



Ensayo de sensibilidad “in vitro” del citomegalovirus (CMV) al ganciclovir

J. Iglesias*, M. Abalde, R. de la Fuente, S. Méndez, M. de Oña y S. Melón

Dpto. Virología (Microl.). Hospital Central de Asturias.Oviedo.

Objetivo. Comparar un método de sensibilidad “in vitro” de CMV al GCV, a partir de cepas virales no extracelulares, con los métodos estándar de reducción de placas (RP) y de IF con anticuerpos frente al Ag tardío (AgT).

Material y métodos. Se determinó la sensibilidad del CMV al GCV en 11 aislados clínicos y la cepa AD169 (sensible a CMV), a partir de cultivos virales en células MRC-5: a) 5 por el método de RP, b) 11 por el método AgT y c) 12 por el método a ensayar.

En los métodos a) y b) se inocularon 100-200 TCID₅₀ en 10 “shell vial”. Después de 1 h a 37 °C (a) o centrifugación de 45’ a 2.000 rpm (b), se retiró el inóculo y se añadió medio de mantenimiento con concentraciones de GCV de 2,75, 5,5, 11,1 y 22,2 µM en 2 “shell vial” cada una y otros 2 sin antiviral. Se revelaron a los 7 días con Giemsa (a) o a los 4 días con Ac frente al Ag tardío (b). En el método c) se inocularon 300 µl de un cultivo con más de 30 focos de ECP en 8 tubos utilizando las mismas concentraciones de GCV anteriores, salvo 2,75 mM. A los 3-7 días (> 30 focos) se realizó un pase de cada tubo a un “shell vial”, que se revelaron por IF a las 24 h con Ac frente al Ag temprano. En los tres se determinó la ID₅₀. El método c) se aplicó a 47 aislados de 15 TR, 9 VIH+ y 3 RN.

Resultados. La ID₅₀ medias obtenidas fueron de $6,3 \pm 0,97$ (a), $5,3 \pm 1,1$ (b) y $5,5 \pm 1,3$ (c). La cepa AD169 tuvo unos valores de ID₅₀ de 5,5 (método b) y 6,1 (método c). Las 47 muestras ensayadas por el método c) tuvieron una ID₅₀ media de $5,8 \pm 1,48$, $62,6 \pm 33,2$ focos y $4-3,33 \pm 0,83$ de título. La ID₅₀ fue de $5,9 \pm 1,51$ en 44 aislados con menos de 100 focos y de $5,1 \pm 0,30$ en 3 aislados con más de 100 focos.

Conclusiones. El método c) es válido para determinar la sensibilidad de CMV al ganciclovir. No necesita cepas extracelulares y la interpretación es más sencilla que con los métodos estándar ensayados. Ninguna cepa resultó resistente al ganciclovir. El número de focos no influyó en la ID₅₀.