

R.G. Ferreira^a
F.C. Franzino^b
E.M.B. Guimarães^c
M.M. Avelino^c
D.D.P. Cardoso^d

^aDepartamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Materno Infantil de Goiânia. Goiás. Brasil. ^bClínica Fértil Diagnósticos. Centro de Medicina Fetal y Reproducción Humana de Goiânia. Goiás. Brasil. ^cFacultad de Medicina de la Universidad Federal de Goiás. UFG. Goiás. Brasil. ^dInstituto de Patología Tropical y Salud Pública. Universidad Federal de Goiás. IPTSP. Goiás. Brasil.

Correspondencia:

Dr. R. Gilberto Ferreira.
Departamento de Ginecología y Obstetricia.
Servicio de Prenatal. Hospital Materno Infantil.
Goiânia. Goiás. Al. Cel. Joaquim Bastos, 243.
Setor Marista 74. 175-150.
Correo electrónico: facfrau@hotmail.com

Fecha de recepción: 30/8/04

Aceptado para su publicación: 22/12/04

Seroprevalencia del citomegalovirus en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

121

Seroprevalence of cytomegalovirus in pregnant women of Maternity Hospital of Goiânia (Brazil)

RESUMEN

Objetivos: Determinar la seroprevalencia del citomegalovirus en gestantes e identificar a las infectadas agudamente o reactivadas.

Material y métodos: Se investigó la seroprevalencia de los anticuerpos IgG e IgM en 323 gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia, por enzimoimmunoanálisis (ELISA), y de éstas, 77 por la prueba de avidéz de la IgG para la fase serológica con IgM ausente, escogidas al azar.

Resultados: La media de edad $\pm$ DE fue de 24,55 $\pm$ 6,80 años, y de 23,09 $\pm$ 8,78 semanas de edad gestacional. El 98,76% presentaron IgG y el 0,62% además la IgM. El 31,17% presentó baja avidéz y el 68,83%, elevada.

Conclusiones: De las gestantes estudiadas, el 98,76% presentó infección crónica y el 0,62%, infección aguda. En las investigadas con la prueba de avidéz de la IgG, el 31,17% se encontraba en la fase aguda de infección por citomegalovirus, con lo

que son necesarios exámenes más sensibles de detección en esta fase debido a la relación con una mayor afección congénita.

PALABRAS CLAVE

Seroprevalencia. Citomegalovirus. Transmisión vertical.

ABSTRACT

Objectives: To determine the seroprevalence of cytomegalovirus in pregnant women and to identify those with acute or reactivated infections.

Materials and methods: The seroprevalence of IgG and IgM antibodies in 323 pregnant women in the Maternity Hospital of Goiânia was studied using ELISA. Seventy-seven samples were randomly selected to undergo the IgG avidity test for the serological stage without IgM.

122 Results: The mean $\pm$ SD age was 24.55 ± 6.80 years and the mean $\pm$ SD gestational age was 23.09 ± 8.78 weeks. IgG antibodies were identified in 98.76% and IgM antibodies in 0.62%. Low avidity was found in 31.17% and high avidity was found in 68.83%.

Conclusions: Among the pregnant women studied, 98.76% had chronic infection and 0.62% had acute infection. The results of the IgG avidity test revealed that 31.17% were in the acute stage of cytomegalovirus infection. This finding highlights the need for more sensitive detection methods in the acute phase, due to the greater possibility of congenital infection.

KEY WORDS

Seroprevalence. Cytomegalovirus. Vertical transmission.

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) humano pertenece a la familia *Herpesviridae* y se considera el agente más común de infecciones congénitas y perinatales, afecta al 1% de todos los neonatos en diversas regiones del mundo, y en algunas regiones llega hasta el 2,50%¹. La prevalencia de la infección está relacionada con las condiciones socioeconómicas, hábitos de vida y de higiene, y varía del 40 al 60% en la población adulta de clase socioeconómica media y más del 80% en los grupos de clases menos favorecidas². La incidencia de la infección aguda en la gestante varía del 0,70 al 4%^{3,4}.

Su importancia se debe al hecho de que se puede transmitir verticalmente, tanto en la fase aguda como en la reinfección de la gestante. La posibilidad de riesgo fetal difiere, y es del 50% en la fase de infección aguda y del 1% en la reinfección. El 25% de los niños infectados de madres con infección aguda y el 8% de los recién nacidos de madres con reinfección pueden evolucionar a una o más secuelas graves⁵. La reinfección puede ocurrir por reactivación de una muestra viral endógena o por reinfección exógena⁶. Todavía se acredita que la reinfección materna sea la causa de la mayoría de las

infecciones congénitas, en virtud de la elevada prevalencia de la virosis en diferentes grupos poblacionales y de la posibilidad de que los linfocitos maternos infectados atraviesen la placenta, resultando en viremia fetal e infección de múltiples órganos¹. Parece ser que la carga viral y la respuesta humoral prolongada de la madre influyen en la transmisión vertical y en la gravedad de la infección fetal⁷.

Fuentes de infección para la gestante son la presencia de adultos jóvenes infectados y, en la convivencia domiciliar, niños con infección asintomática o congénita y la vía sexual⁸. Cerca del 90% de los casos de las infecciones maternas son subclínicas, de ahí la importancia del examen serológico para identificar a las gestantes de riesgo para transmisión vertical. Cuando presenta los síntomas, son semejantes a los del síndrome de la mononucleosis⁹.

La principal fuente de infección para el niño es la madre. Mientras que la transmisión por profesionales de la educación es importante para los niños mayores. Existen 2 picos de edad para adquirir la infección: infancia/adolescencia y adultos jóvenes¹⁰. Los especímenes clínicos más comunes para el aislamiento del virus son: la orina, la secreción cervical y la saliva. Menos frecuentes son el líquido amniótico, el semen, la leche materna, además de la autopsia o biopsia de tejidos.

Las infecciones fetales generalmente son asintomáticas o subclínicas, y la incidencia de síntomas corresponde al 10% de los infectados. Entre los recién nacidos infectados y sintomáticos hay una mortalidad de cerca del 20%, y más de la mitad de los supervivientes pueden presentar déficit en el desarrollo neurológico¹. Se puede utilizar la ecografía para identificar alteraciones fetales sugestivas de compromiso infeccioso, como ascitis, calcificaciones intraventriculares, áreas ecogénicas en el abdomen, en el tálamo y en los ganglios basales fetales. Estas alteraciones pueden ayudar en el diagnóstico de gravedad de las lesiones en el útero; sin embargo, no difieren de otras infecciones ocasionadas por otros agentes como el virus del herpes simple, el virus de la varicela zoster, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* y el virus de la rubéola.

El riesgo de secuela en el niño infectado congénitamente varía del 10 al 20% en la citomegalovirus precoz, que puede evolucionar con alteraciones neurológicas graves como la sordera neurosensorial,

la desmielinización y la hipoplasia cerebelar. Además de esto, podemos encontrar graves anormalidades motoras y cognitivas¹¹. La distinción entre enfermedad aguda y crónica en la gestante es necesaria para establecer conductas específicas para los fetos y recién nacidos en situación de riesgo⁷.

La infección aguda es la principal causa de la transmisión vertical, sin embargo, su diagnóstico no es frecuente por la falta de sintomatología clínica en las embarazadas. Por tanto, el diagnóstico de infección aguda debe hacerlo el laboratorio. Como la seropositividad para la IgM es de difícil interpretación, pues puede persistir por período variable y surgir en las reactivaciones/reinfecciones, se necesitan otros exámenes para identificar la infección primaria aguda.

Este estudio fue motivado en virtud de los elevados índices de infección por CMV en la población de Goiânia, además de ser la infección congénita más frecuente en el mundo. Considerando la gravedad de la infección en el útero, especialmente aquella originada de la infección primaria aguda, este estudio pretendió conocer la seroprevalencia de la infección por CMV en las gestantes, identificar las que se encontraban en situación de riesgo para la seroconversión durante la gestación, determinar el índice de gestantes infectadas agudamente mediante la presencia de IgM como marcador serológico de fase aguda o por la prueba de avidéz de la IgG, e identificar la posible asociación entre avidéz y títulos de IgG anti-CMV para su identificación en fase aguda o crónica de la infección, para saber qué medidas profilácticas pueden utilizarse en el seguimiento de los fetos y de los recién nacidos generados en situación de riesgo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero de 2001 y diciembre de 2002, se atendió 2.046 embarazadas en la consulta del Servicio de Prenatal del Hospital Materno Infantil de Goiânia (Goiás, Brasil); de éstas, se escogió a 323 gestantes de forma aleatoria para que se investigara su seroprevalencia para el CMV. La participación de las gestantes fue voluntaria y mediante la firma del consentimiento informado después de aprobarse por el Comité de Ética en Investigación Médica Humana y Animal según protocolo n.º 036/2001. Se incluyó a las gestantes que acudían a la consulta de prenatal

por primera vez, y se excluyó a las portadoras de enfermedades con inmunodeficiencia y las usuarias de fármacos inmunosupresores.

Fue un estudio de seroprevalencia de la infección por CMV en gestantes, mediante determinación de anticuerpos de las clases IgG e IgM y de avidéz de la IgG, por técnica inmunoenzimática.

Se analizaron las 323 muestras de sueros obtenidas para la detección de los marcadores serológicos específicos: anti-CMV IgG e IgM, mediante el análisis inmunoenzimático (ELISA) cualitativo y cuantitativo, con la utilización de reactivos comerciales (Organon, Técnica, Vironostika Sistem, Italia) y siguiendo las recomendaciones de los fabricantes. Todas las muestras que presentaron resultados dentro de la zona señalada como mayor o menor que el 10% del valor de referencia de la reacción fueron testadas por segunda vez para la confirmación del resultado.

Se escogieron, también de forma aleatoria, muestras para la prueba de avidéz de la IgG. Para la detección de la avidéz de la IgG, se utilizó la prueba cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG en el suero, con la utilización de reactivos comerciales (Enzygnost Anti-CMV/IgG, Dade Behring, Alemania). En este subgrupo (77 sueros) se realizó la prueba de avidéz siguiendo la técnica según la recomendación del fabricante. Para la interpretación de los resultados se consideraron índices de baja avidéz (anticuerpos inmaduros) < 40%, infección aguda ocurrida en los últimos 3-4 meses después de infección, e índice de alta avidéz (anticuerpos maduros) ≥ 40%, infección crónica ocurrida hacía más de 4 meses. Entre las muestras que presentaron título de IgG ≥ 3,50 veces los valores de referencia, se analizaron 70 sueros considerados títulos elevados; mientras de los títulos bajos (< 3,50 veces los valores de referencia) se analizaron 7 sueros. La prueba de avidéz de la IgG se realizó según Hedman y Rousseau¹².

Se consideraron como agudamente infectadas las mujeres positivas a la IgM y las que tenían baja avidéz de la IgG. Los resultados se analizaron estadísticamente con la prueba exacta de Fisher, con un nivel de significación del 5% bilateral.

RESULTADOS

Según las características generales de las gestantes estudiadas, el 55,42% se encontraba en edades

124

Tabla 1 Prevalencia de la infección por citomegalovirus en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

Anti-CMV* (IgG)	Gestantes	
	Número	%
Reactivos	319	98,76
No reactivos	4	1,24

*Citomegalovirus humano.

comprendidas entre los 20 y los 30 años, y el 22,60% entre los 10 y los 20 años, con una media $\pm$ desviación estándar (DE) de $24,55 \pm 6,80$ años, el 40,87% eran primíparas y el 78,33% no presentaba antecedentes de aborto. Con relación a la edad gestacional, hubo una media de $23,09 \pm 8,78$ semanas, el 59,44% estaba entre 18 y 36 semanas.

En lo que se refiere a la seroprevalencia para el CMV, de las 323 gestantes evaluadas, se detectó la presencia de IgG en un 98,76%, mientras que el 1,24% de ellas presentaron serología negativa (tabla 1). Entre las seropositivas, el 87,31% presentaron títulos elevados de IgG, mientras que el 11,46% tuvieron títulos de IgG bajos (tabla 2).

Según la seroprevalencia de las gestantes agudamente infectadas, se detectaron anticuerpos IgM en el 0,62% de las gestantes, mientras que el 0,31% presentó título de IgM con valor indeterminado, y el 99,07% fueron negativas a IgM (tabla 3). De las 77 gestantes cuyas muestras se analizaron por la prueba de avidéz de la IgG, el 31,17% presentaron baja avidéz y el 68,83%, alta (tabla 4).

Se observó una asociación significativa entre la alta avidéz y los títulos elevados de IgG ($p < 0,001$) cuando se relacionó la prueba de avidéz y el título de la IgG en las 77 muestras de suero de gestantes escogidas al azar (tabla 5). La edad gestacional media de las gestantes agudamente infectadas fue de $22,31 \pm 9,05$ semanas, el 7,70% se presentaban con menos de 9 semanas y el 80,77% no presentaban antecedente de aborto.

DISCUSIÓN

Entre las gestantes estudiadas, la mayoría tenía de 20 a 30 años de edad, se encontraban entre 18 y 36

Tabla 2 Títulos inmunoenzimáticos para IgG anti-CMV en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

Anti-CMV* (IgG)	Gestantes	
	Número	%
Elevados ($\geq 3,50^{**}$)	282	87,31
Bajos ($< 3,50^{**}$)	37	11,46
No reactivos	4	1,24

*Citomegalovirus humano. **Valores de referencia para la positividad de la prueba.

Tabla 3 Prueba inmunoenzimática para IgM anti-CMV en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

Anti-CMV* (IgG)	Gestantes	
	Número	%
Seropositivos	2	0,62
Indeterminados	1	0,31
No reactivos	320	99,07

*Citomegalovirus humano.

Tabla 4 Prueba de avidéz de la IgG anti-CMV en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

Avidéz	Gestantes	
	Número	%
Baja	24	31,17
Alta	53	68,83

Tabla 5 Relación entre la prueba de avidéz y los títulos inmunoenzimáticos de la IgG anti-CMV en gestantes del Hospital Materno Infantil de Goiânia

Avidéz	Títulos	
	Elevado ($\geq 3,50^{*}$)	Bajo ($< 3,50^{*}$)
Baja	17	7
Alta	53	—

P < 0,001.

*Valores de referencia para la positividad de la prueba.

semanas de edad gestacional, eran primíparas y no tenían aborto previo. La media de edad de las gestantes ($24,55 \pm 6,80$ años) coincide con los 2 picos de edad para adquirir la infección: infancia/adolescentes y adultos jóvenes¹⁰. La media de edad gestacional fue de $23,09 \pm 8,78$ semanas, lo cual permite un intervalo suficiente, en las gestantes con infección crónica, para que se hayan expuesto a riesgo de infección primaria aguda en los 2 primeros meses de gestación, lo que podría ocasionar serios daños fetales.

La seropositividad de anticuerpos de la clase IgG para la citomegalovirus en el grupo de gestantes estudiadas fue del 98,76%, encontrándose dentro de las tasas de prevalencia de estudios anteriores de otras regiones brasileñas. Esta población de gestantes evaluadas pertenece a un nivel socioeconómico bajo, lo que puede haber contribuido para esa elevada prevalencia de la infección. Durante el embarazo puede ocurrir reactivación de la citomegalovirus o reinfección con serotipos diferentes; sin embargo, la presencia de IgG protege al recién nacido de la infección congénita y/o neonatal severa⁸.

Del subgrupo de embarazadas con IgG presente, el 87,31% presentó títulos con valores elevados. Cuando se comparó a las 77 gestantes analizadas por la prueba de avidéz de la IgG con sus títulos de IgG, se evidenció una asociación significativa entre la alta avidéz y los títulos elevados, así como de los títulos bajos de IgG y la baja avidéz. Por tanto, las gestantes con títulos elevados de IgG en su mayoría eran portadoras de enfermedad crónica (alto índice de avidéz). Entretanto, el hecho de haberse encontrado una asociación estadística significativa entre los títulos elevados de IgG y la fase crónica no excluye la enfermedad aguda en presencia de títulos elevados; sin embargo, aumenta la necesidad de la atención ante las gestantes con títulos de IgG bajos. Apenas el 0,62% de las gestantes presentaron muestras con IgM positivas, de las cuales una presentó alta avidéz de IgG, indicando infección crónica. Los hijos de estas gestantes también presentaron anticuerpos de la clase IgM al nacimiento, lo que demostraba infección congénita.

La prueba de avidéz de la IgG puede servir como marcador de fase aguda, porque identifica anticuerpos inmaduros producidos durante esta fase de la infección. En gestantes IgM positivas para citomegalovirus, se confirmó un índice del 34,6% de fase

aguda mediante la prueba de avidéz de IgG, lo que indica una persistencia importante de la IgM en el torrente circulatorio durante esta infección¹³.

De las muestras sanguíneas de gestantes sin presencia de IgM, el 31,17% presentó baja avidéz, denotando posibles IgG inmaduros e infección reciente. No se han encontrado datos como éste en la bibliografía, debido a que los estudios existentes apenas lo utilizaron en las mujeres con presencia de la IgM para confirmación de la fase aguda de la infección.

En este estudio se observó fase aguda sin la presencia de la IgM, indicando que esta inmunoglobulina, además de poder persistir por períodos prolongados¹⁴, también puede tener una permanencia fugaz en esa infección. Además de eso, indica que la fase aguda de la infección en la gestante se debe evaluar con otras pruebas, pues la detección de la IgM no se mostró un buen marcador de infección aguda para el CMV en la población estudiada. Los hallazgos de la bibliografía para este marcador indican valores positivos variables entre el 0,70 y el 4,0% para infección primaria aguda^{3,4}, también muestran bajos porcentajes de seroconversión.

En este estudio, la IgM se identificó en el 0,62% de las mujeres, y con la utilización de la prueba de avidéz de la IgG, en el 31,17% se encontró un aumento del número de gestantes con anticuerpos inmaduros, posiblemente de fase aguda. Estos datos indican que un número considerable de las gestantes que acudieron al Servicio de Prenatal del Hospital Materno Infantil de Goiânia en este período, con aparente infección crónica, en realidad estaba en fase aguda de esta virosis, donde el riesgo de contaminación fetal es del 50%.

La especificidad de la prueba de avidéz de la IgG para identificar la citomegalovirus aguda está comprometida por la variación en la técnica del procedimiento, diferencia en los antígenos comerciales utilizados y por la existencia de anticuerpo de la clase IgG con período de maduración variable. Así, un 31,17% de las gestantes con baja avidéz identificadas en este estudio no presentaban enfermedad aguda. Otras investigaciones deben aclarar y cuantificar esta especificidad.

Por tanto, la prueba de avidéz de la IgG es útil para evidenciar la enfermedad aguda en gestantes, sean IgG positivas e IgM negativas (de duración fugaz) o IgG e IgM positivas, ésta con duración prolongada o consecuente con la reactivación o rein-

126 fección con otras muestras del CMV, y se necesita mejorar la especificidad del examen para disminuir los resultados falsos positivos.

Esa distinción es necesaria porque la infección primaria es de mayor potencial de transmisión vertical y más perjudicial para el feto. La presencia de los anticuerpos con baja avidez de IgG^{15,16} y la ausencia de los neutralizantes anti-CMV¹⁷ marcan la infección primaria, los cuales se deben utilizar en los casos de gestantes IgM positivas, para diferenciar la fase aguda de la reinfección o reactivación de la infección, para establecer el pronóstico del feto.

Este estudio, con la utilización de la prueba de avidez de la IgG en gestantes IgM negativas, mostró que la infección aguda ocurre en un porcentaje de mujeres mucho más elevado de lo que se esperaba, lo que indica una permanencia más corta de este anticuerpo en esta infección. Ese hallazgo indica que esta inmunoglobulina podría persistir en algunos casos por un período prolongado y en otros podrá tener una permanencia fugaz en la fase aguda de la infección por el CMV. Por tanto, si existe la exclusión de las gestantes IgG positivas e IgM negativas anti-CMV en la distinción entre infección reciente y tardía, un número considerable de embarazadas agudamente infectadas, dejaría de ser diagnosticado. Y como la probabilidad de transmisión congénita es del 50%, los nacidos de madres infectadas con sospecha

de haber sido contaminados, dejarían de ser considerados como lactantes de riesgo para la aparición de lesiones neurológicas, principalmente auditivas.

Los estudios de la IgG e IgM, por el método inmunoenzimático, no han sido buenos identificadores de fase aguda de la citomegalovirus por las bajas sensibilidad y especificidad, tornándose necesaria la mejoría de las técnicas de avidez de la IgG, la microneutralización de anticuerpos, así como el desarrollo de otros marcadores. Hay autores que no recomiendan realizar el perfil serológico para el CMV en la rutina del prenatal, por falta de un tratamiento seguro y eficaz¹⁵, pero la mayoría sí que lo recomienda para que se sistematicen acciones de prevención y tratamiento individualizado en los fetos generados en situaciones de riesgo^{7,17,18}.

Considerando los resultados del presente estudio, se recomienda el perfil serológico para detección de la IgM e IgG asociadas a la prueba de avidez de la IgG como marcadores de infección aguda, tanto en mujeres con resultado de IgM reactivos como para no reactivos, principalmente cuando están con bajos títulos de IgG. Un niño nacido de madre infectada durante la gestación debe ser investigado para la identificación de la transmisión vertical y seguido desde el nacimiento con asistencia multiprofesional y atención a las lesiones que pueden surgir durante su crecimiento y desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Demmler GJ. Summary of a Workshop on Surveillance for Congenital Cytomegalovirus Disease. *Rev Infect Dis.* 1991;13: 315-29.
2. Ho M. Epidemiology of cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis.* 1990;12:701-10.
3. Costa SCB. Infecção por citomegalovirus (CMV): epidemiologia, diagnóstico e tratamento. *Clin Terap.* 1999;25:18-28.
4. Suassuna JHR, Machado RD. Diagnóstico das infecções por citomegalovirus (CMV) em pacientes com deficiência imunológica. *Assoc Med Bras.* 1999;38:33-47.
5. Daniel Y, Gull I, Reyser MR, Lessing JB. Congenital cytomegalovirus infection. *J Obstet Gynecol Reprod.* 1995;63:7-16.
6. Boppana S, Amso C, Britt W. late onset and reactivation of chorioretinitis in children with congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1994;13:1139-42.
7. Lazzarotto T, Spezzacatena P, Pradelli P, Abate DA, Gabrielli L, Varani S, et al. Cytomegalovirus infection in pregnancy: a still complicated diagnostic problem. *Intervirology.* 1998;41:149-57.
8. Fowler KB, Stagno S, Pass RF. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med.* 1992;326:663-7.
9. Red Book. Cytomegalovirus infection. 25th ed. Elk Grove Village: American Academy of Pediatrics; 2000. p. 227-30.
10. Forbes BA. Acquisition of cytomegalovirus infection: an update. *Clin Microbiol Rev.* 1989;2:204-16.
11. Steinlin MI, Nadal D, Eich GF, Martin E, Boltshauser EJ. Late intrauterine cytomegalovirus infection: clinical and neuroimaging findings. *Pediatric Neurology.* 1996;15:249-53.
12. Hedman K, Rousseau SA. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary Rubella. *J Med Virol.* 1989;27:288-92.

13. Bodeus M, Feuder S, Goubau P. Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women. *Clin Diagn Virol.* 1998;9:9-16.
14. Kangro HO, Griffiths PD, Huber TJ, Heath RB. Specific IgM class antibody production following infection with cytomegalovirus. *J Med Virol.* 1982;10:203-12.
15. Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, et al. Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary cmv infection in pregnant women. *J Infect Dis.* 1997;175:944-6.
16. 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. *Clinical Diagnostic Laborat Immunol.* 1997;4:469-73.
17. Eggers M, Metzger C, Enders G. Differentiation between acute primary and recurrent human cytomegalovirus infection in pregnancy, using a icroneutralization assay. *J Med Virol.* 1998;56:351-8.
18. Daiminger A, Bader U, Eggers M, Lazzarotto T, Enders G. Evaluation of two novel enzyme immunoassays using recombinant antigens to detect cytomegalovirus-specific immunoglobulin m in sera from pregnant women. *J Clin Virol.* 1999;13:161-71.

127