

## Análisis virológico de 1.000 muestras de sangre procesadas para aislamiento (viremia) y antigenemia pp65 de citomegalovirus en pacientes inmunodeprimidos

Jordi Reina<sup>a</sup>, Melcior Riera<sup>b</sup>, Xavier Bestard<sup>c</sup>,  
Concepción Villalonga<sup>b</sup> y Joan Gascó<sup>c</sup>

Unidad de Virología. <sup>a</sup>Servicio de Microbiología Clínica. Unidad de Infecciosas.  
<sup>b</sup>Servicio de Medicina Interna y <sup>c</sup>Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Son Dureta.  
Palma de Mallorca.

**FUNDAMENTO:** Estudiar los principales aspectos virológicos de 1.000 muestras de sangre procesadas para el aislamiento (viremia) y antigenemia pp65 frente a citomegalovirus (CMV) en pacientes inmunodeprimidos y comparar el rendimiento diagnóstico de cada una de ellas.  
**PACIENTES Y MÉTODOS:** Las muestras de sangre recogidas con EDTA fueron fraccionadas por sedimentación en dextrano. De la fracción con predominio de los polimorfonucleares se realizó el aislamiento en cultivo celular poscentrifugación en *shell-vial* (viremia) y la prueba de la antigenemia frente al antígeno pp65. Los cultivos fueron revelados a las 18-24 h con un anticuerpo monoclonal dirigido contra el antígeno p72 del CMV.  
**RESULTADOS:** Las 1.000 muestras de sangre correspondían a 363 pacientes (299 pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), 49 pacientes receptores de trasplante renal y 15 pacientes con enfermedades hematológicas). De estos pacientes 78 (21,4%) presentaron infección y/o enfermedad por CMV. El rendimiento global de las dos técnicas utilizadas en la detección de CMV en sangre ha sido del 86,7% para la antigenemia y del 58,5% para el cultivo en tubos *shell-vial* ( $p = 0,0001$ ). De los 49 pacientes con trasplante renal, 20 (40,8%) presentaron infección por CMV frente al 19,3% de los pacientes infectados por el VIH. En los pacientes trasplantados se ha encontrado una mayor positividad simultánea en ambas técnicas diagnósticas y en los pacientes infectados por el VIH un porcentaje mayor de antigenemias con cultivo negativo. El cultivo en tubos *shell-vial* (viremia) ha presentado un mayor rendimiento diagnóstico en los pacientes receptores de un trasplante.  
**CONCLUSIONES:** En los pacientes inmunodeprimidos la antigenemia pp65 presenta un elevado rendimiento en la detección de CMV en sangre periférica. Sin embargo, debido a que la antigenemia no siempre se asocia a la presencia de virus replicativo, es necesario realizar de forma sistemática el cultivo simultáneo de la muestra, preferentemente por la técnica poscentrifugación en tubos *shell-vial*, que permite establecer el diagnóstico en un periodo de tiempo muy corto.

Virological analysis of 1,000 blood samples processed for cytomegalovirus isolation (viremia) and pp65 antigenemia in immunosuppressed patients

**BACKGROUND:** To study the principal virological aspects of 1,000 blood samples processed for cytomegalovirus (CMV) isolation (viremia) and pp65 antigenemia assay in immunosuppressed patients, and to compare the diagnostic efficacy of both technics.  
**PATIENTS AND METHODS:** All the blood samples collected with EDTA, were fractionated by dextran sedimentation. The polymorfonuclear rich fraction was used for the isolation of CMV by the *shell-vial* cell culture and the pp65 antigenemia assay. The cell cultures were stained at 18-24 hours with a monoclonal antibody against p72 CMV antigen.  
**RESULTS:** The 1,000 blood samples studied belonged to 363 patients (299 infected by the HIV, 49 renal transplant recipients, and 15 patients with haematologic diseases). 78 patients (21.4%) developed a CMV infection and/or disease. The overall results obtained in the comparative study for the CMV detection in peripheral blood were 86.7% for the antigenemia assay and 58.5% for the *shell-vial* culture ( $p = 0.0001$ ). Of 49 patients with renal transplant, 20 (40.8%) presented with a CMV infection versus 19.3% in the HIV-positive group. The transplant recipient patients presented most frequently positivity for both diagnostic technics, and the HIV-positive patients a higher percentage of antigenemia-positive with culture negative. The *shell-vial* culture (viremia) had most diagnostic efficacy in the transplant recipients group.  
**CONCLUSIONS:** In the immunosuppressed patients the pp65 antigenemia assay has demonstrated a high diagnostic efficacy for CMV detection in peripheral blood. However because the antigenemia not always correlates with a replicative viral load, it is necessary to routinely perform culture of the blood in a cell culture system, preferently by the *shell-vial* method, because this system allows to make the diagnosis of CMV infection in a short period of time.

Med Clin (Barc) 1998; 110: 281-284

Correspondencia: Dr. J. Reina.  
Unidad de Virología. Servicio de Microbiología Clínica.  
Hospital Universitario Son Dureta.  
Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca.

Manuscrito aceptado el 3-12-1996

Las infecciones por citomegalovirus (CMV) constituyen una de las principales complicaciones de los pacientes inmunodeprimidos, en especial en los pacientes tratados mediante trasplante de órganos sólidos y en los enfermos de sida<sup>1,3</sup>. En este grupo de pacientes es muy importante establecer y diagnosticar lo más tempranamente posible el inicio de la reactivación del CMV, de modo que se pueda iniciar un tratamiento anticipado que impida o disminuya el paso de infección a enfermedad<sup>1,4,5</sup>.

De las diferentes técnicas existentes para el diagnóstico de infección sistémica por CMV, la antigenemia, consistente en la detección del antígeno pp65 en los polimorfonucleares (PMN) de sangre periférica, y el cultivo viral (viremia) parecen ser las que presentan un mayor valor predictivo positivo al predecir con antelación el desarrollo de enfermedad por el CMV<sup>6,9</sup>. La antigenemia es una técnica cuantitativa que permite establecer de una forma secuencial la presencia de CMV en la sangre periférica del paciente. Este carácter cuantitativo es el que permite utilizar este parámetro para el seguimiento, evolución y control de los pacientes en su respuesta al tratamiento antiviral específico<sup>1,2,10</sup>.

Además de utilizar la antigenemia como marcador de infección por CMV, en estos pacientes es, así mismo, muy importante realizar el cultivo de los PMN de sangre periférica, de modo que se pueda comparar el valor de viremia (carga viral replicativa) que presenta el paciente a lo largo de su proceso infeccioso<sup>7,11,12</sup>. Por ello, es recomendable que la misma muestra de sangre que se utiliza para la detección de la antigenemia se utilice también para el cultivo viral.

Presentamos el análisis de los aspectos virológicos de las primeras 1.000 muestras de sangre procesadas para el aislamiento (viremia) y antigenemia pp65 de CMV realizadas en pacientes inmunodeprimidos.

**Pacientes y métodos**

Durante un período de 16 meses se han procesado 1.000 muestras consecutivas de sangre de enfermos con sospecha de infección y/o enfermedad por CMV. La sangre se recogió (3 ml/paciente) con EDTA y se remitió antes de 4 h de su extracción. Las muestras se procesaron siguiendo las recomendaciones de Gerna et al<sup>13</sup> con pequeñas modificaciones. Así, cada una de ellas se mezcló con 1 ml de dextrano salino y se dejó sedimentar durante 45 min a 36 °C. Transcurrido este tiempo se extrajo 1 ml del sobrenadante (capa con predominio de los PMN) y se transfirió a un tubo estéril al que se añadieron 4 ml de tampón fosfato salino (PBS, pH 7,2). Se realizó una centrifugación a 1.000 rpm durante 10 min y el sedimento se resuspendió en 4 ml de PBS. Se repartieron 2 ml a un tubo para la realización del cultivo celular mediante la técnica de concentración poscentrifugación en tubos *shell-vial* y 2 ml para la antigenemia.

Al tubo para la antigenemia (Ag) se le añadió 1 ml de cloruro amónico (solución lisante de hemáties) que se dejó actuar 2-4 min; a continuación se añadieron 2 ml de PBS y se realizaron 2 lavados con PBS y sus correspondientes centrifugaciones. El sedimento final se resuspendió en 1 ml de PBS. Con este volumen se realizó el recuento celular y se ajustó la concentración final a 200.000 PMN/ml; su volumen correspondiente se citocentrifugó (Cytospin 3; Shandon Scientific, Runcorn, Inglaterra) sobre un porta a 700 rpm durante 10 min. Tras su secado, se fijaron los portas con formaldehído-sacarosa y se tiñeron mediante una inmunofluorescencia indirecta con un anticuerpo monoclonal anti-pp65 (lower matrix protein; Monofluokit CMV, Pasteur Diagnostics, Marnes-la-Coquette, Francia). Se realizó el recuento de los PMN fluorescentes dándose el resultado en número de PMN positivos x 10<sup>5</sup> PMN observados (antigenemia cuantitativa).

El tubo destinado al cultivo en tubos *shell-vial* fue centrifugado, lavado y resuspendido dos veces hasta que finalmente el sedimento se resuspendió en 1 ml de medio de mantenimiento (MEM) para fibroblastos, tras lo cual se realizó el recuento celular. Se sembraron 2 viales de la línea MRC-5 (Vircell, Ingelheim Diagnostica, España) a razón de 500 µl/vial. Los viales se centrifugaron a 700 g durante 45 min y se dejaron reposar a 36 °C durante 30 min. A las 18-24 h de incubación se reveló uno de los viales y si era negativo el otro a las 48 h. El revelado de la monocapa se realizó mediante una técnica de inmunofluorescencia indirecta con el anticuerpo monoclonal anti-p72 (immediate-early antigen, Clon E-13; Argene Biosoft, Francia). Se realizó el recuento del número total de focos infectivos presentes en las monocapas

y se expresaron como el número de focos infectivos x 10<sup>5</sup> PMN inoculados.

El análisis estadístico se ha realizado utilizando la prueba de la  $\chi^2$  y la determinación de la t de Student para los datos apareados. Todos los valores de p son bilaterales y se ha considerado como significativo un valor de p < 0,05.

**Resultados**

Las 1.000 muestras de sangre procesadas durante el período de estudio correspondían a 363 pacientes con sospecha de infección o enfermedad por CMV, lo que representa una media de 3,6 muestras/paciente. Las muestras pertenecían a 299 pacientes infectados por el VIH (82,3%) (677 muestras; 2,2 muestras/paciente), 49 pacientes receptores de trasplante renal (13,5%) (5,3 muestras/paciente) y a 15 pacientes con enfermedades hematológicas (4,1%) (3,9 muestras/paciente), incluyendo a 2 pacientes con trasplante alogénico de médula ósea. El 67,7% de las muestras pertenecían a pacientes infectados por el VIH, 26,4% pacientes con trasplante renal y 5,9% a pacientes hematológicos.

Desde el punto de vista global, de los 363 pacientes estudiados 78 (21,4%) presentaron infección por CMV, definida como la positividad como mínimo en una muestra de sangre (antigenemia y/o cultivo en tubos de *shell-vial*); en el resto de pacientes (78,6%) todas las muestras analizadas fueron negativas. Estos 78 pacientes aportaron 188 muestras de sangre (2,4 muestras/paciente). El rendimiento global de las dos técnicas analíticas utilizadas en la detección de CMV en sangre periférica ha sido del 86,7% para la antigenemia y del 58,5% para el cultivo en tubos de *shell-vial* (p = 0,0001) (tabla 1).

De los 49 pacientes receptores de trasplante renal, 20 (40,8%) presentaron como mínimo un episodio de infección por CMV y 29 (59,2) fueron negativos en ambas técnicas. De las 57 muestras positivas de estos 20 pacientes, la antigenemia detectó 47 (82,4%) y el cultivo en tubos de *shell-vial* 43 (75,4%) (p = 0,29) (tabla 2). La media de muestras en este grupo ha sido de 2,85 por paciente. El valor medio de la antigenemia en el grupo de pacientes con positividad simultánea del cultivo en tubos de *shell-vial* ha sido de 54,3 PMN+ x 10<sup>5</sup> PMN, con un rango comprendido entre 1 y 463. En 10 pacientes (17,6%) sólo fue positivo el cultivo en tubos de *shell-vial*, con una media de 0,62 focos infectivos x 10<sup>5</sup> PMN inoculados.

En el grupo de pacientes infectados por el VIH, 58 (19,3%) presentaron como mínimo un episodio de infección por CMV y 241 (80,7%) fueron negativos en ambas técnicas analíticas. De las 131 muestras positivas de este grupo de pacientes, la antigenemia detectó 116 (88,5%) y el cultivo en tubos de *shell-vial* 67 (51,1%) (p = 0,0001) (tabla 3). El valor medio de la antigenemia observada en el grupo con positividad en ambas muestras analíticas ha sido de 121 PMN+ x 10<sup>5</sup> PMN. El valor medio de la antigenemia en los pacientes con sólo positividad en esta técnica analítica ha sido de 16,8 PMN+ x 10<sup>5</sup> PMN. El recuento medio de focos infectivos (cultivo cuantitativo) detectado en los 15 pacientes con sólo positividad en tubos de *shell-vial* ha sido de 0,78 x 10<sup>5</sup> PMN inoculados.

En el grupo de pacientes con hemopatías no se ha detectado ninguna antigenemia o viremia positiva, motivo por el que no se ha podido analizar este grupo y sólo se ha incluido en el análisis global de la totalidad de los pacientes.

TABLA 1

Resultados globales obtenidos en el procesamiento de las muestras de sangre

Antigenemia pp65	Cultivo en tubos de <i>shell-vial</i>	Número de casos	Porcentaje		Valor de la antigenemia*	
			Total	Positivos**	Media	Rango
+	+	85	8,5	45,2	87,7	1-1000
+	-	78	7,8	41,5	13,8	1-200
-	+	25	2,5	13,3		
-	-	812	81,2			
163 (86,7)**	110 (58,5)	1.000				

\*Número de leucocitos polimorfonucleares (PMN) positivos x 10<sup>5</sup> PMN; \*\*porcentaje sobre el número de muestras positivas (n = 188)

TABLA 2

Resultados obtenidos en el grupo de pacientes con trasplante renal

Antigenemia pp65	Cultivo en tubos de <i>shell-vial</i>	Número de casos	Porcentaje		Valor de la antigenemia*	
			Total	Positivos**	Media	Rango
+	+	33	12,5	57,9	54,3	1-463
+	-	14	5,3	24,5	10,9	1-90
-	+	10	3,8	17,6		
-	-	207	78,4			
47 (82,4)**	43 (75,4)	264				

\*Número de leucocitos polimorfonucleares (PMN) positivos x 10<sup>5</sup> PMN; \*\*porcentaje sobre el número de muestras positivas (n = 57).

**Discusión**

De las diferentes técnicas existentes para la detección de la presencia de CMV en sangre periférica, la antigenemia pp65 y el cultivo son las que presentan un mayor rendimiento y correlación con el estadio clínico de la infección<sup>1-5</sup>. La mayoría de estudios comparativos que se han realizado entre estas dos técnicas, muestran cómo la antigenemia presenta una mayor sensibilidad que la viremia. Así, por ejemplo, Erice et al<sup>14</sup> obtienen porcentajes de sensibilidad del 99% para la antigenemia y del 76% para la viremia, presentando además diferencias estadísticamente significativas. En general, los porcentajes de sensibilidad para la antigenemia oscilan entre el 80 y el 99% dependiendo de la población estudiada<sup>1,2,7,15</sup>. En nuestro estudio, la antigenemia detectó la presencia de CMV en los PMN en el 86,7%

TABLA 3

Resultados obtenidos en el grupo de pacientes infectados por el VIH

Antigenemia pp65	Cultivo en tubos de shell-vial	Número de casos	Porcentaje		Valor de la antigenemia*	
			Total	Positivos**	Media	Rango
+	+	52	7,7	39,7	121	1-1.000
+	-	64	9,4	48,8	16,8	1-200
-	+	15	2,2	11,5		
-	-	546	80,7			
116 (88,5)**	67 (51,1)	677				

\*Número de leucocitos polimorfonucleares positivos  $\times 10^5$  PMN; \*\*porcentaje sobre el número de muestras positivas (n = 188).

de los casos positivos, mientras que se consiguió el aislamiento del virus (viremia) en tan sólo el 58,5% de los casos obteniendo, así mismo, diferencias significativas.

La mayor sensibilidad de la antigenemia debe ser matizada, dado que la detección de antígenos específicos del CMV en los PMN no siempre significa la existencia en estas células de partículas virales con capacidad replicativa. Este hecho podría explicar en parte la falta de una correlación total entre el valor de la antigenemia pp65 y el número de focos infectivos detectados en el cultivo en tubos de shell-vial<sup>15-17</sup>. En un estudio que realizamos previamente obtuvimos una mayor correlación entre la antigenemia p72 (antígeno inmediatamente precoz del CMV) y el número de focos infectivos<sup>18</sup>. El antígeno p72 es un verdadero marcador de replicación viral, dado que no se acumula ni es fagocitado pasivamente por los PMN de sangre periférica<sup>15,19</sup>, detectándose tan sólo en aquellas células con la presencia de virus replicativo<sup>15,20</sup>. Por el contrario, el antígeno pp65 es una fosfoproteína estructural tardía que forma parte de la matriz-tegumento del CMV y puede ser fagocitada por los PMN y macrófagos, por lo que no es un marcador esencialmente replicativo<sup>15,20,21</sup>. En este estudio previo sólo el 10% de los pacientes pp65-positivos eran p72-positivos, datos semejantes a los comunicados previamente por Gerna et al<sup>13</sup>. Por lo tanto, es lógico pensar que sólo aquellos PMN que posean virus replicativo tienen posibilidad de dar un cultivo positivo. A pesar de ello, la antigenemia pp65 debe seguir utilizándose de forma rutinaria dado que esta proteína es la que se detecta mayoritariamente en los PMN con presencia de antígenos virales, aunque su presencia no siempre permite establecer en qué fase del ciclo biológico se encuentra el CMV<sup>4,19</sup>.

Además del aspecto antigénico, hay otro dato que cuestiona la mayor sensibilidad de la antigenemia y es la influencia de diversos factores con capacidad para negativizar el cultivo. En general, la mayoría de casos con antigenemia positiva y viremia negativa corresponden a pacientes con tratamiento antiviral<sup>22,23</sup>. Está demos-

trado que el ganciclovir, inhibidor de la replicación del ADN viral, negativiza rápidamente los cultivos virales manteniéndose positivo e incluso incrementándose el valor de la antigenemia<sup>24,11,22</sup>. Este ascenso paradójico de la antigenemia confirmaría la hipótesis del papel fagocitario de los PMN sobre acumulación o restos no activos de la proteína pp65 resultantes del efecto inhibidor del ganciclovir<sup>19</sup>. Por lo tanto, cuando se realiza el recuento estadístico de las antigenemias y viremias estudiadas en un determinado período de tiempo se están mezclando las que corresponden a pacientes no tratados, con posibilidad real de recuperación viral, con las muestras tomadas posteriormente al diagnóstico e inicio del tratamiento y que se remiten para el control y la evolución del paciente.

En los pacientes con trasplante renal observamos cómo la diferencia entre las dos técnicas analíticas no presentaba significación estadística, por ello realizamos, en un estudio previo<sup>24</sup>, un desglose sobre la eficacia diagnóstica de ambas técnicas entre la primera muestra (diagnóstica) y las muestras siguientes (de control). Al analizar por separado las muestras pudimos comprobar que el cultivo (viremia) era ligeramente más sensible que la antigenemia en la detección de CMV en los PMN (el 93,1 frente al 88,6%), aunque sin significación estadística<sup>24</sup>. Este resultado viene determinado por la propia sensibilidad de ambas técnicas analíticas, la de la antigenemia sería de 1 en 200.000 PMN<sup>1,2</sup> y la del cultivo estaría en función de la cantidad de PMN sembrados en el cultivo<sup>16,17</sup>. En nuestro caso inoculamos en el cultivo celular la totalidad de los PMN extraídos con recuentos situados entre 150.000 y 1.500.000 PMN por vial, incrementando de forma sustancial la capacidad para detectar cargas virales replicativas muy bajas. La utilización del cultivo en tubos de shell-vial cuantitativo determina un incremento en la detección de CMV en los PMN frente a la antigenemia; sin embargo, esta mayor sensibilidad no siempre se corresponde con una significación clínica. Aunque en algunos casos hemos obtenido viremia positiva con antigenemia negativa en una primera muestra y positividad simultánea

de las dos técnicas en la segunda muestra tomada a las 24 h de la primera, adelantándonos en este período de tiempo a una antigenemia significativa<sup>24</sup>.

Los pacientes tratados mediante trasplante renal son un grupo con un elevado riesgo de desarrollar infección y enfermedad por CMV. En general se calcula que entre el 25 y el 75% de los seropositivos presentarán como mínimo un episodio de reactivación por CMV<sup>24</sup>. En nuestro estudio, el 40,8% de los pacientes presentaron un episodio infectivo (antigenemia y/o viremia positiva). Una de las aplicaciones de las técnicas analíticas estudiadas es la de identificar la población de mayor riesgo para el desarrollo posterior de enfermedad por CMV<sup>2,4,5</sup>. De este modo, la detección de una antigenemia positiva con un recuento alto ( $> 20$  PMN-positivos  $\times 10^5$  PMN) posee un elevado valor predictivo positivo en este grupo de pacientes, lo que permite el inicio de una terapia anticipada específica que impida el paso de infección a enfermedad<sup>23</sup>. Ha sido en el grupo de pacientes sometidos a trasplante, como ya se ha mencionado, en el que se ha observado un mayor rendimiento diagnóstico del cultivo, probablemente porque estos pacientes no están tratados de forma profiláctica con antivirales y las infecciones herpéticas intercurrentes, que determinan la terapia con aciclovir, son mucho menos frecuentes que las observadas en pacientes con sida<sup>2,4,25</sup>.

El grupo de pacientes infectados por el VIH es el que ha aportado una mayor cantidad de pacientes (82,3%) y de muestras (67,7%), siendo este grupo el que ha presentado un porcentaje más bajo de infección por CMV (19,3%). Sin embargo, este grupo de pacientes estaba constituido por una población muy heterogénea que incluía pacientes en todos los estadios de la infección. La infección y enfermedad por CMV es mucho más frecuente en los pacientes con sida y recuentos bajos de linfocitos CD4<sup>26</sup>; así, la probabilidad de presentar enfermedad es de cerca del 20% con recuentos inferiores a 50 CD4/ $\mu$ l y del 10% si es superior a 100 CD4/ $\mu$ l<sup>27</sup>. Además, en nuestro estudio se ha considerado como marcador de infección la simple presencia de una antigenemia y/o viremia positiva, sabiendo que en estos pacientes se producen episodios subclínicos de viremia por CMV y que antigenemias con recuentos bajos detectadas de forma aislada no presentan significación clínica<sup>28,29</sup>. Todavía queda por establecer cuál es el punto de corte de la antigenemia en estos pacientes que presenta mayor valor predictivo positivo del desarrollo posterior de enfermedad por CMV, pero se manejan valores situados entre 5 y 30 PMN-positivos  $\times 10^5$  PMN<sup>28-30</sup>.

Un dato a destacar es que los pacientes infectados por el VIH han presentado un recuento medio de la antigenemia superior al del grupo con trasplante renal. Es muy posible que la mayor inmunosupresión observada en las fases avanzadas de la infección por el VIH vaya asociada a una incapacidad para controlar la reactivación del CMV que se traduzca en una mayor carga viral con unos valores de antigenemia y viremia mucho más elevados que los observados en los pacientes con trasplante renal con una inmunosupresión química menos intensa. Este fenómeno podría ser la explicación al mayor rendimiento diagnóstico de la primera muestra de sangre cuando se realizan tomas seriadas en los pacientes con sida (el 60 frente al 40% en trasplante renal;  $p = 0,007$ )<sup>24</sup>.

Al comparar las técnicas analíticas en los 2 grupos de pacientes estudiados hemos observado cómo los pacientes con trasplante renal presentaban una mayor coincidencia entre ambas. Por lo tanto, en estos pacientes se detecta una mayor correlación entre la detección de antígenos virales (carga viral total) y el aislamiento en cultivo (carga viral replicativa). Las antigenemias positivas no asociadas a cultivo positivo han sido más frecuentes en los pacientes de sida, lo que confirma la escasa significación diagnóstica de las antigenemias de título bajo en estos pacientes<sup>28,29</sup> y su carácter no replicativo<sup>28-30</sup>. El rendimiento diagnóstico de la prueba de la antigenemia por sí misma ha sido muy semejante en ambos grupos y no se han observado diferencias significativas. Por el contrario, el aislamiento de CMV en el cultivo en tubo de *shell-vial* (viremia) ha sido mucho más rentable en los pacientes con trasplante renal. Como ya se ha mencionado, la ausencia de factores inhibidores del crecimiento viral (fármacos) y el programa de control semanal al que son sometidos estos pacientes confieren a esta técnica analítica una elevada rentabilidad diagnóstica<sup>2,6</sup>.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- The TH, Van der Bij W, Van den Berg AP, Van der Giessen M, Weits J, Sprenger HG et al. Cytomegalovirus antigenemia. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Supl): 37-44.
- Van den Berg AP, Van der Bij W, Van Son WJ, Anema J, Van der Giessen M, Schrim J et al. Cytomegalovirus antigenemia as useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation. A report of 130 consecutive patients. *Transplantation* 1989; 48: 991-995.
- Gallant JE, Moore RD, Richman DD, Keruly J, Chaisson RE. Incidence and natural history of CMV disease in patients with advanced HIV disease treated with zidovudine. *J Infect Dis* 1992; 166: 1.223-1.227.
- The TH, Van der Ploeg M, Van den Berg AP, Vlieger AM, Van der Giessen M, Van Son WJ. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes. A review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation* 1992; 54: 193-198.
- Martin M. Prophylactic cytomegalovirus management strategies. *Transplantation Proc* 1995; 27 (Supl): 23-27.
- Van der Bij W, Torensma R, Van Son WJ, Anema J, Schrim J, Tegzess AM et al. Rapid immunodiagnosis of active cytomegalovirus infection by monoclonal antibody staining of blood leukocytes. *J Med Virol* 1988; 25: 179-188.
- Van der Bij W, Schrim J, Torensma R, Van Son WJ, Tegzess AM, The TH. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2.531-2.535.
- Landry ML, Ferguson D. Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with culture methods and correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2.851-2.856.
- Lipson SM, Kaplan MH, Tseng LF, Mandel FS. Use of the cytomegalovirus antigenemia (CMV-Ag) assay for the detection of CMV in the blood of AIDS patients. *Can J Microbiol* 1993; 39: 1.059-1.065.
- Van der Giessen M, The TH, Van Son WJ. Cytomegalovirus antigenemia assay. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2.909-2.910.
- Mañez R, St. George K, Linden P, Martin M, Kusne S, Grossi P et al. Diagnosis of cytomegalovirus infections by shell vial assay and conventional cell culture during antiviral prophylaxis. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2.655-2.659.
- Degre M, Bukholm G, Holter E, Müller F, Rollag H. Rapid detection of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 668-670.
- Gerna G, Revello MG, Percivalle E, Morini F. Comparison of different immunostaining techniques and monoclonal antibodies to the lower matrix phosphoprotein (pp65) for optimal quantitation of human cytomegalovirus antigenemia. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1.232-1.237.
- Ericc A, Holm MA, Gill PC, Henry S, Dirksen CL, Dunn DI et al. Cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay is more sensitive than shell vial cultures for rapid detection of CMV in polymorphonuclear blood leukocytes. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2.822-2.825.
- Gerna G, Percivalle E, Revello MG, Morini F. Correlation of quantitative human cytomegalovirus pp65-, p72- and p150-antigenemia, viremia and circulating endothelial giant cells with clinical symptoms and antiviral treatment in immunocompromised patients. *Clin Diag Virol* 1993; 1: 47-59.
- Buller RS, Bailey TC, Ettinger NA, Keener M, Langlois T, Miller JP et al. Use of a modified shell vial technique to quantitative cytomegalovirus viremia in a population of solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2.620-2.624.
- Storch GA, Buller RS, Bailey TC, Ettinger NA, Langlois T, Gaudeault-Keener M et al. Comparison of PCR and pp65 antigenemia assay with quantitative shell vial culture for detection of cytomegalovirus in blood leukocytes from solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 997-1.003.
- Reina J, Blanco I, Munar M. Correlation between human cytomegalovirus quantitative p72 antigenemia and viremia. *Clin Diagn Virol* 1996; 7: 63-67.
- Revello MG, Percivalle E, DiMatteo A, Morini F, Gerna G. Nuclear expression of the lower matrix protein of human cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes of immunocompromised viraemic patients. *J Gen Virol* 1992; 73: 437-442.
- Mocarski ES. Cytomegalovirus and their replication. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editores. *Fields Virology* (3.ª ed.). Nueva York: Lippincott-Raven, 1996; 2.447-2.492.
- Greffe JM, Van der Giessen M, Van der Gun BTF, Van Son WJ, The TH. The predominant viral antigen present in peripheral blood leukocytes during an active CMV infection is the lower matrix protein pp65. En: Landini MP, editor. *Progress in cytomegalovirus research*. Amsterdam: Elsevier, 1991; 233-238.
- Gerna G, Zipeto D, Parea M, Revello MG, Silini E, Percivalle E et al. Monitoring of human cytomegalovirus infections and ganciclovir treatment in heart transplant recipients by determination of viremia, antigenemia and DNAemia. *J Infect Dis* 1991; 164: 488-498.
- Pérez JL, Salva J, Niubo J. La prueba de la antigenemia para citomegalovirus. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1994; 12: 251-269.
- Reina J, Blanco I, Munar M. El cultivo cuantitativo *shell-vial* es más sensible que la antigenemia en el diagnóstico de infección por citomegalovirus en el trasplante renal. VII Congreso Nacional de la SEIMC. Torremolinos, Mayo 1996. Libro de Comunicaciones (resumen N.º 15/3) 114.
- Griffiths PD. Viral complications after transplantation. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36 (Supl): 91-106.
- Martínez Lacasa JT, Podzamczar D, Rufi G, Bolao F, Pérez JL, Gudiol F. Enfermedad por citomegalovirus en pacientes afectados del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. A propósito de 63 episodios. *Med Clin (Barc)* 1993; 100: 41-45.
- Arrizabalaga J, Iribarren JA, Rodríguez-Arondo F, Garde C. Enfermedad por citomegalovirus en el sida. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1994; 12: 297-311.
- Francisci D, Tosti A, Preziosi R, Baldelli F, Stagni G, Pauluzzi S. Role of antigenemia assay in the early diagnosis and prediction of human cytomegalovirus organ involvement in AIDS patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 498-503.
- Bek B, Boeckh M, Lepenies J, Bienik B, Arasteh K, Heise W et al. High-level sensitivity of quantitative pp65 cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay for diagnosis of CMV disease in AIDS patients and follow-up. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 457-459.
- Mazzulli T, Rubin RH, Ferraro MJ, D'Aquila RT, Doveikis SA, Smith BR et al. Cytomegalovirus antigenemia: clinical correlations in transplant recipients and in persons with AIDS. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2.824-2.827.