

## Diagnóstico de la infección por citomegalovirus

Gonzalo Gómez-Marqués<sup>1</sup>, Ángel Alonso-Hernández<sup>2</sup>, Beatriz Bayés<sup>3</sup>, Gabriel Bernal<sup>4</sup>, Ana M. Fernández<sup>5</sup>, Antonio Franco<sup>6</sup>, Teresa García-Álvarez<sup>7</sup>, Carlos Gómez-Alamillo<sup>8</sup>, Enrique Luna<sup>9</sup>, Francisco Llamas<sup>10</sup>, Alicia Mendiluce<sup>11</sup>, Marisa Mir<sup>12</sup>, Miguel A. Muñoz<sup>13</sup>, José M. Osorio<sup>14</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca

<sup>2</sup> Servicio de Nefrología. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

<sup>3</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona

<sup>4</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

<sup>5</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

<sup>6</sup> Servicio de Nefrología. Hospital General de Alicante. Alicante

<sup>7</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz

<sup>8</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

<sup>9</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Infanta Cristina. Badajoz

<sup>10</sup> Servicio de Nefrología. Hospital General de Albacete. Albacete

<sup>11</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Clínico Universitario de Valladolid

<sup>12</sup> Servicio de Nefrología. Hospital del Mar. Barcelona

<sup>13</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Virgen de la Salud. Toledo

<sup>14</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

Nefrología Sup Ext 2012;3(1):14-20

doi:10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2012.Feb.11387

### INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) es un virus ADN de la familia *Herpesviridae*. En la población general, la infección por CMV tiene una gran prevalencia que aumenta con la edad, infectándose hasta dos tercios de los individuos y persistiendo de forma latente en el organismo del huésped de forma indefinida. Mientras que en la población general esta infección se presenta de manera asintomática o mínimamente sintomática en forma de síndrome mononuclear, en la población de pacientes sometidos a trasplante renal la infección por CMV puede derivar en una gran variedad de manifestaciones clínicas y de afectación de diversos órganos que se asocian con una morbilidad y una mortalidad significativas. La administración de fármacos inmunosupresores para la prevención del rechazo

inmunológico está directamente relacionada con el aumento del riesgo de enfermedad por CMV, concretamente con el uso de terapias de inducción y de derivados del ácido micofenólico<sup>1-3</sup>.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad por CMV son inespecíficas, por lo que se hace necesaria la utilización de técnicas microbiológicas más específicas para el diagnóstico. Sin embargo y aunque las técnicas para la detección del CMV han mejorado de forma sustancial en la última década, su interpretación se hace difícil, por lo que es preciso poner en contexto estas técnicas, la situación clínica del paciente y el tipo de muestra analizada. En este sentido, aunque el aislamiento del CMV podría parecer definitivo para el diagnóstico de un determinado cuadro clínico, éste podría estar causado por otros microorganismos. Por otro lado, la histología constituiría el diagnóstico definitivo, pero en la gran mayoría de los casos esto no es posible.

**Correspondencia:** Gonzalo Gómez-Marqués

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Son Espases.  
Ctra. Valldemossa n.º 79. 07010 Palma de Mallorca.  
gonzalo.gomez@ssib.es

## INFECCIÓN-ENFERMEDAD

Un aspecto importante a tener en consideración es la diferencia que existe entre infección y enfermedad por CMV.

### Infección por citomegalovirus

Implica la detección del virus CMV en el organismo mediante cultivos, técnicas de biología molecular o la confirmación del contacto con el virus mediante técnicas serológicas (seropositividad a IgG).

Para el diagnóstico de infección reciente o primoinfección, es necesario la seroconversión con aparición de anticuerpos IgM anti-CMV, un incremento de cuatro veces o más del título de IgG preexistente o la detección del virus mediante cultivos o técnicas de biología molecular en pacientes previamente no infectados.

Hablamos de infección activa en aquellos pacientes con serología positiva IgG que presentan datos de replicación activa del virus detectada mediante cultivos o técnicas de biología molecular. En caso de serología positiva sin datos de replicación del virus, se trataría de una infección latente<sup>4,5</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

### Enfermedad por citomegalovirus

Para su diagnóstico, precisa que se añada a la evidencia de infección por CMV la presencia de síntomas clínicos compatibles. Según los síntomas clínicos, podemos distinguir entre el síndrome viral-mononuclear y la enfermedad invasiva. El síndrome viral consiste en un cuadro febril inespecífico, acompañado con frecuencia de leucopenia. Cuando la enfermedad produce una afectación de uno o más órganos en forma de neumonitis, hepatitis, enterocolitis, encefalitis, coriorretinitis, etc., hablamos de enfermedad invasiva<sup>6-9</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

## DIAGNÓSTICO PRETRASPLANTE

Se realiza mediante serología CMV IgG y constituye la base fundamental para estratificar el riesgo de infección y/o enfermedad y planificar las estrategias de prevención.

Mediante la determinación de IgG anti-CMV, clasificamos tanto a los donantes como a los receptores de un trasplante renal en seropositivos o seronegativos.

Un aspecto importante a tener en cuenta es la necesidad de confirmar la seronegatividad del receptor en el momento del trasplante, ante la posibilidad de su seroconversión desde la última determinación de anticuerpos previa al trasplante<sup>8</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

## DIAGNÓSTICO POSTRASPLANTE

### Cultivos

Mediante el cultivo en fibroblastos humanos, el CMV puede ser aislado a partir de muestras de distintos orígenes, como sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, lavados bronquiales o biopsias de tejidos. Sin embargo, el tiempo prolongado que se necesita para el crecimiento en el medio de cultivo que, dependiendo de los casos, puede llegar a ser de hasta 6 semanas, impide que se utilice en la práctica clínica habitual.

La detección del antígeno temprano del CMV en medios de cultivo (cultivos de Shell-vial), utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra este antígeno en muestras de sangre, orina, etc., indica replicación «temprana» del virus en las células. Los resultados de esta técnica habitualmente, se obtienen en un plazo de 2 a 3 días. Actualmente, esta técnica ha sido desplazada por los nuevos métodos diagnósticos disponibles<sup>10</sup>.

### Serología para citomegalovirus (IgM/IgG)

En la actualidad, no se considera de utilidad clínica la utilización de la serología para el diagnóstico de la enferme-

dad por CMV en el postrasplante renal<sup>11,12</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

### Antígeno pp65 de citomegalovirus

La técnica conocida como antigenemia de CMV consiste en la detección de la proteína pp65 en leucocitos polimorfonucleares neutrófilos de sangre periférica, mediante anticuerpos monoclonales dirigidos contra este antígeno. La sensibilidad y la especificidad de esta técnica para el diagnóstico de infección por CMV es alta y tiene una buena correlación con la viremia<sup>12-16</sup>.

La mayor limitación de la técnica es la falta de criterios estándar para la interpretación de un mismo resultado entre laboratorios, al depender de un observador experimentado para su interpretación. Otros inconvenientes son la necesidad de un tiempo corto para el procesamiento de la muestra, y ser una técnica manual y laboriosa. Por el contrario, es un método diagnóstico de bajo coste económico en relación con las técnicas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica no es interpretable en el caso de presentar el paciente una neutropenia de menos de 1000 n/ucl<sup>11,14</sup>.

Aunque no existe un consenso extendido, es más importante la tendencia de la antigenemia que un punto de corte concreto. Por otro lado, los criterios de positividad son distintos para la infección que para la sospecha de enfermedad por CMV. El resultado se expresa en número de neutrófilos positivos para el Ag pp65 de cada 100.000. Para el diagnóstico de infección, un Ag pp65 CMV > 1 cel/100.000 neutrófilos es significativo. Para la enfermedad por CMV, el punto de corte varía según la serología del paciente; si el paciente es seronegativo, el diagnóstico de enfermedad se haría si el Ag pp65 es  $\geq 1$  cel/100.000 neutrófilos. En el caso de ser seropositivo, el diagnóstico de enfermedad se realizaría con Ag pp65 > 10 cel/100.000 neutrófilos (tabla 1).

La aplicación de esta técnica tiene fundamentalmente tres utilidades. La primera, tal como se ha mencionado previamente, es el diagnóstico de infección-enfermedad. La segunda es el tratamiento anticipado como criterio para em-

pezar el tratamiento. Y tercera, para monitorizar la respuesta al tratamiento ya instaurado<sup>11,17-19</sup> (*Grado de recomendación: débil*).

### Carga viral-Reacción en cadena de la polimerasa-Citomegalovirus

Actualmente, la PCR constituye la técnica de elección en el diagnóstico de la infección por CMV, al ser una técnica más sensible que la antigenemia. Sin embargo, existe una dificultad a la hora de definir la negatividad de la PCR e instaurar por tanto los puntos de corte para establecer el diagnóstico, al poderse detectar ADN viral en pacientes sin enfermedad activa<sup>12,20-25</sup>.

En general, podemos decir que se trata de una técnica objetiva y rápida, aunque el equipo necesario tiene un alto coste.

Las técnicas de PCR las podemos dividir en cualitativas o cuantitativas, y en comerciales automatizadas o «caseras». Además, dependiendo de si la reacción en cadena se detecta de forma inmediata o tras 12-24 horas, la PCR es «tiempo real» o convencional, respectivamente (tabla 2). La muestra utilizada puede ser sangre total que ofrece una mayor sensibilidad y proporciona un reflejo más real de la infección-enfermedad por CMV o plasma, que tiene como ventajas una más fácil realización de la técnica y una mayor automatización. Existen diversas técnicas comerciales automatizadas, como el COBAS® AMPLICOR, LightCycler® (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN), el sistema de captura híbrida (Digene Corporation, Gaithersburg, MD) o el

**Tabla 1.** Interpretación de la antigenemia (Ag pp65) como predictor de infección o enfermedad por citomegalovirus en trasplante renal

#### Infección

- > 1 cel/100.000 neutrófilos: POSITIVA para infección

#### Enfermedad

-  $\geq 1$  cel/100.000 neutrófilos: POSITIVA si R -

- > 10 cel/100.000 neutrófilos: POSITIVA si R +

**Tabla 2.** Tipos de técnicas de la reacción en cadena de la polimerasa**Según resultado**

- Cualitativa
- Cuantitativa

**Según tiempo de realización**

- A tiempo real
- Convencional

**Según método**

- Comercial
- «Casera»

**Según muestra utilizada**

- Plasma
- Sangre total

*Abbott RealTime CMV assay* (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois), para la realización de la PCR cuantitativa. Sin embargo, con frecuencia se realizan diversas técnicas no comerciales o «caseras» en el laboratorio de microbiología, lo que implica que las cargas virales entre los distintos ensayos nos sean comparables por las diferencias en el diseño de la técnica. Las ventajas respecto a las técnicas comerciales son un menor riesgo de contaminación o una mayor rapidez en la obtención del resultado. Bien sea una técnica comercial o «casera», se recomienda que la PCR sea cuantitativa a tiempo real<sup>25,26</sup>.

Cualquier valor positivo de PCR de CMV se considera indicativo de infección. Aunque cualquier grado de positividad debe poner en alerta sobre el desarrollo de enfermedad, se sugieren como resultados sospechosos de enfermedad > 500 copias en plasma en receptores de trasplante renal seronegativos (R-) y > 1000 en plasma en seropositivos (R+). Sin embargo, la cinética de replicación viral es más importante que un valor único y aislado de carga viral. Para comparar los resultados de carga viral en sangre total respecto a plasma, es necesario conocer la equivalencia (10 veces más en sangre respecto al plasma); 500 cp/ml en plasma equivalen a 5000 cp/ml en sangre total<sup>27,28</sup> (tabla 3) (*Grado de recomendación: débil*).

La utilidad de estas técnicas es, por un lado, el diagnóstico de la infección por CMV (siendo de elección frente a la antigenemia) y, por otro, la monitorización en la terapia anticipada<sup>19,29-31</sup> (*Grado de recomendación: fuerte*).

Puede utilizarse en la monitorización del tratamiento, pero existe una dificultad en el momento de definir la negatividad de la PCR, sugiriéndose suspender el tratamiento con < 500 cp/ml<sup>31</sup> (tabla 3) (*Grado de recomendación: débil*).

La propuesta de cronograma de monitorización sería:

1. Terapia anticipada:
  - Quincenal hasta el tercer mes.
  - Mensual hasta el 6.º mes.
  - Posteriormente individualizada.
2. Profilaxis primaria.
3. Postratamiento.

(*Grado de recomendación: basado en consenso*).

**pp67-ácido ribonucleico mensajero**

La proteína pp67 es una proteína del CMV que indica una replicación viral activa. La técnica NucliSENS® (bioMérieux) es una técnica de amplificación de ácidos nucleicos (NASBA) que detecta el ácido ribonucleico mensajero que codifica la proteína pp67. Se trata de una técnica cualitativa, menos sensible que las técnicas de PCR de ADN y no se recomienda en el trasplante de órganos sólidos<sup>11,32</sup>.

**Tabla 3.** Interpretación de la carga viral en plasma como predictor de enfermedad por citomegalovirus en trasplante renal**< 500 copias**

- Carga viral NEGATIVA
- Suspender el tratamiento antiviral

**> 500 copias**

- Carga viral POSITIVA si R -

**> 1000 copias**

- Carga viral POSITIVA si R +

## Genotipo gB

Mediante esta técnica se analiza el genotipo del gen que codifica la glucoproteína (gB) de la envuelta del virus. Existen cuatro tipos: genotipo gB 1 a 4. El más frecuente es el genotipo gB2. Aunque pueden existir otras cepas por coinfección a lo largo del tiempo, no parece tener relevancia ni relación con la clínica<sup>33</sup>.

## Enfermedad invasiva

En casos de antigenemia negativa o falta de respuesta al tratamiento empírico para el diagnóstico definitivo de enfermedad invasiva, puede ser necesario la realización de otras pruebas o biopsias que incluyen la identificación de cuerpos de inclusión, antígeno viral o ADN viral por inmunohistoquímica o PCR. Esta circunstancia acontece con relativa frecuencia en los casos de enfermedad invasiva del tracto digestivo<sup>11,26</sup> (*Grado de recomendación: débil*).

## TEST DE SENSIBILIDAD ANTIVIRAL

### Técnicas fenotípicas

Determinan la concentración de antiviral que inhibe la replicación del virus. Se trata de un proceso lento que precisa de unas cuatro semanas para la obtención de los resultados. Existen tres técnicas: la reducción de placa, la inhibición de síntesis proteica y la citometría de flujo<sup>14,26</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

### Técnicas genotípicas

Detectan mutaciones en los genes UL54 y UL97 del CMV, aunque no existe una clara correlación con las técnicas fenotípicas.

El gen UL97 es esencial para la fosforilación del ganciclovir a su forma activa. El gen UL54 es la diana de acción de los fármacos antivirales. Una mutación a este nivel puede conferir una resistencia al ganciclovir, al foscarnet y al cidofovir. La mayoría de las mutaciones de estos genes se encuentran asociadas.

Se recomienda el estudio de estas mutaciones en los casos de no respuesta al tratamiento<sup>14,26</sup> (*Grado de recomendación: basado en consenso*).

## CONCEPTOS CLAVE

1. En la enfermedad por CMV, a los datos de infección viral se debe añadir la existencia de síntomas clínicos compatibles.
2. La indicación de las técnicas serológicas de CMV en trasplante renal es la clasificación de los donantes y receptores en seronegativos o seropositivos, y no en el diagnóstico de infección activa o enfermedad por CMV.
3. La antigenemia de CMV (pp65), aunque de utilidad en el diagnóstico de infección activa, en el tratamiento anticipado y en la monitorización del tratamiento, tiende a ser relegada a favor de las técnicas de biología molecular (PCR).
4. En la actualidad, la técnica de elección para el diagnóstico de la infección por CMV es la PCR cuantitativa a tiempo real.
5. Tanto para la técnica de antigenemia como para la PCR cuantitativa, es más importante la tendencia en el tiempo que una determinación aislada.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brennan DC. Cytomegalovirus in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(4):848-55.
- Naraqí S. Cytomegalovirus. En: Belshe RB, ed. *Textbook of human virology*. 2nd ed. St Louis: Mosby-Year Book; 1991. p. 889-924.
- Krech U. Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world. *Bull World Health Organ* 1973;49(1):103-6.
- Gandhi MK, Khanna R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis* 2004;4(12):725-38.
- Söderberg-Nauclér C, Fish KN, Nelson JA. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulation of blood cells from healthy donors. *Cell* 1997;91(1):119-26.
- Evans AS. Infectious mononucleosis and related syndromes. *Am J Med Sci* 1978;276(3):325-39.
- Eddleston M, Peacock S, Juniper M, Warrell DA. Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis* 1997;24(1):52-6.
- Rubin RH. Infectious disease complications of renal transplantation. *Kidney Int* 1993;44(1):221-36.
- Farrugia E, Schwab TR. Management and prevention of cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Mayo Clin Proc* 1992;67(9):879-90.
- Chou S. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis* 1990;12 Suppl 7:S727-36.
- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al.; Transplantation Society International CMV Consensus Group. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89(7):779-95.
- Bhatia J, Shah BV, Mehta AP, Deshmukh M, Sirsat RA, Rodrigues C. Comparing serology, antigenemia assay and polymerase chain reaction for the diagnosis of cytomegalovirus infection in renal transplant patients. *J Assoc Physicians India* 2004;52:297-300.
- Bernabeu-Wittel M, Pachón-Ibáñez J, Cisneros JM, Cañas E, Sánchez M, Gómez MA, et al. Quantitative pp65 antigenemia in the diagnosis of cytomegalovirus disease: prospective assessment in a cohort of solid organ transplant recipients. *J Infect* 2005;51(3):188-94. Epub 2004 Dec 2.
- Razonable RR, Paya CV, Smith TF. Role of the laboratory in diagnosis and management of cytomegalovirus infection in hematopoietic stem cell and solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):746-52.
- Degré M, Kristiansen KI, Rollag H, Holter E, Nordal KP. Detection of human cytomegalovirus (HCMV) pp67-mRNA and pp65 antigenemia in relation to development of clinical HCMV disease in renal transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2001;7(5):254-60.
- Meyer-Koenig U, Weidmann M, Kirste G, Hufert FT. Cytomegalovirus infection in organ-transplant recipients: diagnostic value of pp65 antigen test, qualitative polymerase chain reaction (PCR) and quantitative Taqman PCR. *Transplantation* 2004;77(11):1692-8.
- Ozaki KS, Pestana JO, Granato CF, Pacheco-Silva A, Camargo LF. Sequential cytomegalovirus antigenemia monitoring in kidney transplants patients treated with antilymphocyte antibodies. *Transpl Infect Dis* 2004;6(2):63-8.
- Kim CK, Song JH, Kim SM, Peck KR, Oh W, Huh W, et al. Clinical usefulness of human cytomegalovirus antigenemia assay after kidney transplantation. *Transplantation* 2003;75(12):2151-5.
- Rayes N, Seehofer D, Lullius SG, Stein A, May G, Kahl A, et al. Monitoring of human cytomegalovirus, HHV-6 and HHV-7 infection in kidney transplant recipients by molecular methods to predict HCMV disease after transplantation: a prospective study. *Ann Transplant* 2005;10(2):23-8.
- Tong CY, Cuevas LE, Williams H, Bakran A. Prediction and diagnosis of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients using qualitative and quantitative polymerase chain reaction. *Transplantation* 2000;69(5):985-91.
- Mhiri L, Kaabi B, Houimel M, Arrouji Z, Slim A. Comparison of pp65 antigenemia, quantitative PCR and DNA hybrid capture for detection of cytomegalovirus in transplant recipients and AIDS patients. *J Virol Methods* 2007;143(1):23-8. Epub 2007 Mar 1.
- Pang XL, Chui L, Fenton J, LeBlanc B, Preiksaitis JK. Comparison of LightCycler-based PCR, COBAS amplicor CMV monitor, and pp65 antigenemia assays for quantitative measurement of cytomegalovirus viral load in peripheral blood specimens from patients after solid organ transplantation. *J Clin Microbiol* 2003;41(7):3167-74.
- Kaanan A, Cour I, Álvarez-Lafuente R, Benedicto M, Culebras E, Prats D, et al. Significance of nested PCR and quantitative real time PCR for cytomegalovirus detection in renal transplant recipients. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24(5):455-62.

24. Piiparen H, Höckerstedt K, Grönhagen-Riska C, Lappalainen M, Suni J, Lautenschlager I. Comparison of plasma polymerase chain reaction and pp65-antigenemia assay in the quantification of cytomegalovirus in liver and kidney transplant patients. *J Clin Virol* 2001;22(1):111-6.
25. Piiparen H, Höckerstedt K, Grönhagen-Riska C, Lautenschlager I. Comparison of two quantitative CMV PCR tests, Cobas Amplicor CMV Monitor and TaqMan assay, and pp65-antigenemia assay in the determination of viral loads from peripheral blood of organ transplant patients. *J Clin Virol* 2004;30(3):258-66.
26. Storch GA. Diagnostic virology. *Clin Infect Dis* 2000;31(3):739-51. Epub 2000 Oct 4.
27. Humar A, Paya C, Pescovitz MD, Dominguez E, Washburn K, Blumberg E, et al. Clinical utility of cytomegalovirus viral load testing for predicting CMV disease in D /R- solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2004;4(4):644-9.
28. Garrige I, Doussau A, Asselineau J, Bricout H, Couzi L, Rio C, et al. Prediction of cytomegalovirus (CMV) plasma load from evaluation of CMV whole-blood load in samples from renal transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2008;46(2):493-8. Epub 2007 Dec 5.
29. Franco A, Serrano R, Gimeno A, de Juan J, Merino E, Jiménez del Cerro L, et al. Estudio de carga viral y antigenemia como valores predictivos de recidiva de infección CMV en el trasplante renal. *Nefrología* 2007;27(2):202-08.
30. Madi N, Al-Nakib W, Mustafa AS, Saeed T, Pacsa A, Nampoory MR. Detection and monitoring of cytomegalovirus infection in renal transplant patients by quantitative real-time PCR. *Med Princ Pract* 2007;16(4):268-73.
31. Piiparinen H, Helanterä I, Lappalainen M, Suni J, Koskinen P, Grönhagen-Riska C, et al. Quantitative PCR in the diagnosis of CMV infection and in the monitoring of viral load during the antiviral treatment in renal transplant patients. *J Med Virol* 2005;76(3):367-72.
32. Merlino C, Bergallo M, Gregori G, Sinesi F, Bollero C, Cavallo R. HCMV pp67-mRNA detection by nucleic acid sequence-based amplification in renal transplant patients. *New Microbiol* 2002;25(1):1-8.
33. Carrao E, Granato CF. Single human cytomegalovirus gB genotype shed in multiple sites at the time of diagnosis in renal transplant recipients. *J Med Virol* 2003;70(2):240-3.