

**VIREMIA POR CITOMEGALOVIRUS
Y
RELACIÓN CON EL PRONÓSTICO
DE LOS ENFERMOS VIH CON < DE
50 LINFOCITOS CD4**

Mireia Puig Asensio

Director del trabajo: Dr Vicenç Falcó Ferrer

Departament de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.

Trabajo de investigación. Junio 2010.

ÍNDICE

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

1.- Resumen	3
2.- Introducción	4
3.- Material y métodos	5
4.- Resultados	6
5.- Discusión	7
6.- Conclusiones	8
7.- Apéndice y tablas	9
8.- Bibliografía	14

Viremia por citomegalovirus y relación con en el pronóstico de los enfermos VIH con < de 50 linfocitos CD4

1) Resumen

Objetivos: Estudiar la prevalencia de replicación por CMV en pacientes con infección por VIH y < 50 linfocitos CD4 y evaluar el impacto que tiene la replicación de CMV en el pronóstico de estos enfermos.

Métodos: Todos los adultos con infección por VIH que tuvieron una determinación inicial de linfocitos CD4 inferior a 50 céls/ μ L entre enero 2006 y diciembre 2008, fueron seleccionados de la base de datos del Departamento de Enfermedades Infecciosas del Hospital Vall d'Hebron.

Resultados: La viremia por CMV fue detectada basalmente en 17 (25%) de los pacientes. Siete de los 17 sujetos con PCR para CMV positiva tuvieron enfermedad por CMV. Al año de seguimiento, una proporción similar de enfermos con PCR para CMV positiva y negativa consiguieron una carga viral de VIH < 50 copias/mL (72,7% vs 76,9% respectivamente). Durante el seguimiento, 9 de 51 enfermos (17,6%) con PCR de CMV negativa y 4 de 17 pacientes (23,5%) con PCR de CMV positiva fueron diagnosticados de otras infecciones oportunistas relacionadas con el VIH ($p=0,72$). La media de la carga viral de CMV fue significativamente superior en aquellos individuos que tuvieron enfermedad por CMV (102.784 copias/mL vs 938 copias /mL; $p=0,035$).

Conclusiones: En el 25% de los pacientes con infección por VIH con < 50 linfocitos CD4 se detectó viremia por CMV. En nuestro estudio, la replicación plasmática de CMV no influyó en la recuperación del sistema inmunológico tras el inicio de tratamiento antiretroviral ni se asoció con un incremento del número de infecciones oportunistas asociadas al VIH o mayor mortalidad de los enfermos.

2) Introducción

La infección por Citomegalovirus (CMV) ocurre en personas con un estado avanzado de la infección por VIH que no reciben tratamiento antiretroviral del alta eficacia (TARGA) o cuyo tratamiento es ineficaz. Antes de la introducción del TARGA el 22% de los pacientes coinfectados por VIH y CMV que tenían una cifra de < 100 linfocitos CD4 desarrollaban en el plazo de 2 años una retinitis por CMV, cifra que podía alcanzar niveles de hasta un 41,9% en los que tenían < 50 linfocitos CD4 (1,2). La introducción del TARGA contribuyó a reducir drásticamente la incidencia global de enfermedad visceral por CMV (3,4), pero también contribuyó a incrementar la supervivencia de los enfermos VIH con retinitis por CMV (5).

Aún y así, los pacientes que inician TARGA con una cifra de linfocitos CD4 < 50 tienen un período de riesgo entorno los 3-6 meses, que se prolonga hasta la recuperación del sistema inmunológico, durante el cual aún pueden sufrir infecciones por CMV u otras infecciones oportunistas (6). De hecho, a pesar de la implementación del TARGA se siguen diagnosticando casos nuevos de enfermedad por CMV y en el año 2003 la incidencia de retinitis por CMV fue estimada en 5,6 casos/100 personas-año (7). Asimismo, en un estudio reciente la prevalencia de DNA de CMV en el plasma de enfermos VIH con < de 100 linfocitos CD4 fue del 55,2% (8).

Varios estudios se han centrado en la relación entre la detección plasmática de CMV y el riesgo de desarrollar enfermedad clínica. Se ha visto que la media de carga viral de CMV es significativamente superior en aquellos individuos que tienen retinitis por CMV (4). Además se ha descrito una peor evolución clínica en los pacientes con viremia por CMV, independientemente de la cifra de linfocitos CD4 o de la carga viral VIH. La replicación de CMV es considerada un factor predictor independiente de mortalidad (8-11) así como factor de riesgo para la aparición de otras enfermedades oportunistas (6). Sin embargo, se ignora hasta qué punto los niveles de replicación de CMV en plasma pueden ser realmente predictivos de lesión tisular por CMV. Únicamente un estudio necrópsico de pacientes infectados por el VIH, estableció un punto de corte de 10.000 copias/mL de DNA-CMV para conseguir una especificidad y valor predictivo positivo del 100% para el diagnóstico de la enfermedad por CMV (12). A pesar de ello, no se sabe si únicamente con el tratamiento antiretroviral sería suficiente para aclarar la viremia por CMV o, si por el contrario, se necesitaría también realizar tratamiento específico frente al CMV (13).

En resumen, debido a que la incidencia de enfermedad visceral por CMV ha disminuido considerablemente desde la introducción del TARGA, se conoce poco sobre el significado clínico de la viremia por CMV.

Objetivos del estudio:

Se ha diseñado el presente estudio con los siguientes objetivos:

- 1.- Estudiar la prevalencia de replicación por CMV en pacientes con infección por VIH y < 50 linfocitos CD4 y
- 2.- evaluar el impacto que tiene la replicación de CMV en el pronóstico de estos enfermos.

3) Material y métodos

Diseño del estudio: Todos los pacientes con infección por VIH que tuvieron un recuento inferior a 50 linfocitos CD4 entre enero 2006 y diciembre 2008, fueron seleccionados retrospectivamente de la base de datos del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Vall d'Hebron. Los pacientes fueron considerados para el estudio si cumplían los siguientes criterios de inclusión: 1) linfocitos CD4 < 50 células/μL en el momento de inclusión 2) disponer de plasma basal almacenado a -20°C. Durante el período de estudio, un total de 88 pacientes fueron seleccionados de la base de datos. Veinte pacientes fueron excluidos del estudio, 19 casos por no disponer de muestras plasmáticas basales para determinar la PCR de CMV y un sujeto por tratarse de un trasplantado hepático (y que por tanto tenía otro factor de riesgo independiente de la infección por VIH para tener infección por CMV).

Variables a estudio y recogida de datos: De cada paciente fueron recogidos de la base de datos: 1) aspectos demográficos y epidemiológicos (edad, sexo, vía de adquisición de la infección por VIH); 2) infecciones oportunistas tanto previas a inclusión como en el seguimiento; 3) exposición previa o actual a TARGA; 4) síntomas y signos sugestivos de enfermedad orgánica por CMV; 5) carga viral VIH y el recuento de linfocitos CD4 fueron registrados basalmente y a los 3,6 y 12 meses de seguimiento; 6) DNA plasmático de CMV en el momento de inclusión; 7) mortalidad o pérdida de seguimiento.

Evaluación de la afectación visceral por CMV: Se realizó exploración para el diagnóstico de enfermedad por CMV en aquellos pacientes que tenían síntomas focales o signos sugestivos de infección orgánica por CMV (disminución agudeza visual, diarrea, disfagia, meningitis, neumonitis, úlcera mucosas, etc.). Los criterios de enfermedad probable y confirmada por CMV quedan descritos en el apéndice 1.

Determinación plasmática de CMV: Los niveles de DNA en plasma de CMV fueron determinados mediante una técnica cuantitativa de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el kit comercial *artus* CMV RG PCR Test (Qiagen, Hilden, Alemania). El DNA de CMV para la técnica a tiempo real de PCR fue extraído de las muestras plasmáticas almacenadas de los pacientes usando el EAsyMag (BioMèriieux S.A., Mercy l'Étoile, France). La sensibilidad del test fue de 50 copias/mL.

Análisis estadístico: En el estudio descriptivo, las variables cuantitativas se expresan como mediana y percentiles P_{25} y P_{75} (rango intercuantílico RIQ). Las variables cualitativas se expresan como frecuencia absoluta y porcentaje. Las diferencias entre las variables cualitativas fueron calculadas con el test Chi cuadrado (o bien el test exacto de Fisher cuando fue preciso) y para las variables cuantitativas se usó la U de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas si $p < 0,05$.

Se ha comparado la evolución de la cifra de linfocitos CD4 y la carga viral de VIH entre el grupo de pacientes con y sin replicación por CMV en el tiempo basal y durante el seguimiento a los 3,6 y 12 meses. El análisis estadístico se realizó usando el sistema SPSS versión 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

4) Resultados

Descripción de las características basales de los pacientes

Sesenta ocho pacientes fueron finalmente incluidos en el estudio. Las características basales se han resumido en la tabla 1. Todos los pacientes estaban gravemente inmunodeprimidos con una mediana de linfocitos CD4 de 21 céls/ μ L y una elevada carga viral del VIH (mediana de 5,2 \log_{10}). La mayoría de los pacientes (98,5%) no recibían tratamiento TARGA o bien se encontraban en fracaso virológico.

En el momento de inclusión, se detectó viremia por CMV en 17 (25%) de los pacientes. En la tabla 1 se comparan las características basales de los pacientes según la presencia de replicación de CMV. La única diferencia entre los pacientes con viremia CMV con respecto a los que no la presentaban fue la presencia de una cifra de linfocitos CD4 significativamente inferior en el grupo con PCR para CMV positiva.

Viremia por Citomegalovirus y pronóstico de los pacientes

La figura 1 muestra la evolución de la cifra de linfocitos CD4 y la carga viral del VIH a los 3, 6 y 12 meses después del inicio de TARGA eficaz. Al final del seguimiento, no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas para la respuesta al TARGA entre los pacientes con y sin viremia basal para CMV. En concreto, a los 12 meses el 76,9% de los que tenían PCR CMV positiva y el 72,7% de los pacientes con PCR-CMV negativa tenían una carga viral VIH < 50 copias/mL. La mediana de linfocitos CD4 a año de seguimiento fue de 149 cél/ μ L en los pacientes sin viremia para CMV y 230 céls/ μ L para los pacientes con viremia positiva para CMV. La tabla 2 muestra la evolución inicial de los pacientes con y sin viremia para CMV basal.

No se pudo correlacionar la presencia de viremia por CMV con un incremento del riesgo de tener nuevas infecciones oportunistas. Durante el seguimiento, 9 de 51 enfermos (17,6%) con PCR de CMV negativa y 4 de 17 pacientes (23,5%) con PCR de CMV positiva fueron diagnosticados de otras infecciones oportunistas relacionadas con el VIH ($p=0,72$).

A los 12 meses 10 pacientes (3 con PCR para CMV positiva y 7 con PCR para CMV negativa basal) fueron pérdida de seguimiento. Sólo uno de los 58 enfermos restantes falleció durante el seguimiento. Este paciente tenía 15.8489 copias/mL de DNA de CMV, desarrolló úlceras en mucosa oral por CMV y murió por una leucoencefalopatía multifocal progresiva dos meses más tarde.

Relación entre la viremia por CMV y la presencia de enfermedad orgánica por CMV

Siete de los 17 pacientes (41%) en los cuales la PCR CMV basal fue positiva, fueron diagnosticados de afectación visceral por CMV durante el primer mes tras la determinación de viremia por CMV. Sin embargo en ninguno con PCR CMV negativa desarrolló afectación orgánica por CMV ($p<0,001$). Los 7 casos con viremia positiva en los que se diagnosticó afectación tisular por citomegalovirus tenían síntomas focales que motivaron al clínico a buscar la enfermedad (los diagnósticos quedan detallados en la tabla 3 y en la tabla 4 se muestran los valores de viremia por CMV en los pacientes). Aún y cuando la clínica no fue visual en todos ellos se realizó como screening una funduscopía y fueron tratados con tratamiento específico anti-CMV. Los 10 pacientes restantes con PCR CMV positiva en los que

no se documentó afectación orgánica, porque no presentaron síntomas, ninguno hizo profilaxis y ninguno desarrolló enfermedad durante el seguimiento.

La media de la carga viral de CMV fue significativamente superior en aquellos individuos que tuvieron enfermedad por CMV (102.784 copias/mL vs 938 copias /mL; p=0,035).

5) **Discusión**

A pesar que la incidencia global de la enfermedad por CMV ha disminuido drásticamente de un 25% a un 5% desde la introducción del TARGA (3,9,10), algunos pacientes aún están en riesgo de desarrollar la enfermedad mientras se produce la recuperación de su sistema inmunológico (6). En nuestro estudio del 25% de los pacientes con < de 50 linfocitos CD4 tienen evidencia de replicación vírica de CMV. Estos porcentajes tan elevados son similares a los descritos en la era TARGA en pacientes en estadios avanzados de la infección por VIH. Algunos estudios desarrollados en diferentes zonas han mostrado incidencias que oscilan entre el 12,6% y el 20% en sujetos coinfectados por CMV y VIH (11,13,14,15).

En un estudio presentado recientemente, la detección plasmática de bajos niveles de replicación de CMV en pacientes con ≤ 100 cels/ μ L se correlacionó con evolución hacia enfermedad orgánica por CMV, otros eventos definitorios de SIDA y muerte (6). Es posible que la replicación de CMV actúe como un inmunomodulador, de manera similar a lo que se ha descrito en el trasplante de órgano sólido, pudiendo facilitar la infección por otras enfermedades oportunistas (16). En nuestro estudio el 41% de los pacientes con PCR positiva para CMV tuvieron enfermedad por CMV y la media de la carga viral de CMV fue significativamente superior en aquellos individuos que tuvieron enfermedad por CMV, lo cual es concordante con lo descrito con anterioridad. Sin embargo, entre los sujetos con replicación de CMV no pudimos demostrar un incremento del riesgo de nuevas enfermedades oportunistas y muerte. Este resultado puede ser consecuencia del número bajo de enfermos incluidos en el estudio combinado junto la alta tasa de TARGA eficaz a los 12 meses.

Actualmente aún es incierto si el TARGA es suficiente para aclarar la viremia por CMV, o si por el contrario es necesario añadir tratamiento específico anti-CMV en los pacientes con PCR-CMV positiva con la intención de mejorar su pronóstico (10). En dos estudios observacionales recientemente publicados de pacientes naive, TARGA parece suficiente para aclarar la viremia por CMV y prevenir el riesgo de desarrollar enfermedad por CMV (12,15). Además, el único estudio randomizado realizado en pacientes VIH con < de 100 linfocitos CD4 no ha mostrado ningún beneficio clínico del tratamiento específico anticipado anti-CMV si los pacientes recibían además TARGA. Sin embargo este resultado puede estar afectado por el escaso número de pacientes incluidos en el estudio (14).

Ya que no existe suficiente evidencia para el tratamiento anticipado anti-CMV, aún se desconoce qué estrategias deben tenerse en consideración en aquellos pacientes con < de 50 linfocitos CD4 que además replican el CMV.

Nuestro trabajo tiene algunas limitaciones. En primer lugar, al ser un estudio retrospectivo, la enfermedad por CMV puede haber sido infradiagnosticada ya que los pacientes asintomáticos

no fueron evaluados detalladamente en búsqueda de lesiones citomegálicas. Sin embargo, ninguno de ellos desarrolló enfermedad por CMV a pesar de la ausencia de tratamiento específico anti-CMV y, por lo tanto, creemos que el TARGA a sido suficiente para evitar el daño tisular por CMV en los pacientes con PCR para CMV positiva. Además, sólo se obtuvo una muestra basal de PCR plasmática para CMV y no se obtuvieron muestras evolutivas lo que nos habría dado más información.

Finalmente entendemos que es difícil extraer conclusiones con estudios pequeños, sin embargo dada la baja incidencia actual de enfermedad por CMV, pensamos que la información acumulada de los diferentes estudios de cohortes observacionales puede ayudarnos en el manejo de estos pacientes.

6) Conclusiones

En el 25% de los pacientes con infección por VIH con < 50 linfocitos CD4 se detectó viremia por CMV. En nuestro estudio la replicación plasmática de CMV no se asoció con una peor recuperación inmunológica de los enfermos tras el inicio de tratamiento antiretroviral, aparición de nuevas infecciones oportunistas asociadas al VIH o mayor mortalidad de los enfermos.

Proctitis confirmada	<ul style="list-style-type: none"> ● Presencia de dolor rectal, frecuentemente asociado a tenesmo, mucosidad y sangre ● Y procedimiento correcto de visualización (colonoscopia, rectosigmoidoscopia o proctoscopia) que objetive una mucosa eritematosa, erosiones o úlceras ● Y biopsia tisular que demuestre CMV por detección de antígeno o efecto citopático típico
Probable proctitis	<ul style="list-style-type: none"> ● Presencia de dolor rectal, frecuentemente asociado a tenesmo, mucosidad y sangre ● Y procedimiento correcto de visualización esofágica (colonoscopia, rectosigmoidoscopia o proctoscopia,) que objetive una mucosa eritematosa, erosiones o úlceras ● Y aislamiento de CMV de la lesión ● Y correcta evolución con tratamiento anti-CMV
Neumonitis confirmada	<ul style="list-style-type: none"> ● Hipoxemia con infiltrados visibles en la radiografía de tórax o Tc torácico ● Y biopsia tisular o <u>células</u> obtenidas por BAL que demuestren replicación de CMV mediante PCR o bien presencia de cambios citopáticos en células descamativas ● Y ausencia de otros patógenos como posible etiología
Probable neumonitis	<ul style="list-style-type: none"> ● Hipoxemia con infiltrados visibles en la radiografía de tórax o Tc torácico ● Y cultivo positivo para CMV o PCR para CMV positiva en el <u>fluido</u> obtenido por BAL ● Y ausencia de otros patógenos como posible etiología ● Y correcta evolución con tratamiento anti-CMV
Encefalitis confirmada	<ul style="list-style-type: none"> ● Clínica de disfunción neurológica en SNC compatible con encefalitis ● Y detección de replicación de CMV mediante PCR en LCR, o bien cultivo positivo para CMV en LCR, biopsia cerebral que demuestre Antígeno de CMV positiva o visualización de efecto citopático característico.
Probable encefalitis	<ul style="list-style-type: none"> ● Clínica de disfunción neurológica en SNC compatible con encefalitis ● Y realización de RMN o Tc con contraste que 1) excluyan otros procesos intracraneales (toxoplasmosis, leucoencefalopatía multifocal progresiva, linfoma) como causantes etiológicos y 2) demuestren inflamación periventricular o realce meníngeo. ● Y ausencia de otras posibles etiologías Y presencia de afectación orgánica por CMV en otra localización (ej retinitis, colitis) ● Y correcta evolución con tratamiento anti-CMV
Otros síndromes causados por CMV confirmados	<ul style="list-style-type: none"> ● Hepatitis o colangitis: AST/ALT elevados de manera significativa respecto cifras basales Y biopsia tisular con efectos citopáticos típicos ● Radiculomielopatía: Presentación clínica compatible con enfermedad visceral por CMV incluyendo los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> -disminución de los reflejos y fuerza muscular o síndrome congruente con lesión cordonal subaguda (en días o semanas). -mielograma o RMN sin evidencia de compresión medular por una masa pero con evidencia de engrosamiento de las raíces nerviosas más declives de la médula espinal. -cultivo para CMV positivo en el LCR o PCR para CMV positiva en el LCR.
Úlceras cutáneas confirmadas	<ul style="list-style-type: none"> ● Visualización directa de úlceras mucosas (oral/vulvovaginal o perianal) ● Y cultivo para CMV positivo de la lesión o biopsia con efectos citopáticos celulares típicos de la infección por CMV.
Úlceras cutáneas probables	<ul style="list-style-type: none"> ● Visualización directa de úlceras mucosas (oral/vulvovaginal o perianal) ● Y demostración de detección de replicación de CMV mediante PCR en muestra local ● Y ausencia de otras etiologías causales (ej herpes virus) ● Y correcta evolución con tratamiento anti-CMV

Tabla 1. Características basales de los pacientes globalmente y según la viremia por CMV

	Datos globales n=68	PCR CMV negativa n=51	PCR CMV positiva n=17	p
Sexo, n (%)				
Hombre	50 (73,5)	37 (72,5)	13 (76,5)	1
Mujer	18 (26,5)	14 (27,5)	4 (23,5)	
Edad (años), mediana (RIQ)	41 (35-46,75)	40 (34-44)	44 (37-54,5)	0,051
Factor de riesgo VIH, n (%)				
ADVP	23(33,8)	20 (39,2)	3 (17,6)	0,14
Adquisición sexual	45 (66,2)	31 (60,8)	14 (82,4)	
Nº CD4 basal (cél/mm³), mediana (RIQ)	21,5 (10,2-40)	24 (15-40)	10 (3-34)	0,014
Carga viral VIH basal (log), mediana (RIQ)	5,2 (4,6-5,7)	5,2 (4,6-5,7)	5,4(4,6-5,9)	0,407
Infecciones oportunistas pasadas, n (%)	39 (57,4)	28 (54,9)	11 (64,7)	0,57
TARGA en el momento de inclusión				
Pacientes NAIVE, n (%)	31 (45,6)	21 (41,2)	10 (58,8)	0,26
> 3 meses sin TARGA	26 (38,2)	21 (41,2)	5 (29,4)	0,56
TARGA ineficaz (fallo virológico)	10 (14,7)	8 (15,7)	2 (11,7)	1
TARGA eficaz	1 (1,5)	1 (2)	-	-

RIQ: rango intercuartílico

Tabla 2. Evolución clínica de los pacientes según la positividad basal de la viremia por CMV.

Factor	PCR CMV negativa (n= 51)	PCR CMV positiva (n=17)	p
Enfermedad orgánica CMV, n (%)	0	7 (41.2)	< 0.001
Nuevas infecciones oportunistas, n (%)	9 (17.6)	4 (23.5)	0.72
Supervivencia, n (%)	44 (86.3)	13 (76.5)	0.45

Tabla 3: Descripción de los pacientes con afectación visceral por CMV

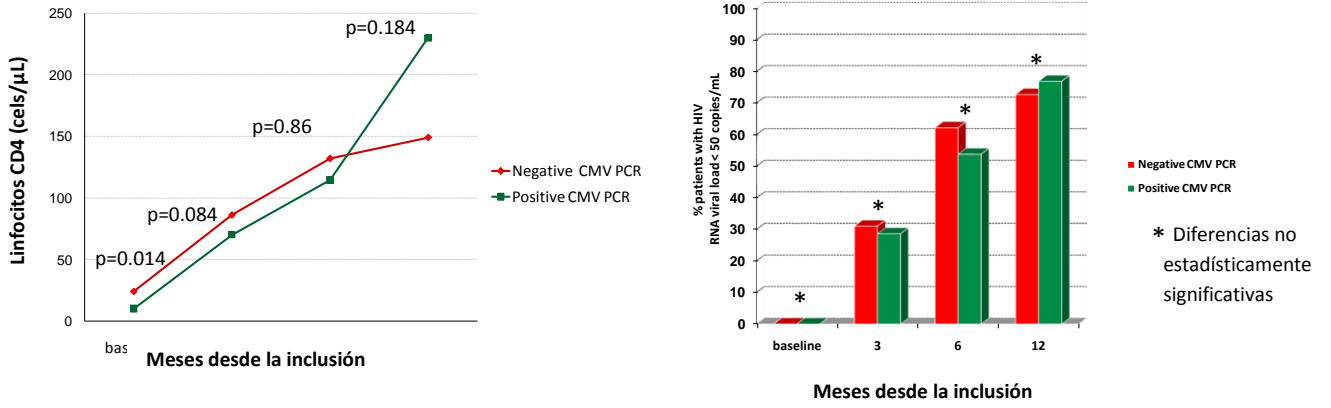
Caso	PCR CMV en plasma (copias/mL)	PCR CMV órgano afecto (copias/mL)	Afectación orgánica CMV	Días entre la PCR –CMV y diagnóstico de enfermedad por CMV	Tratamiento anti-CMV	Profilaxis secundaria anti CMV	TARGA eficaz	Evolución
1	83645	227100	Retinitis	25	Sí	Sí	Sí	Curación
2	398506	No evaluado	Adrenalitis	Simultáneamente	Sí	Sí	Sí	Curación
3	1555	No evaluado	Neumonitis	Simultáneamente	Sí	Sí	Sí	Curación
4	63	500	Encefalitis	16	Sí	Sí	Sí	Curación
5	41089	1392	Pancreatitis	10	Sí	No	Sí	Curación
6	36146	No evaluado	Úlceras orofaríngeas	8	Sí	No	Sí	retinitis por CMV a los 3 meses ▪ PCR CMV vítrea: 37.836 copias/mL* ▪ PCR CMV plasma: 1.962 copias/mL
7	158489	2900	Úlceras orofaríngeas	7	Sí	-	Sí	Fallecimiento por leucoencefalopatía multifocal orgánica

*No fue considerado un síndrome de reconstitución inmunológica

Tabla 4 : Resultados de la determinación cuantitativa de la PCR para CMV en los pacientes con y sin enfermedad orgánica por CMV.

Resultados de la PCR para CMV Carga viral (DNA CMV copias/mL)	Número de pacientes	
	Con enfermedad por CMV n= 7	sin enfermedad por CMV n= 10
50- 499	1	6
500-1 999	1	3
2 000-9 999	0	1
≥ 10 000	5	0

Figura 1: Evolución de los linfocitos CD4) y la carga viral VIH a los 3, 6 y 12 meses tras el inicio de TARGA eficaz.



Bibliografia

1. Pertel P, Hirschtick R, Phair J, Chmiel J, Poggensee L, Murphy R. Risk of developing cytomegalovirus retinitis in persons infected with the human immunodeficiency virus. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1992;5:1069-74.
2. Gallant JE, Moore RD, Richman DD, Keruly J, Chaisson RE. Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. The Zidovudine Epidemiology Study Group. *J Infect Dis.* 1992;166:1223-7.
3. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1998; 338:853-60.
4. Casado JL, Arrizabalaga J, Montes M, Martí-Belda P, Tural C, Pinilla J, et al. Incidence and risk factors for developing cytomegalovirus retinitis in HIV-infected patients receiving protease inhibitor therapy. Spanish CMV-AIDS Study Group. *AIDS.* 1999;13:1497-502.
5. Walsh JC, Jones CD, Barnes EA, Gazzard BG, Mitchell SM. Increasing survival in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis treated with combination antiretroviral therapy including HIV protease inhibitors. *AIDS.* 1998;12:613-8.
6. Boffi El Amari E, Combescure C, Yerli S, Calmy A, Kaiser L, Hirschel B et al. Clinical relevance of CMV viremia. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2009. Montreal (Canada) [Abstract 795].
7. Jabs DA, Van Natta ML, Holbrook JT, Kempen JH, Meinert CL, Davis MD. Longitudinal study of the ocular complications of AIDS: 1. Ocular diagnoses at enrollment. *Ophthalmology.* 2007;114:780-6.
8. Micol R, Buchy P, Guerrier G, Duong V, Ferradini L, Dousset JP et al. Prevalence, risk factors and impact on outcome of cytomegalovirus replication in serum Cambodian HIV-Infected Patients (2004-2007). *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51:486-91.
9. Erice A, Tierney C, Hirsch M, Caliendo AM, Weinberg A, Kendall A, et al. Cytomegalovirus and Human Immunodeficiency Virus Burden, CMV End-Organ Disease, and Survival in Subjects with advanced HIV Infection (AIDS Clinical Trials Group Protocol 360). *Clin Infect Dis.* 2003;37:567-578.
10. Wohl DA, Zeng D, Stewart P, Glomb N, Alcorn T, Jones S, et al. Cytomegalovirus viremia, mortality, and end-organ disease among patients with AIDS receiving potent antiretroviral therapies. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005; 38:538-544.
11. Deayton JR, Prof Sabin CA, Johnson MA, Emery VC, Wilson P, Griffiths PD. Importance of cytomegalovirus viraemia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Lancet.* 2004;363:2116-21.
12. Brantsaeter AB, Holberg-Petersen M, Jeansson S, Goplen AK, Bruun JN. CMV quantitative PCR in the diagnosis of CMV disease in patients with HIV-infection - a retrospective autopsy based study. *BMC Infect Dis.* 2007;7:127.

13. Mihailescu R , Arama V, Paraschiv S, Streinu-Cercel A, Oțelea D, Munteanu D et al. Impact of highly active antiretroviral therapy on cytomegalovirus viraemia, in the absence of specific anti-cytomegalovirus therapy. *Rom J Intern Med.* 2008;46:305-11.
14. Wohl DA, Kendall MA, Andersen J, Crumpacker C, Spector SA, Feinberg J, et al. Low rate of CMV end-organ disease in HIV-infected patients despite low CD4+ cell counts and CMV viremia: results of ACTG protocol A5030. *HIV Clin Trials.* 2009;10:143-152.
15. Gossens VJ, Wolffs PF, van Loo IH, Bruggeman CA, Verbon A. CMV DNA levels and CMV gB subtypes in ART-naive HAART-treated patients: a 2 year follow-up study in The Netherlands. *AIDS* 2009, 23: 1425-1429.
16. Ljungman P, Griffiths P, Paya C. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2002; 34(8):1094-7.

