiento viral en fibroblastos humanos	Investigación/infección congénita	Altamente específico para la infección por CMV ³ . El virus aislado puede usarse en investigaciones	Tiempo de procesamiento prolongado; poca sensibilidad
Shell vial	Detección del crecimiento viral utilizando Ac monoclonales	Investigación/infección congénita	Altamente específico para la infección por CMV ³ .	baja sensibilidad
Histología	Demostración de células infectadas (células agrandadas con inclusiones nucleares)	neumonía; infección gastrointestinal	Altamente específico para la enfermedad invasiva	Métodos invasivos para obtener la muestra; no tienen utilidad para evaluar la respuesta al Tto ⁴
Microscopía electrónica	Detección de partículas virales	Investigación	Puede ser altamente específica; confirma infección por CMV ³ .	Necesita entrenamiento en la técnica y equipo adecuado; no diferencia enfermedad de infección
Métodos basados en Ácidos Nucleicos				
Detección de ADN viral	PCR ⁸ para detectar ADN viral	infección congénita y perinatal	Altamente sensible y específica; indica la severidad de la enfermedad (carga viral) ⁹ ; se utiliza para aplicar terapia preventiva, ¹⁰ monitorizar el Tto 4 antiviral (carga viral);	sin un umbral viral aceptado para predecir la enfermedad (PCR ^{cuantitativo}); la alta sensibilidad detecta CMV ³ latente; poca especificidad clínica
Detección de ARNm viral	PCR ⁸ con transcriptasa inversa para detectar ARNm viral	infección congénita y perinatal	Altamente sensible y específico para indicar replicación viral; utilidad clínica para la terapia preventiva	Resultados cualitativos; menor sensibilidad que la PCR ⁸ para ADN; posibles falsos negativos
Detección de Híbridos ADN-ARN	Detecta híbridos AD-ARN	infección congénita y perinatal	Altamente específico para infecciones por CMV	Menos sensible que los ensayos de amplificación
Detección de antígenos virales por IFA (antigenemia)¹	Detección del Ag ⁷ PP65	infección congénita y perinatal	La cuantificación (nº de células infectadas) puede indicar enfermedad y gravedad; monitorizar la respuesta al tratamiento	Interpretación subjetiva de los resultados; requiere procesamiento rápido; no es útil en pacientes leucopénicos; escasas de estandarización del nº de células positivas para varias indicaciones clínicas
Diagnóstico Serológico (ELISA, Inmunoblot)	Detección de Ac ⁵ IgM e IgG contra CMV	embarazadas; infección y enfermedad en inmunocompetentes/receptores de transplantados	Permiten un screening para evaluar el riesgo de enfermedad en pacientes receptores de TOS ⁹	Títulos de IgG no indican enfermedad (persisten de por vida); IgM permanecen en circulación hasta por 12 meses; falsos positivos por interferencia del Factor Reumatoide (IgM-RF); no se diferencian reinfecciones de reactivaciones
Test avidéz	Avidéz con que se unen los Ac ⁶ IgG según el tipo de infección	embarazadas; infección y enfermedad en inmunocompetentes; infección perinatal	Sensibilidad y especificidad del 100% para IgM con la técnica de Inmunoblot	Disminución del valor predictivo después de la semana 20 de gestación; no útil en el diagnóstico de CMVH ^{congénico}
Anticuerpos heterólogos	Agglutinación de eritrocitos no humanos por reacción cruzada de anticuerpos	mononucleosis infecciosa	Diferencian infección primaria de infecciones pasadas; en gestantes permiten conocer la posible infección del feto	Poca especificidad y baja sensibilidad

Tabla 1. 1 Líquido Cefalorraquídeo; 2 Características Citopatológicas; 3 Citomegalovirus; 4 Tratamiento; 5 Anticuerpos⁶ Inmunofluorescencia; ⁷ Antígeno; ⁸ Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la Polimerasa); ⁹ Trasplante de Órgano Sólido; ¹⁰ Virus^{Epsilon} – Barr.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cunningham C, Gatherer D, Hilfrich B, Baluchova K, Dargan DJ, Thomson M, et al. Sequences of complete human cytomegalovirus genomes from infected cell cultures and clinical specimens. *J Gen Virol*. 2010;91(Pt 3):605–15.
2. Hasegawa T, Aisa Y, Shimazaki K, Ito C, Nakazato T. Cytomegalovirus reactivation in patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2016;96(1):78–82.
3. Miller MS, Hertel L. Onset of human cytomegalovirus replication in fibroblasts requires the presence of an intact vimentin cytoskeleton. *J Virol*. 2009;83(14):7015–28.
4. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(4):680–715.
5. Lin T-M. Increased incidence of cytomegalovirus but not Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of arteries of lower extremities from patients with diabetes mellitus undergoing amputation. *J Clin Pathol*. 2003;56(>6):429–32.
6. Huang MM, Kew VG, Jestice K, Wills MR, Reeves MB. Efficient human cytomegalovirus reactivation is maturation dependent in the Langerhans dendritic cell lineage and can be studied using a CD14+ experimental latency model. *J Virol*. 2012;86(16):8507–15.
7. Bhat V, Joshi A, Sarode R, Chavan P. Cytomegalovirus infection in the bone marrow transplant patient. *World J Transplant*. 2015;5(4):287–91.
8. Razeghi E, Hadadi A, Mansor-Kiaei M, Molavi M, Khashayar P, Pourmand G. Clinical manifestation, laboratory findings, and the response of treatment in kidney transplant recipients with CMV infection. *Transplant Proc*. 2007;39(4):993–6.
9. Nishikawa J, Funada H, Miyazaki T, Fujinami H, Miyazono T, Murakami J, et al. Infectious mononucleosis with atypical manifestations accompanied by transient IgM antibody response for cytomegalovirus. *J Infect Chemother*. 2011;17(5):686–8.
10. Carlson A, Norwitz ER, Stiller RJ. Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? *Rev Obstet Gynecol*. 2010;3(4):172–9.
11. Lanzieri TM, Dollard SC, Bialek SR, Grosse SD. Systematic review of the birth prevalence of congenital cytomegalovirus infection in developing countries. *Int J Infect Dis*. 2014;22:44–8.
12. Nakamura Y. Laboratory diagnosis of CMV infection. *Nippon rinsho Japanese J Clin Med*. 2009;57 Suppl(02):264–7.
13. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(4):703–27.
14. Aktories K, Fakulta M, Compans RW, Cooper MD, Road C, Ag IG, et al. Current Topics in Microbiology and Immunology Volume 325: Human Cytomegalovirus. 2008. 477 p.
15. Dargan DJ, Douglas E, Cunningham C, Jamieson F, Stanton RJ, Baluchova K, et al. Sequential mutations associated with adaptation of human cytomegalovirus to growth in cell culture. *J Gen Virol*. 2010;91(6):1535–46.
16. Lieber D, Hochdorfer D, Stoehr D, Schubert A, Lotfi R, May T, et al. A permanently growing human endothelial cell line supports productive infection with human cytomegalovirus under conditional cell growth arrest. *Biotechniques*. 2015;59(3):127–36.
17. Wang W, Yu P, Zhang P, Shi Y, Bu H, Zhang L. The infection of human primary cells and cell lines by human cytomegalovirus: New tropism and new reservoirs for HCMV. *Virus Res*. 2008;131(2):160–9.
18. Cerboni C, Mousavi-Jazi M, Linde A, Söderström K, Brytting M, Wahren B, et al. Human cytomegalovirus strain-dependent changes in NK cell recognition of infected fibroblasts. *J Immunol (Baltimore, Md 1950)*. 2000;164(9):4775–82.
19. Baldanti F, Gerna G. Human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs: diagnosis, monitoring and clinical impact. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(3):324–30.
20. Jain M, Duggal S, Chugh TD. Cytomegalovirus infection in non-immunosuppressed critically ill patients. *J Infect Dev Ctries*. 2011;5(8):571–9.
21. Domenech E, Vega R, Ojanguen I, Hernandez A, Garcia-Planella E, Bernal I, et al. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: a prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(10):1373–9.
22. Choi YL, Kim JA, Jang KT, Kim DS, Kim WS, Lee JH, et al. Characteristics of cutaneous cytomegalovirus infection in non-acquired immune deficiency syndrome, immunocompromised patients. *Br J Dermatol*. 2006;155(5):977–82.
23. Costa C, Delsedime L, Solidoro P, Curtoni A, Bergallo M, Libertucci D, et al. Herpesviruses Detection by Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction in Bronchoalveolar Lavage and Transbronchial Biopsy in Lung Transplant: Viral Infections and Histopathological Correlation. *Transplant Proc*. Elsevier Inc.; 2010;42(4):1270–4.
24. Moreira R, Norton C. Histopathologically documented gastrointestinal cytomegalovirus infection in immunosuppressed patients: Clinicopathologic analysis with serum quantitative. *J Med*. 2010;2(March):49–59.
25. Mattes FM, McLaughlin JE, Emery VC, Clark DA, Griffiths PD. Histopathological detection of owl's eye inclusions is still specific for cytomegalovirus in the era of human herpesviruses 6 and 7. *J Clin Pathol*. 2000;53(8):612–4.
26. Graham L, Orenstein JM. Processing tissue and cells for transmission electron microscopy in diagnostic pathology and research. *Nat Protoc*. 2007;2(10):2439–50.
27. Lilleri D, Gerna G, Furione M, Bernardo ME, Giorgiani G, Telli S, et al. Use of a DNAemia cut-off for monitoring human cytomegalovirus infection reduces the number of preemptively treated children and young adults receiving hematopoietic stem-cell transplantation compared with qualitative pp65 antigenemia. 2007;110(7):2757–60.
28. Mengoli C, Cusinato R, Biasolo MA, Cesaro S, Parolin C, Palù G. Assessment of CMV load in solid organ transplant recipients by pp65 antigenemia and real-time quantitative DNA PCR assay: Correlation with pp67 RNA detection. *J Med Virol*. 2004;74(1):78–84.
29. Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008 [cited 2016 May 7]. Available from: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-540-77349-8>.
30. Pérez JL. Técnicas de monitorización de la infección por citomegalovirus en los trasplantados de órgano sólido. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Elsevier; 2011;29(SUPPL.6):18–23.
31. Hayden RT, Gu Z, Ingersoll J, Abdul-Ali D, Shi L, Pounds S, et al. Comparison of droplet digital PCR to real-time PCR for quantitative detection of cytomegalovirus. *J Clin Microbiol*. 2013;51(2):540–6.
32. Duan Y, Miao L, Ye H, Yang C, Fu B, Schwartz PH, et al. A faster immunofluorescence assay for tracking infection progress of human cytomegalovirus. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2012;44(7):597–605.
33. Schröder R, Michelon T, Fagundes I, Bortolotto A, Lammerhirt E, Oliveira J, et al. Antigenemia for cytomegalovirus in renal transplantation: choosing a cutoff for the diagnosis criteria in cytomegalovirus disease. *Transplant Proc*. 2005 Jan;37(6):2781–3.
34. Kim JM, Kim SJ, Joh J-W, Shin M, Moon JI, Jung GO, et al. The risk factors for cytomegalovirus syndrome and tissue-invasive cytomegalovirus disease in liver transplant recipients who have cytomegalovirus antigenemia. *Transplant Proc*. 2010 Apr;42(3):890–4.
35. Alfaro W. Utilidad de la prueba de antigenemia cuantitativa (en leucocitos) en el diagnóstico de infección activa por citomegalovirus. *Rev Médica del Hosp Nac Niños Dr Carlos Sáenz Herrera. Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera; 2016 Mar 5] ; 30 (1 - 2) : 51 - 9 . Available from : http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461995000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=es*
36. Kim JW, Boo SJ, Ye BD, Kim CL, Yang SK, Kim J, et al. Clinical utility of cytomegalovirus antigenemia assay and blood cytomegalovirus DNA PCR for cytomegalovirus colitis patients with moderate to severe ulcerative colitis. *J Crohn's Colitis. European Crohn's and Colitis Organisation; 2014;8(7):693–701*.
37. Yoda Y, Hanaoka R, Ide H, Isozaki T, Matsunawa M, Yajima N, et al. Clinical evaluation of patients with inflammatory connective tissue diseases complicated by cytomegalovirus antigenemia. *Mod Rheumatol*. 2006 Jan;16(3):137–42.
38. Han XY. Epidemiologic analysis of reactivated cytomegalovirus antigenemia in patients with cancer. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1126–32.
39. Limaye AP, Raghun G, Koelle DM, Ferrenberg J, Huang M-L, Boeckh M. High incidence of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection among lung transplant recipients receiving preemptive therapy. *J Infect Dis [Internet]*. 2002 Jan 1 [cited 2016 Mar 23] ; 185 (1) : 20 - 7 . Available from : <http://jid.oxfordjournals.org/content/185/1/20.full>
40. Nakamura R, Battiwalla M, Solomon S, Follmann D, Chakrabarti S, Cortez K, et al. Persisting posttransplantation cytomegalovirus antigenemia correlates with poor lymphocyte proliferation to cytomegalovirus antigen and predicts for increased late relapse and treatment failure. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 Jan;10(1):49–57.
41. Genini E, Percivalle E, Sarasini A, Revello MG, Baldanti F, Gerna G. Serum antibody response to the gH/gL/pUL128-131 five-protein complex of human cytomegalovirus (HCMV) in primary and reactivated HCMV infections. *J Clin Virol. Elsevier B.V.; 2011;52(2):113–8*.
42. Stern M, Hirsch H, Cusini A, van Delden C, Manuel O, Meylan P, et al. Cytomegalovirus Serology and Replication Remain Associated With Solid Organ Graft Rejection and Graft Loss in the Era of Prophylactic Treatment. *Transplantation*. 2014;00(00):1–6.
43. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol [Internet]*. 2008 Mar [cited 2016 Feb 20] ; 41 (3) : 192 - 7 . Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18054840>
44. Munro SC, Hall B, Whybin LR, Leader L, Robertson P, Maine GT, et al. Diagnosis of and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women. *J Clin Microbiol*. 2005 Sep;43(9):4713–8.
45. Kanengisser-Pines B, Hazan Y, Pines G, Appelman Z. High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patients with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy. *J Perinat Med*. 2009 Jan;37(1):15–8.
46. González-García CL, Reyes-Méndez MA, Ortega-Pierres LE, Rodríguez-Sánchez AP, Sandoval-Guido V, Sereno-Coló JA. Seroprevalence and detection of primary infection by cytomegalovirus with IgG avidity test during the first quarter of pregnancy. *Salud Pública Mex*. 2014;56(6):619–24.
47. Sierra CBC, Brito YS, Medicina E De. Infecciones por virus de Epstein-Barr y citomegalovirus en pacientes con síndrome mononucleósico. *Panor Cuba y Salud*. 2013;8(3):15–20.
48. Julián Núñez MA, Miranda Novales MG, Flores Ruiz EM, Guerra Gallo I, Solórzano Santos F, Vázquez Rosales JG. Frecuencia de infección y enfermedad por citomegalovirus y factores de riesgo para su desarrollo en pacientes pediátricos. *Bol Med Hosp Infant Mex. Instituto Nacional de Salud, Hospital Infantil de México Federico Gómez*. 2012;69(5):355–66.
49. Bravender T. Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis. *Adolesc Med State Art Rev*. 2010;21(2):251–64.

50. Vujacich C, Vidiella G, Barcelona L, Sturba E, Stamboulian D. Infección por Citomegalovirus con compromiso hepático en adultos inmunocompetentes. *Med (Buenos Aires)* [Internet]. Fundación Revista Medicina (Buenos Aires); [cited 2016 Mar 9]; 66(3):206-10. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802006000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
51. Gupta MP, Coombs P, Prockop SE, Hasan AA, Doubrovina E, O'Reilly RJ, et al. Treatment of cytomegalovirus retinitis with cytomegalovirus-specific T-lymphocyte infusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2015;46(1):80-2.
52. Swanson EC, Schleiss MR. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(2):335-49.
53. Schleiss MR. Congenital cytomegalovirus infection: molecular mechanisms mediating viral pathogenesis. *Infect Disord Drug Targets*. 2011;11(5):449-65.
54. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, do Carmo Rego MA, Pinto PCG, da Motta MSF, Calixto C. Perinatal or early-postnatal cytomegalovirus infection in preterm infants under 34 weeks gestation born to CMV-seropositive mothers within a high-seroprevalence population. *J Pediatr*. 2004;145(5):685-8.
55. Omarsdottir S, Casper C, Zwegyberg Wirgart B, Grillner L, Vanpée M. Transmission of cytomegalovirus to extremely preterm infants through breast milk. *Acta Paediatr*. 2007;96(4):492-4.
56. Botet F, Figueras Aloy J, Álvarez E, de Alba C, Dorronsolo I, Echaniz Urcelay I, et al. [Universal cytomegalovirus infection screening in premature newborns less than 1500 g]. *An Pediatr (Barcelona, Spain 2003)*. 2014;81(4):256.e1-4.
57. Escosa-García L, Baquero-Artigao F, Noguera Julian A, Blázquez Gamero D. [Cytomegalovirus screening in less than 1500 g premature newborns. National Congenital Cytomegalovirus Disease Registry Scientific committee]. *An Pediatr (Barcelona, Spain 2003)*. Elsevier; 2015;83(1):70-1.

Revisión de pares:

Recibido: 23/03/16 Aceptado: 20/06/16