

# DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR EL CITOMEGALOVIRUS HUMANO

David Navarro Ortega  
Servicio de Microbiología. Hospital Clínico y Facultad de Medicina. Valencia

---

## INTRODUCCIÓN

La infección por el citomegalovirus humano (CMVH) es muy frecuente en nuestro entorno, aunque sólo es grave en los pacientes inmunodeprimidos (trasplantados, pacientes con sida, etc.) y en los neonatos, que la adquieren durante el periodo fetal y que desarrollan la enfermedad citomegálica. En el individuo inmunocompetente, la infección por CMVH raramente es sintomática; cuando lo es, suele manifestarse bajo la forma de un síndrome mononucleósico autolimitado, clínicamente indistinguible del que produce el virus de Epstein-Barr, o de una hepatitis subclínica. Como el resto de los herpesvirus, el CMVH genera infecciones latentes/persistentes que el sistema inmunitario no puede erradicar y que, ocasionalmente, se reactivan, sobre todo en el paciente inmunodeprimido. Además, el individuo infectado por una cepa determinada de CMVH no es inmune a la infección por otra cepa heterotípica (reinfección). El CMVH puede producir enfermedad después del primer contacto con el virus (primoinfección), como consecuencia de la reactivación del virus latente o, en un individuo ya infectado, tras la exposición a una cepa heterotípica. De forma característica, la enfermedad citomegálica congénita se asocia a la primoinfección materno-fetal. También, la enfermedad orgánica por CMVH en los pacientes sometidos a un trasplante de órgano sólido es, generalmente, consecuencia de una infección primaria, mientras que la que afecta a los enfermos que reciben un trasplante de médula ósea y a los pacientes con sida suele estar relacionada con episodios de reactivación.

## CINÉTICA DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS FRENTE AL CMVH

En las personas inmunocompetentes, los anticuerpos séricos de clase IgM frente a CMVH son detectables 7-12 días después de la infección primaria, y tardan 2-3 semanas en alcanzar su nivel máximo. Después, decrecen paulatinamente hasta ser indetectables unos meses más tarde. No obstante lo anterior, las IgM pueden persistir en el suero un año o más tras la primoinfección, aun en ausencia de infección activa (replicación del virus). Los anticuerpos de clase IgG pueden detectarse en el suero a las 4-6 semanas posteriores a la infección y, aunque su nivel declina, generalmente persisten en el suero de por vida, si bien en concentraciones bajas. La avidéz con que estos anticuerpos se unen al CMVH aumenta con el tiempo (maduración de la afinidad), alcanzando su máximo a los 4-5 meses tras la infección. Por otra parte, es conveniente precisar que los anticuerpos que detectan todos los procedimientos serológicos disponibles, a excepción de la técnica de seroneutralización, reconocen mayoritariamente proteínas del tegumento (fosfoproteínas) del virus y no glucoproteínas de su membrana, por lo que en modo alguno existe correlación entre el grado de protección frente al CMVH circulante, que sólo confieren los anticuerpos capaces de neutralizarlo, y el nivel de anticuerpos determinado por estos métodos. La reactivación de la infección latente y la reinfección por una cepa heterotípica generan un efecto *booster*, que suele traducirse en un incremento apreciable del nivel basal de los anticuerpos IgG. Aunque en estas circunstancias la reaparición de las IgM en el suero es posible, no es lo habitual.

## MÉTODOS QUE DETECTAN ANTICUERPOS FRENTE AL CMVH

Disponemos de una gran variedad de técnicas serológicas que permiten detectar anticuerpos de las clases IgG e IgM frente al CMVH, de forma individual o conjunta, cuyas características se resumen en la Tabla 1. En ellas, el sustrato antigénico de la reacción es, o bien un extracto de células infectadas por la cepa AD169, o bien partículas víricas purificadas mediante centrifugación en gradiente de densidad. Las técnicas más habituales son la fijación de complemento, la inmunofluorescencia (indirecta y anticomplementaria), la aglutinación pasiva y los métodos inmunoenzimáticos (EIA).

La fijación de complemento, que detecta conjuntamente IgG e IgM, adolece de falta de sensibilidad y es muy laboriosa. La inmunofluorescencia indirecta es más sensible que la fijación de complemento, permite la detección individualizada de distintos tipos de anticuerpos, pero genera falsos positivos por la presencia de receptores Fc, inducidos por el CMVH, en las células infectadas que sirven de sustrato antigénico de la reacción. La aglutinación con partículas de látex sensibilizadas con antígeno de CMV permite la detección conjunta de IgG e IgM y es sensible, específica, sencilla y rápida de ejecución, cualidades que la convierten, en su formato cualitativo, en una buena técnica de cribado. La versión cuantitativa de la técnica es también fiable para demostrar incrementos en los niveles séricos de anticuerpos.

Los métodos inmunoenzimáticos, tanto los que emplean una fase sólida ordinaria como los que utilizan micropartículas (métodos MEIA), son muy sensibles, los reactivos están comercializados y los procedimientos automatizados; en general, son muy específicos y permiten cuantificar y determinar de forma individual los niveles de diferentes isotipos de anticuerpos. Además, con las técnicas inmunoenzimáticas se puede evaluar el índice de avidéz de los anticuerpos IgG contra el CMVH, simplemente determinando la reactividad (absorbancia) del suero en presencia o ausencia de urea (4,5-8M) en el tampón de lavado y después calculando el cociente. Los EIA comerciales que detectan anticuerpos IgG frente a CMVH son, en general, muy sensibles y específicos, de modo que no hay diferencias sustanciales entre ellos en cuanto a su eficacia diagnóstica. En cambio, los EIA comerciales para IgM son problemáticos. En el mercado existen dos tipos de EIA para la detección de IgM frente al CMVH: indirecto y de inmunocaptura. Este segundo formato es, sin duda, preferible por cuanto genera menos falsos positivos, al no existir interferencia posible con el factor reumatoide, lo que permite evitar la absorción de los sueros positivos con dicho factor

para confirmar su positividad, paso que sí es necesario en los EIA indirectos. La técnica de captura evita también los resultados falsos negativos de aquellos sueros con altas concentraciones de IgG, que se producen por la competición directa en la fijación al antígeno. El porcentaje de sueros con resultado de IgM anti-CMVH discordante según se utilice una técnica comercial u otra se sitúa entre un 20-30%.

Las técnicas de fijación de complemento y de inmunofluorescencia han sido sustituidas por la aglutinación y los EIA en la mayoría de laboratorios de serología. En esa línea, se recomienda uno de estos métodos para la determinación de anticuerpos IgG, y el EIA de captura para la detección de IgM específicas.

En la actualidad se trabaja en el diseño de nuevos EIA (en formato ELISA y *western-blot*) que mejoren las prestaciones de las técnicas de que disponemos. Me referiré a varios de esos prototipos, ahora en fase avanzada de evaluación, y que probablemente serán comercializados en breve.

**Tabla 1. Características de las técnicas de diagnóstico serológico de la infección por el CMVH.**

Técnica	Ventajas	Inconvenientes
Fijación de complemento	Ninguna	Laboriosa No permite detectar los distintos isotipos Poco sensible
Inmunofluorescencia		
Indirecta	Sensible Detecta isotipos	Falsos positivos IgG
Anticomplementaria	Muy sensible Evita los falsos positivos de la técnica indirecta	Laboriosa Sólo detecta IgG
Aglutinación con látex	Sencilla Rápida Sensible	Detecta anticuerpos totales Fenómeno de prozona
Enzimoimmunoensayos		
IgG	Automatizado Muy sensible	Ninguno importante
IgM indirecto	Comunes a otros EIA	Absorber sueros positivos con factor reumatoide para evitar falsos positivos Falsos negativos
IgM de captura	Elevada sensibilidad	Discordancia entre resultados obtenidos por diferentes técnicas

### Nuevos EIA para la detección de IgG

Las pruebas comerciales disponibles utilizan, como substrato antigénico de la reacción, extractos de células infectadas que contienen 50-100 proteínas (estructurales y no estructurales) o bien partículas víricas purificadas mediante gradiente (30-55 proteínas estructurales). Los falsos positivos de estos procedimientos, entre un 2% y un 10%, dependiendo de la técnica, se producen por una reacción indeseada de los anticuerpos séricos con las proteínas celulares adsorbidas a la fase sólida o, en individuos infectados por otros herpesvirus, por la comunidad antigénica entre proteínas conservadas de los distintos virus de la familia. Los nuevos ELISA con proteínas recombinantes o péptidos sintéticos solventan estos problemas de especificidad. La utilización exclusiva de un fragmento de la fosfoproteína pp150, la que comprende los aminoácidos 555-701, es suficiente para identificar a las personas infectadas por el CMVH. Asimismo, la combinación de varios péptidos de las proteínas pp150, la glucoproteína de membrana gB y la fosfoproteína pp28 ha permitido diseñar un método ELISA de gran especificidad y con una sensibilidad del 98,9%.

### Nuevos EIA para la detección de IgM

Existe un prototipo de EIA que utiliza péptidos sintéticos de la secuencia de las pp150 y pp52. Este método parece muy sensible (96,4%), y de máxima especificidad.

### Western-blot

Recientemente se ha desarrollado un *western-blot* que contiene proteínas víricas purificadas (pp150, p82, pp65, pp28) y proteínas recombinantes (rp150, rp52, rp130 y rp38) con el que se consigue una extraordinaria eficacia diagnóstica (sensibilidad del 100%, especificidad del 98,6% y valores predictivos positivo y negativo del 96,9% y del 100%, respectivamente).

## SITUACIONES EN QUE RESULTA ÚTIL PRACTICAR UNA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL CMVH

- Para saber si un individuo está o no infectado por el virus. Esta información es crucial en el trasplante de órganos: el saber si el donante potencial y el receptor son o no seropositivos, permite estimar el riesgo que tiene este último de sufrir enfermedad orgánica y, en consecuencia, instaurar o no medidas profilácticas específicas. Este tipo de cribado, aplicado a los productos sanguíneos, permite evitar la transmisión parenteral de la infección, si bien la utilidad real en estas circunstancias es más limitada, por razones prácticas.
- Para diagnosticar la infección primaria por CMVH, tanto en el paciente normal como en el inmunodeprimido (tabla 2). Los métodos diagnósticos directos no permiten distinguir la infección primaria de la reactivación y reinfección. Tan sólo la demostración de seroconversión, por cualquier método serológico, permite el diagnóstico cierto de infección primaria. A señalar que la presencia de IgM específicas en el suero, no necesariamente indica primoinfección, por cuanto éstas pueden persistir varios meses después de la infección, estar presentes en la infección primaria o en las reactivaciones causadas por otros herpesvirus (por ejemplo, el herpesvirus humano 6 y el virus de Epstein-Barr), o reaparecer en las reactivaciones y en las reinfecciones. La presencia en el suero de anticuerpos de clase IgG de avidez (absorbancia después de lavados con urea /absorbancia después de lavados sin urea X100) inferior al 35%, y la ausencia de anticuerpos neutralizantes, determinados mediante técnicas de neutralización, sugieren una infección reciente y, por tanto, pueden ayudar a establecer el diagnóstico de infección primaria. Por el contrario, la determinación de anticuerpos no aporta información útil para el diagnóstico de la infección activa o de la enfermedad orgánica en el paciente inmunodeprimido seropositivo. Por último, la determinación de anticuerpos funcionales (neutralizantes-anti-glucoproteína gB) puede tener interés en la predicción del riesgo de desarrollo de enfermedad orgánica o en el control evolutivo de ésta, tal y como se ha demostrado en pacientes sometidos a trasplante de médula ósea y en pacientes con sida.

**Tabla 2. Infección por el CMVH: diferenciación serológica entre la infección primaria y las secundarias (reactivación o reinfección)**

Dato analítico	Infección primaria	Infección secundaria
Seroconversión	Sí	No
Nivel alto IgG en muestra única	Sí	Si
Detección de IgM	Sí	Posible
Avidez de las IgG	<30%	>65%
Anticuerpos neutralizantes	Ausentes, en general	Presentes

## SEROLOGÍA DE CMVH DURANTE EL EMBARAZO E INFECCIÓN CONGÉNITA.

No disponemos de datos precisos sobre la incidencia en nuestro país de la infección congénita por CMVH; no parece, en cualquier caso, que constituya un problema sanitario de primer orden. Este tipo de infección, sobre todo si se produce en el primer trimestre de la gestación, puede lesionar seriamente al feto (aborto e infección sistémica del neonato), o generar un daño neurológico en él, cuya manifestación clínica puede demorarse incluso hasta la infancia tardía; no obstante, lo habitual es que sea asintomática y no deletérea para el feto. La infección fetal de consecuencias graves se asocia con la primoinfección materna y casi nunca con una reactivación de la infección latente en ella. Por lo tanto, la demostración de anticuerpos en una muestra de suero tomada antes del embarazo prácticamente excluye la posibilidad de que se produzca más tarde infección fetal clínicamente significativa.

Puesto que, por el momento, no podemos prevenir ni tratar la infección congénita por CMVH, el diagnóstico de la primoinfección materna y, en general, de la infección por el virus durante la gestación, carece de sentido, a no ser que el establecimiento de aquél permita la inclusión de la embarazada en un programa de diagnóstico prenatal (práctica de exploraciones complementarias: ecografía, amniocentesis, cordocentesis mediante punción dirigida, etc.) cuyo objetivo sea averiguar si el feto está infectado y, en caso afirmativo, evaluar el daño existente, de modo que la embarazada pueda optar por el aborto terapéutico si la situación así lo aconsejara. Cuando sea necesario probar, por las razones antedichas, la existencia de infección congénita, tanto en el feto como en el neonato, los métodos directos (PCR y cultivo) son los de elección. La determinación de IgM en sangre de cordón (sangre periférica en caso del neonato) puede ser una alternativa que ayude a establecer el diagnóstico.

En contra de la recomendación de las autoridades sanitarias, la determinación de anticuerpos IgG e IgM frente a CMVH sigue incluida, en muchas ocasiones, en los protocolos destinados al control serológico de las infecciones de transmisión vertical. No es, por lo tanto, infrecuente, encontrarse con un resultado positivo de IgM sin objetivar, paralelamente, una seroconversión. Como antes se ha mencionado, la presencia aislada de IgM específicas no necesariamente indica una infección primaria en la madre y, por tanto, un riesgo elevado de transmisión del virus al feto. De hecho, en menos de un 10% de esas ocasiones habrá infección fetal, y de esos casos, en menos de un 10% se desarrollará una infección grave. Por ello, a menos que se acredite la existencia de primoinfección, es absolutamente innecesario incluir a todas estas mujeres en un programa de diagnóstico prenatal. La

demostración de la presencia en el suero de anticuerpos frente a CMVH de baja avididad puede ser gran utilidad para llegar al diagnóstico cierto de primoinfección.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberola J, Domínguez V, Cardeñoso L, Estellés F, López-Aldeguer, Blanes M, Ricart C, Pastor A, Igual R, Navarro D. Antibody response to human cytomegalovirus (CMVH) glycoprotein B in AIDS patients with CMVH end-organ disease. *J Med Virol* 1998; 55:272-280.
- Chou S. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Clin Infect Dis* 1990; 12 (Sup 7):S727-S736.
- Eggers M, Metzger C, Enders G. Differentiation between acute primary and recurrent human cytomegalovirus infection in pregnancy, using a microneutralization assay. *J Med Virol* 1998; 56:351-358.
- Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, Dussaix E. Value of Cytomegalovirus (CMV) avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J Infect Dis* 1997; 175:944-946.
- Greijer AE, Van De Crommert JMG, Stevens SJC, Middeltorp JM. Molecular fine-specificity analysis of antibody responses to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37:179-188.
- Lazzarotto T, Dalla Casa B, Campisi B, Landini MP. Enzyme-linked immunoadsorbent assay for the detection of cytomegalovirus-IgM: comparison between eight commercial kits, immunofluorescence and immunoblotting. *J Clin Lab Anal* 1992; 6:216-218
- Lazzarotto T, Brojanac S, Maine T, Landini MP. Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new Western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4:483-486.
- Lazzarotto T, Spezzacatena P, Pradelli P, Abate DA, Varani S, Landini MP. Avidity of immunoglobulin G directed against human Cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and immunocompromised subjects. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4:469-473.
- Lazzarotto T, Ripalti A, Bergamini G, Battista MC, Spezzacatena P, Campanini F, Pradelli P, Varani S, Gabrielli L, Maine GT, Landini MP. Development of a new cytomegalovirus (CMV) immunoglobulin M (IgM) immunoblot for detection of CMV-specific IgM. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3337-3341.
- Lazzarotto T, Guerra B, Spezzacatena P, Varani S, Gabrielli L, Pradelli P, Rumpianesi F, Banzi C, Bovicelli L, Landini MP. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3540-3544.
- Schoppel K, Schmidt C, Einsele H, Henart H, Mach M. Kinetics of the antibody response against human Cytomegalovirus-specific proteins in allogenic bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 1998; 178:1233-1243.
- Vornhagen R, Platcher B, Hinderer W, The TH, Van Zanten J, Matter L, Schmidt CA, Sonneborn H, Jahn G. Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens. *J Clin Microbiol* 1994; 32:981-986.