

ORIGINAL

SEROEPIDEMIOLOGÍA FRENTE A CITOMEGALOVIRUS
EN LA COMUNIDAD DE MADRID

Fernando de Ory Manchón (1), Juan Carlos Sanz Moreno (2), Rosario Castañeda López (3), Rosa Ramírez Fernández (3), Pilar León Rega (1) e Isabel Pachón del Amo (4)

- (1) Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.
- (2) Laboratorio de Regional de Salud Pública. Comunidad de Madrid.
- (3) Servicio de Epidemiología. Consejería de Sanidad, Comunidad de Madrid.
- (4) Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III.

RESUMEN

Fundamento: La infección por citomegalovirus (CMV) es frecuentemente asintomática. Sin embargo, constituye una importante causa de infección congénita y de patología severa en sujetos inmunodeprimidos, por lo que representa un problema en Salud Pública. El objeto de este trabajo fue conocer la prevalencia de IgG frente a CMV (IgG-CMV) en la población general madrileña.

Métodos: Estudio transversal en el que se detectó IgG-CMV en una muestra representativa de la población general de la Comunidad de Madrid entre 2 y 60 años (n=2030). Se realizó un muestreo bietápico estratificado por conglomerados (octubre de 1993 y febrero de 1994). Para el análisis estadístico se emplearon los test de χ^2 y χ^2 de tendencia lineal y se calcularon los porcentajes de seroprevalencia y los odds ratios con intervalos de confianza del 95%.

Resultados: La seroprevalencia global fue del 62,8% (IC_{95%}: 60,6-64,9); 66,7% (IC_{95%}: 63,7-69,5) en mujeres y del 58,4% (IC_{95%}: 55,2-61,5) en hombres. Se observó una asociación significativa entre el aumento de la edad y el incremento de la seroprevalencia. Fueron factores significativos de riesgo la consulta al dentista, antecedentes de cirugía, acupuntura y tatuajes. Los estudios superiores constituyeron un factor protector.

Conclusión: Aunque los factores de riesgo detectados indican una posible transmisión vía sanguínea, la elevada prevalencia apunta a la existencia de otras vías más comunes. El aumento de la seroprevalencia dependiente de la edad sugiere que se produce un número importante de infecciones en la edad adulta. No se puede excluir, sin embargo, que este aumento responda a un efecto cohorte debido a mejoras socioeconómicas similares al detectado para otros virus.

Palabras clave: Citomegalovirus. Anticuerpos. Seroprevalencia.

ABSTRACT

Seroepidemiology of Cytomegalovirus in the Autonomous Region of Madrid

Background: Cytomegalovirus (CMV) is frequently asymptomatic. However, it constitutes an important cause of congenital disease and severe pathology in immunodepressed patients, thus representing an important problem in Public Health. The object of this work was to study the prevalence of IgG against CMV (IgG-CMV) in the general population from Madrid.

Methods: It is a transversal study, in which IgG-CMV was assayed in a representative sample of the general population from the Region of Madrid, aged 2 to 60 years (n=2030). Participants were recruited by a two-stage cluster sample procedure from those attending primary health care centres between October, 1993 and February, 1994. For the statistical analysis the χ^2 and χ^2 lineal trend tests were employed. The percentages of seroprevalence and the specific odds ratios were calculated with confidence intervals of 95%.

Results: The overall seroprevalence has been 62,8% (IC_{95%} 60,6-64,9), ranging from 58,4% (IC_{95%} 55,2-61,5) in men to 66,7% (IC_{95%} 63,7-69,5) in women. A significant association between increase of the age and increment of the seroprevalence was observed. The consult to dentistry, the antecedent of surgery, as well as tattooing and acupuncture has been identified as risk factors of acquiring the infection. On the other hand, to have carried out University studies seems to act as a significant factor of protection.

Conclusions: Although the risk factors detected indicates a transmission by blood, the high prevalence suggests the existence of other more common ways. The age-dependent seroprevalence increase confirms an important number of infections in the adult age. However, it cannot be exclude that this increase responds to an effect cohort due to socio-economic improvements similar to the detected for other virus.

Key words: Cytomegalovirus. Antibodies. Seroprevalence.

Correspondencia:

Fernando de Ory Manchón
Servicio de Microbiología Diagnóstica
Centro Nacional de Microbiología
Instituto de Salud Carlos III
Majadahonda
28220 Madrid
Correo electrónico: fory@isciii.es

INTRODUCCIÓN

La infección por citomegalovirus (CMV), que en el paciente inmunocompetente es muy frecuentemente asintomática o puede ocasionar una enfermedad poco grave, tiene gran importancia cuando se produce en la mujer embarazada, por la patología severa que puede producir en el recién nacido, siendo en la actualidad la más importante causa de infección congénita; igualmente grave es la infección en el paciente inmunodeprimido, en el que puede ser fatal¹. Se conoce poco cual es la forma de transmisión del CMV, aunque se han identificado diversas vías. Parece realizarse fundamentalmente por vía hemática y a través de contacto con personas que excretan el virus en orina, saliva, semen y otras secreciones². Es también notable la transmisión a través de fómites; en concreto se ha confirmado la transmisión entre niños a través de juguetes y superficies contaminadas, en los que el virus puede estar presente en forma infecciosa hasta 30 minutos³. En los pacientes transplantados se puede adquirir la infección a través de la sangre o del órgano transplantado⁴. Debido a la amplia distribución de esta infección en la población general y dado el riesgo que conlleva en colectivos específicos de riesgo, el CMV representa un problema de primer orden en Salud Pública.

El objetivo del presente estudio ha sido mejorar el conocimiento de los mecanismos de infección por el CMV en nuestro medio, basándonos en dos aspectos. En primer lugar, el estudio de la prevalencia de anticuerpos frente al CMV en población general, analizando los factores de riesgo o protección para adquirir la infección. El segundo aspecto es la comparación de la seroprevalencia frente a CMV con la obtenida frente a otros patógenos, de los que se conocen las formas de transmisión: virus de la hepatitis A (VHA), de transmisión oral-fecal y virus varicela zóster (VVZ), de transmisión respiratoria.

MATERIAL Y MÉTODO

Se estudiaron muestras de suero de 2.030 individuos (1.071 mujeres y 959 hombres) que representan a la población de la Comunidad de Madrid⁵, con edades entre 2 y 60 años, tomadas para la realización de la II Encuesta de Seroprevalencia de la Comunidad de Madrid. La muestra se obtuvo por muestreo bietápico estratificado por conglomerados, en los centros de atención primaria del Insalud, entre octubre de 1993 y febrero de 1994. El criterio de estratificación utilizado fue el área sanitaria, con subestratificación por distrito y sexo en cada uno de los grupos de edad establecidos. La zona geográfica se consideró un criterio prioritario de estratificación como forma de obtener grupos homogéneos. Las unidades de estratificación de la primera etapa estaban formadas por los centros de extracción (se seleccionaron 75 centros) mientras que las de segunda etapa estaban constituidas por los individuos o sujetos muestrales. A los participantes se les realizó una encuesta, previa solicitud de consentimiento informado, para identificar posibles factores de riesgo o protección (nivel de instrucción, superficie de la vivienda, número de convivientes, antecedentes de transfusión, de tatuaje, de cirugía, consulta a dentista, e historia de hemofilia). Para evitar el rechazo a la participación no se recogió información acerca de comportamiento sexual. Fueron establecidos 7 grupos de edad: 2 a 5 años (n=277; 132 niñas), 6 a 10 años (n=296; 146 niñas), 11 a 15 años (n=285; 136 niñas), 16 a 20 años (n=313; 165 mujeres), 21 a 30 años (n=412; 246 mujeres), 31 a 40 años (n=332; 187 mujeres) y 41 a 60 años (n=115; 59 mujeres). Los sueros se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento.

Las determinaciones serológicas se realizaron por ELISA indirecto, de origen comercial (Enzygnost, Dade Behring, Marburg, Alemania, para CMV y VVZ, e IMx, Abbott Laboratories, Chicago, EEUU, para VHA). Se han seguido rigurosamente las instrucciones de los fabricantes.

Para el análisis estadístico se calcularon los porcentajes de seroprevalencia con intervalos de confianza del 95% (IC_{95%}), estableciéndose asociaciones mediante los test de χ^2 y χ^2 de tendencia lineal. Así mismo se calculó el odds ratio (OR) específico con sus correspondientes IC_{95%} para los diferentes factores de riesgo o de protección. La relación con la prevalencia frente a las otras infecciones víricas (VHA y VVZ) se evaluó analizando los coeficientes de correlación (Pearson) de los porcentajes de seroprevalencia. El análisis estadístico se realizó empleando los programas estadísticos Epiinfo 6.0 y SPSS 9.0.

RESULTADOS

El 62,8% (IC_{95%} 60,6-64,9) del total de los participantes mostró IgG frente al CMV. Los resultados generales obtenidos por grupo de edad y sexo se presentan en la tabla 1 y en la figura 1. En los hombres, en todos los grupos de edad entre 2 y 20 años, la seroprevalencia

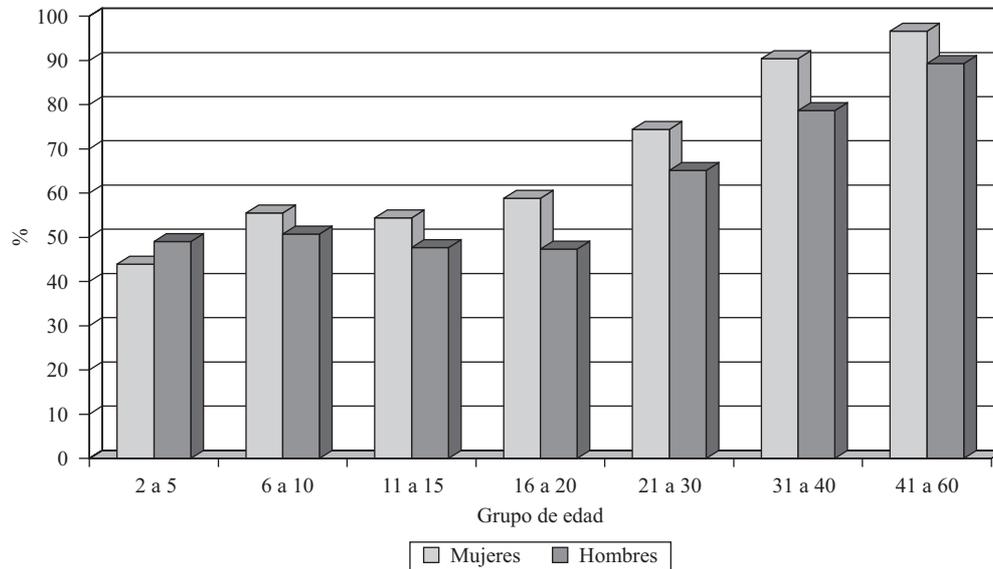
fue cercana al 50%, aumentando a partir de esta edad. En las mujeres, en el grupo de edad de 2-5 años fue positivo el 43,9% (IC_{95%} 35,3-52,8), aumentando la seroprevalencia a cifras próximas al 55% a partir de los 6 años hasta el grupo de 16 a 20 años, y continuando el aumento a partir de esta edad. Tanto en la totalidad de los sujetos como para cada uno de los sexos por separado se observó una asociación significativa entre el aumento de la edad y el incremento de seroprevalencia (χ^2 de tendencia lineal, $p < 0,001$).

La seroprevalencia frente a CMV resultó significativamente mayor en las mujeres (66,7%, IC_{95%} 63,7-69,5) que en los hombres (58,4%, IC_{95%} 55,2-61,5) ($p < 0,001$). En el grupo de 2-5 años fue superior en el sexo masculino, aunque sin significación estadística. En los restantes grupos de edad siempre fue superior en las mujeres. La diferencia alcanzó significación estadística en los grupos de 16-20 y 31-40 años ($p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente).

Tabla 1
Seroprevalencia frente a CMV por grupo de edad y sexo

Grupo de edad	% de individuos positivos a IgG-CMV (IC95%)			χ^2 y OR en mujeres (IC95%)
	Total	Varones	Mujeres	
2-5 años	46,6 (40,6-52,6)	49,0 (40,6-57,4)	43,9 (35,3-52,8)	NS
6-10 años	53,0 (47,2-58,8)	50,7 (42,4-58,9)	55,5 (47,0-63,7)	NS
11-15 años	50,9 (44,9-56,8)	47,6 (39,4-56,0)	54,4 (45,7-62,0)	NS
16-20 años	53,3 (47,7-59,0)	47,3 (39,0-55,7)	58,8 (50,9-66,4)	$p < 0,05$; OR 1,59 (0,99-2,55)
21-30 años	69,1 (64,4-73,5)	65,1 (57,3-72,3)	72,4 (66,3-77,8)	NS
31-40 años	85,2 (81,0-88,9)	78,6 (71,0-85,0)	90,4 (85,2-94,2)	$p < 0,01$; OR 2,55 (1,31-5,08)
41-60 años	93,0 (86,7-96,9)	89,3 (78,1-96,0)	96,6 (88,3-99,6)	NS
	χ^2 de tendencia lineal $p < 0,001$	χ^2 de tendencia lineal $p < 0,001$	χ^2 de tendencia lineal $p < 0,001$	

Figura 1
Anticuerpos frente a CMV en la Comunidad de Madrid



En conjunto, en los menores de 15 años no se detectaron diferencias entre varones y mujeres, sin embargo, por encima de esta edad la seroprevalencia fue significativamente mayor en mujeres ($p < 0,001$, OR 1,62, IC95% 1,25-2,12).

El análisis de los diversos factores de riesgo estudiados se presenta en la tabla 2. Se encontró una asociación significativa entre la mayor seroprevalencia frente al CMV y la consulta a dentista ($p < 0,001$), los antecedentes de cirugía ($p < 0,05$), los antecedentes de acupuntura ($p < 0,05$) y la presencia de tatuajes ($p < 0,05$). Sin embargo, no se ha detectado asociación con antecedente de transfusión y hemofilia. El índice de hacinamiento ($< 20\text{m}^2/\text{persona}$) tampoco influyó de manera significativa en la seroprevalencia.

Al estudiar los factores de riesgo y protección en grupos específicos de edad se apreció que en los niños de 2-5 años la asistencia a guardería no supuso un elemento que aumentara el riesgo de infección en esta edad.

La formación universitaria representó un indicador de protección. El nivel de estudios superior constituyó un factor significativo de protección en los mayores de 30 años ($p < 0,001$). De forma similar, la formación universitaria de los padres de los individuos menores de 30 años también apareció como un factor de protección ($p < 0,05$ en el caso de la madre y $p < 0,01$ en el caso del padre).

La comparación de los resultados de seroprevalencia frente a CMV con los obtenidos frente al VHA y frente al VVZ en grupos de edad de 5 años se muestra en la figura 2. En niños de 2-5 años los valores de seroprevalencia frente a CMV y VVZ fueron prácticamente idénticos. A partir de esta edad, mientras que la seroprevalencia frente a CMV permaneció relativamente estable hasta los 20 años (con cifras próximas al 50%), frente a VVZ aumentó hasta alcanzar niveles superiores al 80% entre los 6-15 años y por encima del 90% más allá de esta edad (coeficiente de correlación = 0,630, no significativo). En lo referente a VHA aun-

Tabla 2

Asociación entre la presencia de anticuerpos frente a CMV y factores de riesgo relacionados con la infección previa por el virus (n=2030)

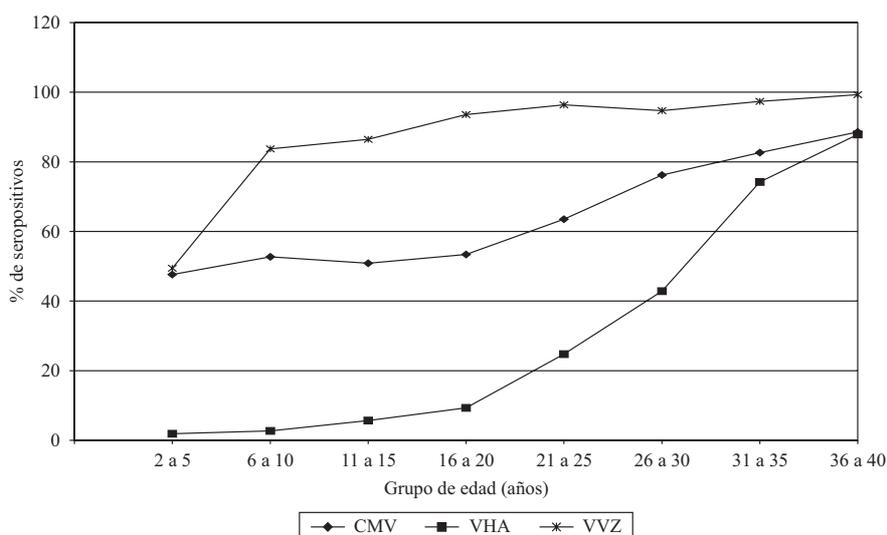
FACTOR DE RIESGO/PROTECCIÓN	Anti-CMV		OR (IC95%)	p
	Pos	Neg		
Consulta a dentista * (n=2030)	77,8%	66,4%	1,77 (1,44-2,18)	<0,001
Antecedentes de cirugía * (n=2030) *	41,6%	36,2%	1,25 (1,04-1,52)	<0,05
Antecedentes de transfusión (n=2030)	3,8%	2,4%	1,61 (0,91-2,96)	0,08
Hemofilia (n=2030)	0,4%	0%	Indefinido	0,08
Antecedentes de acupuntura * (n=2030)	2,7%	1,3%	2,11 (1,01-4,8)	<0,05
Presencia de tatuajes * (n=2030)	1,9%	0,7%	2,88 (1,07-9,71)	<0,05
Hacinamiento <20m ² /persona (n=2030)	37,8%	34,5%	1,15 (0,95-1,40)	NS
Guardería (sólo 2-5 años) (n=277)	88,4%	86,5%	1,19 (0,55-2,62)	NS
Estudios universitarios ** (sólo >30 años) (n=447)	9,5%	24,6%	0,32 (0,16-0,70)	<0,001
Estudios universitarios de la madre ** (sólo ≤30 años) (n=1583)	2,0%	4,0%	0,50 (0,26-0,90)	<0,05
Estudios universitarios del padre ** (sólo ≤30 años) (n=1583)	5,8%	9,7%	0,57 (0,38-0,84)	<0,01

* Factor significativo de riesgo

** Factor significativo de protección

Figura 2

Comparación de las seroprevalencia frente a CMV, VZV y hepatitis A en la Comunidad de Madrid



que la prevalencia para esta infección se encontró muy distanciada respecto a la de CMV en los sujetos de menor edad (porcentajes inferiores al 10% en menores de 20 años) se observó una tendencia a converger en los individuos adultos (coeficiente de correlación = 0,982, $p < 0,01$).

DISCUSIÓN

La infección postnatal en el individuo inmunocompetente por CMV se produce a través de contacto íntimo con personas excretoras del virus, o a través de contacto con secreciones como saliva, lágrimas u orina. Una vía importante de infección se relaciona con la adquisición del virus a través de la sangre⁴. En este sentido, hemos encontrado asociación entre un mayor nivel de seroprevalencia para CMV y diversos antecedentes que reflejan riesgo de transmisión sanguínea, como son cirugía, consulta a dentista, acupuntura y tatuajes. No se ha encontrado asociación, en contra de lo esperado, con otros, como hemofilia y transfusión, probablemente a causa del bajo número de individuos que referían tales antecedentes.

Se ha postulado que existen dos períodos en la vida en los que se produce la infección, durante los primeros años y durante la adolescencia, en asociación con el comienzo de la actividad sexual¹. La infección durante los primeros años de la vida guarda relación con contactos familiares, o con infecciones adquiridas en guarderías⁶. Sin embargo en nuestro estudio no se pudo confirmar en niños de 2 a 5 años una relación entre la mayor tasa de seroprevalencia y la asistencia a guardería. En el presente trabajo no se incluyeron niños menores de 2 años, aunque previamente se ha confirmado que el 40% de los niños españoles entre 15 y 24 meses ya han sufrido infección por el virus⁷. Se ha documentado la reinfección y la coinfección por cepas distintas durante la infancia⁶. La seroprevalencia en menores de 6 meses puede elevarse al 70%⁸, como consecuencia de

la adquisición pasiva de IgG materna. A partir de este momento y hasta los 4 años los niveles de anticuerpos en niños se sitúan entre el 40-50%⁸. Estos datos concuerdan con los registrados en nuestro trabajo.

La seroprevalencia global resultó significativamente mayor en mujeres que en hombres, aunque no puede descartarse que este resultado se deba, en parte, al hecho de que la edad media de las mujeres estudiadas es mayor que la de los hombres (20,4 frente a 18,85 $p < 0,05$ [resultados no mostrados]).

Desde los 2 y hasta los 20 años, la seroprevalencia en los hombres se situó próxima al 50%, aumentando a partir de esta edad hasta el 65,06% (21-30 años), 78,62% (31-40) y 89,28% (41-60). En las mujeres, en cambio, a partir de los 6 años la seroprevalencia se mostró cercana al 55% hasta el grupo de 16 a 20 años, incrementándose también a partir de este momento hasta el 72,35% (21-30 años), 90,37% (31-40 años) y 96,61% (41-60 años). Estos datos son comparables con los registrados en otras investigaciones con cifras de seroprevalencia entre mujeres en edad fértil próximas al 70%⁹. Otros autores han detectado niveles de seroprevalencia del 60% en menores de 30 años llegando a alcanzar el 90% en adultos¹⁰. Sin embargo, en lugares donde la infección es ya es endémica en mujeres jóvenes (90% a los 14 años) no se detecta este incremento de seroprevalencia dependiente de la edad¹¹.

De cualquier forma, el aumento de seroprevalencia en ambos sexos por encima de los 20 años, se correspondería con el segundo período de la vida en el que se producen infecciones por el virus. Si bien entre los 2 y 15 años los valores de varones y mujeres en los diferentes grupos de edad han sido similares, a partir de esta edad se observa que la seroprevalencia en mujeres es significativamente mayor que en hombres. Se ha sugerido que las mujeres de 15 a 20 años de edad tienen un alto riesgo de sufrir infecciones primarias por CMV¹¹. Este fenómeno tiene

dos posibles explicaciones. En primer lugar, puede ser debido a la transmisión sexual, que se ha postulado como una vía importante de contagio del CMV¹¹, y que pudiera resultar en una mayor seroprevalencia en las mujeres, de forma similar a como ocurre con otros virus de conocida transmisión sexual, como es el virus herpes simplex tipo 2 (HSV2). Recientemente se ha documentado, empleando la misma muestra, que la seroprevalencia frente al HSV2 en población adulta es mayor en las mujeres que en los hombres¹². Por otra parte, cuando se ha comparado la seroprevalencia en estos dos grupos de edad frente al VVZ, virus de transmisión respiratoria, no se han encontrado diferencias entre varones y mujeres (resultados no mostrados). De cualquier forma, no se ha podido relacionar en este estudio el incremento en la seroprevalencia con aspectos del comportamiento sexual, ya que no se recogió este tipo de información, para evitar el rechazo a la participación en la encuesta. No obstante, factores tales como el inicio precoz en las relaciones sexuales y una elevada promiscuidad constituyen elementos conocidos de riesgo en la transmisión de esta infección¹¹.

La otra posible explicación está basada en el hecho de que la mujer embarazada sufre frecuentemente reactivaciones, favorecidas por la depresión en la respuesta inmune celular¹³, o por los cambios hormonales que tienen lugar durante la gestación¹⁴. En mujeres durante el primer trimestre del embarazo se han detectado niveles de seropositividad para IgM del 4%⁹; en estas circunstancias, la frecuencia de casos agudos de infección primaria, mediante detección de IgG-CMV de baja avidéz, se sitúa entre el 1 y 1,7%⁹. Cuando se ha sufrido una infección primaria en un pasado remoto, es probable que la concentración de anticuerpos específicos caiga a niveles indetectables. Dadas estas condiciones, sería más probable que entre las personas que sufrieron la infección en un pasado lejano, las mujeres mostraran mayor seroprevalencia que los varones, como consecuencia de reactivaciones del virus.

No obstante todo lo anterior, es posible que el aumento en la seroprevalencia frente a CMV en relación con la edad sea en parte consecuencia de determinados cambios higiénico-sanitarios, de manera que los grupos más jóvenes de población se hubieran beneficiado de las mejoras en los hábitos higiénicos alcanzadas en los últimos años, estando por tanto sujetos a un menor riesgo de infección, de forma similar a como ha sucedido con el VHA en nuestro país^{5,15}. Ciertos autores han observado un incremento de seroprevalencia frente a CMV dependiente de las condiciones socioeconómicas de la población estudiada⁸⁻¹⁰. Se han detectado variaciones de seroprevalencia de aproximadamente el 10% en función de la clase social⁹. Además, en entornos socialmente poco favorecidos el riesgo de infecciones recurrentes puede duplicarse⁹.

Entre los diversos marcadores considerados que pueden indicar el grado de desarrollo, la formación universitaria (del propio individuo en los mayores de 30 años, o de los padres en los menores de esta edad) constituyó un factor significativo de protección. Estos resultados concuerdan con los obtenidos previamente en estudios realizados en otras regiones del mundo, en los que se observa una asociación inversa entre el nivel educacional y el riesgo de infección¹¹.

Al comparar la curva de adquisición de anticuerpos frente a CMV con la de un virus de transmisión fecal-oral, como es el VHA, y con la de un virus de transmisión respiratoria como el VVZ, se observó que el patrón de adquisición de anticuerpos frente a CMV ocupa una posición intermedia con los dos otros agentes (figura 2). La correlación detectada entre las curvas de seroprevalencia en relación con la edad entre CMV y VHA es excelente. Diversos estudios seroepidemiológicos realizados frente al VHA confirman que con las mejoras higiénico-sanitarias se disminuye el número de infecciones por este virus, resultando en una alta proporción de susceptibles entre los más jóvenes^{5,15}. Estos datos están en consonancia con la disminución en seroprevalencia frente a CMV observada en niños a lo largo del

tiempo y relacionada con un mejor desarrollo sociosanitario⁸. Por este motivo no se puede excluir que el aumento de seroprevalencia frente a CMV dependiente de la edad responda a un efecto cohorte debido a mejoras socioeconómicas similar al detectado para otros agentes infecciosos.

La realización de nuevos estudios frente a CMV en sucesivas encuestas realizadas en el mismo tipo de población permitirá conocer, de forma similar a como ha ocurrido con el VHA, si los avances en las condiciones de vida repercuten en la reducción de infecciones por el virus.

BIBLIOGRAFÍA

1. Griffiths PD, Emery VC. Cytomegalovirus. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editores. *Clinical Virology*. Nueva York: Churchill Livingstone; 1997, p. 445-470.
2. Arvin AM. Human Cytomegalovirus. En: Lennette EH, editor. *Laboratory Diagnosis of Viral Infections*. Nueva York: Marcel Dekker; 1992, p. 333-350.
3. Hutto C, Little EA, Ricks R, Lee JD, Pass RF. Isolation of cytomegalovirus from toys and hands in a day care center. *J Infect Dis* 1986; 154: 527-530.
4. Adler S. Transfusion associated cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 977-993.
5. Dirección General de Prevención y Promoción de la Salud. Consejería de Salud, Comunidad de Madrid. II Encuesta de Serovigilancia de la Comunidad de Madrid. Documentos Técnicos de Salud Pública, núm. 29; 1995.
6. Bale JF, Petheram SJ, Souza IE, Murph JR. Cytomegalovirus reinfection in young children. *J Pediatr* 1996; 128: 347-352.
7. De Ory F. Contribución al diagnóstico y a la epidemiología de las infecciones por virus Epstein-Barr, citomegalovirus y virus herpes humano-6 [Tesis doctoral] Universidad Complutense de Madrid; 1994.
8. Lee PI, Chang MH, Lee CY, Kao CL. Changing seroepidemiological patterns of cytomegalovirus infection in children in Taiwan from 1984 to 1989. *J Med Virol* 1992; 36: 75-78.
9. Mustakangas P, Sarna S, Ammala P, Muttillainen M, Koskela P, Koskiniemi M. Human cytomegalovirus seroprevalence in three socioeconomically different urban areas during the first trimester: a population-based cohort study. *Int J Epidemiol* 2000; 29: 587-591.
10. Abarca K, Vial PA, Zamorano J, Paris C, Ferres M, Villarroel L, Ferreccio C. Seroprevalence of cytomegalovirus and *Toxoplasma gondii* in healthy subjects under 30 years old in Santiago, Chile. *Rev Med Chil* 1997; 125: 531-538.
11. Echániz-Avilés G, Tamayo-Legorreta E, Cruz-Valdéz A, Rangel-Flores H, Hernández-Navárez P, Gatica-Marquina R, Calderón-Jaimes E. Prevalence of antibodies against cytomegalovirus in women of reproductive age. *Salud Publica Mex* 1993; 35: 20-26.
12. De Ory F, Echevarría JM, Pachón I, Ramírez R. Seroprevalencia frente al virus herpes simplex tipo 2 en población adulta de la Comunidad de Madrid. *Enferm Inf Microbiol Clín* 2000; 18: 420-421.
13. Kumar A, Madden DL, Nankervis GA. Humoral and cell mediated immune responses to herpesvirus antigens during pregnancy. A longitudinal study. *J Clin Immunol* 1984; 4:12-17.
14. Mackowiak PA, Haley ML, Marling Cason M, Tiemens KM, Luby JP. Effect of human sex hormones on cytomegalovirus growth and Fc receptor expression. *J. Lab Clin Med* 1987; 110: 427-432.
15. Salleras L, Bruguera M, Vidal, J, Taberner JL, Plans P, Jiménez de Anta MT, et al. Cambio del patrón epidemiológico de la hepatitis A en España. *Med Clín (Barc)* 1991; 99: 87-89.