



PREVALENCIA DE CITOMEGALOVIRUS EN NIÑOS SOMETIDOS A TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL

PREVALENCE OF CYTOMEGALOVIRUS IN CHILDREN WHO RECEIVE BONE MARROW TRANSPLANTATION BY MEANS OF REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

López-Montanero Edith Elizabeth¹
Moscoso-Solórzano Grace Támara²
Alvarado-Villa Geovanny³
Maldonado-Guerrero Bella Irma⁴
Frías-Toral Evelyn Paola⁵
Jiménez-Jiménez Fanny Maribel⁶
Iglesias-Arreaga Adriana Lissette⁶

Correspondencias: elopezm@uees.edu.ec

Recibido para evaluación: enero – 10 – 2014. Aceptado para publicación: febrero – 5- 2015.

RESUMEN

Introducción: el citomegalovirus (CMV) es un virus de importante presencia a nivel mundial. La detección precoz y seriada de la carga viral para CMV ayuda a tratar precozmente la infección y evita la enfermedad que en muchos casos puede ser letal en pacientes inmunodeprimidos.

Objetivo: determinar la prevalencia de CMV en niños inmunodeprimidos sometidos a trasplante de médula ósea, por medio de Reacción de Polimerasa en Cadena en tiempo real.

Métodos: estudio retrospectivo, descriptivo y transversal. La carga viral fue determinada en muestras de plasma recolectadas entre 2009 y 2012 en niños que recibieron trasplante de médula ósea en el Hospital de la Sociedad de Lucha contra el Cáncer [SOLCA] en Guayaquil, Ecuador.

Resultados: fueron analizadas 38 muestras. La edad promedio fue de 7.2 años siendo 57.9% (n=22) varones y 42.1% (n=16) mujeres, con una relación de masculino/femenino 1.4. Cinco pacientes presentaron resultados positivos por la técnica mencionada, siendo el 80% del género femenino. Y las provincias que obtuvieron el mayor número de casos con resultados positivos fueron Los Ríos, Guayas y Esmeraldas. Los pacientes que fueron trasplantados a causa de leucemia linfoblástica aguda y linfoma leucemizado a leucemia linfoblástica aguda tuvieron resultados positivos por infección activa por CMV, 80 y 20%, respectivamente.

¹ Bióloga. Máster en Análisis Sanitarios. Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Espíritu Santo. Ecuador.

² MD. PhD. Coordinadora del área de Nefrología, Hospital Dr. Abel Gilbert Pontón. Coordinadora de Investigación de la Fundación Renal Álvarez Iñigo de Toledo, Filial Ecuador. Docente de Universidad Espíritu Santo-Ecuador.

³ M.Sc. Docente de Bioestadística de la Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Espíritu Santo-Ecuador.

⁴ MD. Jefe de la Unidad de Trasplante de Médula Ósea, SOLCA. Guayaquil.

⁵ MD. Departamento de Investigación y Docencia – SOLCA. Guayaquil

⁶ Estudiante de cuarto año de la Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Espíritu Santo-Ecuador.

Conclusión: la prevalencia de CMV en niños sometidos a trasplante de médula ósea mediante PCR en tiempo real fue del 13%, mayor en el género femenino. **Rev.cienc.biomed. 2015;6(1):53-59**

PALABRAS CLAVE

Citomegalovirus; Infecciones por citomegalovirus; Receptores de trasplantes; Reacción en cadena de la polimerasa.

SUMMARY

Introduction: The cytomegalovirus (CMV) is an important virus worldwide. The early and mass-produced detection of the viral load for CMV helps to treat in an early way the infection and to avoid the disease in immunodeficient patients that in several cases could be lethal.

Objective: To determine the prevalence of CMV in immunodeficient children who received bone marrow transplantation by means of real-time polymerase chain reaction.

Methods: Retrospective, descriptive and cross-sectional study. The viral load was determined in plasma samples recollected since 2009 to 2012 in children who received bone marrow transplantation in the Hospital de la Sociedad de Lucha contra el Cáncer (SOLCA) in Guayaquil, Ecuador.

Results: 38 samples were analyzed. The average age was 7.2 years, and 57.9% (n=22) were men and 42.1% (n=16) women, with a male-female relationship 1:4. Of the analyzed samples, five patients presented positive results in the mentioned technique, who were the 80% of the female gender. And the population with the higher number of cases with positive results were Los Ríos, Guayas and Esmeraldas. The patients who were transplanted due to acute lymphoblastic leukemia and lymphoma with leukemization to acute lymphoblastic leukemia had positive results for active infection by CMV, 80% and 20%, respectively.

Conclusion: The prevalence of CMV in children who received bone marrow transplantation by means of real-time polymerase chain reaction was of 13%, higher in the female gender. **Rev.cienc.biomed. 2015;6(1):53-59**

KEYWORDS

Cytomegalovirus; Cytomegalovirus Infections; Transplant Recipients; Polymerase Chain Reaction.

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) pertenece a la familia de los herpesvirus. Su distribución es mundial y afecta a todos los grupos socioeconómicos (1). Afecta a personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas, con mayor incidencia en los segundos. El 70% de los pacientes que van a recibir trasplante de médula ósea tienen el virus en fase latente (2).

Cuando el CMV ha infectado al ser humano, permanece latente por toda la vida del individuo, presentando periodos intermitentes de reactivación. En sujetos inmunocompetentes es asintomático o se expresa inespecíficamente; sin embargo, en individuos inmunocomprometidos puede dar lugar a complicaciones como encefalitis, hepatitis, miocarditis o neumonía fulminante. Se puede reactivar cuando se aplican fármacos inmunosupresores posterior a trasplante de órgano o tejido (3).

El CMV es una causa común de morbilidad y mortalidad en pacientes que reciben crónicamente inmunosupresión (4-6). El 25% de los pacientes con trasplante renales desarrollan enfermedades por CMV, las cuales ocurren en los tres primeros meses posteriores al trasplante (3-9). El compromiso es más severo en pacientes que eran CMV sero negativo y al recibir un órgano, era de donante sero positivo para CMV (D+/R-) (6-15). Otros factores de riesgo para desarrollar CMV son: rechazo del injerto, administración de terapia antilinfocítica, altas dosis de corticoides y el uso de micofenolato (11-18). Desde que se realiza la terapia profiláctica o preventiva para CMV la incidencia de la enfermedad por CMV ha disminuido (4-26).

En pacientes que reciben trasplante de células hematopoyéticas, a pesar de las medidas antes expuestas, la enfermedad por CMV es una de las mayores complicaciones

infecciosas (19-24). En terapia con trasplante de órganos y tejidos, el estatus serológico para CMV del donante y del receptor son importantes para el desarrollo de enfermedad, además de otros factores: depleción de células T, presencia de rechazo agudo o crónico y el grado de compatibilidad del donante y receptor, entre otros. (19-26).

Es importante realizar distinción entre infección por CMV y enfermedad por CMV. La detección del virus por cultivo, técnicas de biología molecular o cambios en la serología, definen la presencia de infección por CMV y no existe síntomas clínicos. La enfermedad por CMV requiere signos y síntomas clínicos como fiebre, leucopenia, comprometimiento de órganos, incluidos hepatitis, neumonitis, pancreatitis, colitis, nefritis, meningoencefalitis y rara vez miocarditis (23-26). La coriorretinitis por CMV es más frecuente en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (20-26).

En la infección activa por CMV se puede realizar profilaxis con ganciclovir o bien con terapia preventiva con seguimiento de la carga viral en sangre, mediante la reacción de polimerasa en cadena (PCR) en tiempo real (27). La determinación de la carga viral se puede hacer en plasma, sangre completa o leucocitos y permite la detección temprana de la infección activa, el control a los antivirales, el riesgo de viremia por recaída, aparición de cepas resistentes y el avance de la enfermedad. De la misma forma la RPC en tiempo real permite obtener mayor rango dinámico, precisión, exactitud, reproducibilidad y menor tiempo de respuesta (28).

El objetivo es determinar la prevalencia de la infección por CMV por medio de RPC en tiempo real en muestras de plasma de niños inmunodeprimidos que han recibido trasplante de médula ósea.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo, descriptivo y transversal en muestras de plasma correspondientes a pacientes trasplantados en el Hospital de la Sociedad de Lucha contra el Cáncer [SOLCA] en Guayaquil, Ecuador, entre 2009 y 2012. Durante este periodo 38 niños fueron

sometidos a trasplante de médula ósea que conformaron la población de estudio y cumplieron los siguientes criterios de inclusión: edad entre 0 a 12 años, recibieron trasplante de médula ósea y tratamiento profiláctico. Se analizaron variables demográficas (edad, sexo, procedencia) y clínicas (antecedentes personales y patologías previas por las que se sometieron al trasplante).

Extracción de ADN: se utilizaron 200 ul de plasma almacenada en tubos con EDTA. Para la extracción del material genético se utilizó el kit High Pure PCR template Prepare version 10 (Cat. Nº 11 796 828 001®), se realizó siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante.

RPC en tiempo real: para la detección del ADN viral se usó el Kit Quantification of Human Herpes Virus 5 (Cytomegalovirus) de la casa comercial The Primer Design™ genesig. Este kit detecta el virus amplificando un segmento del gen de la glicoproteína B (gB). El análisis se efectuó usando el equipo Eppendorf Realplex PCR Real Time. Para validar el resultado se verificó la presencia de un control interno (para determinar la carga viral, controlar la eficiencia de aislamiento de ADN y comprobar si hay inhibición de la PCR), la amplificación del control positivo y la ausencia de señal en el control negativo. Se calculó la carga viral efectuando una curva de calibración, utilizando controles de 200.000 ($5.30 \log_{10}$), 20.000 ($4.30 \log_{10}$), 2.000 ($3.30 \log_{10}$), 200 ($2.3 \log_{10}$), 20 ($1.30 \log_{10}$) y 2 ($0.30 \log_{10}$) copias virales/ul de plasma. Según las instrucciones del fabricante, en condiciones óptimas de la PCR con el kit Primer Design CMV tienen muy alta eficiencia > 95% y puede detectar menos de 100 copias/ul del virus.

El estudio fue aprobado por el departamento de docencia e investigación de SOLCA.

Los resultados fueron analizados en el software SSPS versión 21. Se utilizaron tablas de contingencias y análisis de tres variables.

RESULTADOS

En este estudio se analizaron 38 muestras de plasma correspondientes a 38 pacientes

sometidos a trasplante de médula ósea. La edad promedio fue 7.2 años, siendo 57.9% (n=22) hombres y 42.1% (n=16) mujeres. Relación masculino/femenino 1.4. En la Tabla N° 1 se detalla las características de los pacientes.

TABLA N° 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES	
Parámetro	Valor
Promedio de edad, años (rango)	7.2 (0 - 12)
Relación de masculino / femenino	22/16
Procedencia	Nº(%) pacientes
Guayas 24	63.16
Manabí 5	13.16
Los Ríos 5	13.16
Esmeraldas 3	7.89
El Oro 1	2.63
Antecedentes personales	Nº (%) pacientes
Abscesos 2	5.3
Alergia 2	5.3
Biopsia de ganglios 1	2.6
Edema periorbitario 1	2.6
Gastritis 1	2.6
Hiperactividad bronquial 1	2.6
Infecciones respiratorias 9	23.7
Intolerancia a la lactosa 1	2.6
Meningitis 1	2.6
Reflujo gastroesofágico 1	2.6
Rubeola 1	2.6
Vacunación incompleta 1	2.6
No refiere 16	42.1
Diagnóstico, Nº (%) pacientes	Nº (%) pacientes
Leucemia linfoblástica aguda 22	57.89
Leucemia mieloide aguda 4	10.53
Síndrome mielodisplásico 1	2.63
Linfoma hodking 2	5.26
Linfoma no hodking 4	10.53
Linfoma leucemizado a LLA 1	2.63
Adenopatías 1	2.63
Otros 3	7.89

En la Tabla N°2 se presentan los pacientes agrupados de acuerdo al sexo y patologías.

Se compara el porcentaje de hombres y mujeres con una patología asociada previa al trasplante de médula ósea, siendo la leucemia linfoblástica aguda [LLA] con mayor porcentaje, 50.0% y 68.5%, en hombres y mujeres respectivamente.

De las muestras analizadas para determinar la carga viral, cinco (13.1%) pacientes presentaron resultados positivos por la técnica de PCR en tiempo real. Y las provincias que obtuvieron el mayor número de casos con resultados positivos fueron Los Ríos, Guayas y Esmeraldas.

En la Tabla N°3 se presenta la distribución de los resultados positivos de acuerdo al género. Como se puede observar el mayor porcentaje de casos positivos se presentó en el género femenino.

Se realizó análisis de las patologías previas según el tipo de resultado de CMV que se muestra en la Tabla N°4. En la misma se indica que el 80.0% de los que dieron resultado positivo presentaron LLA mientras que el otro 20.00% presentó linfoma leucemizado a LLA. Los resultados negativos presentaron una distribución de porcentajes variado para todas las patologías previas.

Los pacientes que tuvieron antecedentes personales de infecciones respiratorias y trasplantados por un linfoma leucemizado a LLA presentaron resultados positivos.

En la Figura N°1 se muestra la relación del número de pacientes con resultados positivos obtenidos por PCR en tiempo real con la carga viral, se observó que el número de copias de ADN CMV tienen rangos específicos que van desde 1-100 y >300 (DNA CMV copias/ml).

DISCUSIÓN

La infección por CMV aún es un grave problema en pacientes que reciben trasplante de células hematopoyéticas (19-26). Todas las medidas y esfuerzos van dirigidos a la detección, diagnóstico y tratamiento precoz de la enfermedad por CMV (20-25). La infección por CMV es una complicación frecuente en niños que incrementa el riesgo de morbimortalidad.

TABLA N° 2. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL SEGÚN SEXO Y PATOLOGÍAS								
Sexo	Patología							Total
	Adenopatías	Leucemia Linfoblástica Aguda	Leucemia Mieloide Aguda	Linfoma Leucemizado a LLA	Linfoma no Hodgkin	Síndrome Mielodisplásico	No refiere	
Varón	4.5	50.0	13.7	0.0	22.8	0.0	9.0	100.0
Mujer	0.0	68.5	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	100.0

TABLA N° 3. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO SEGÚN LOS RESULTADOS			
Género	Resultado		Total %
	Positivo%	Negativo %	
Masculino	20.0	63.6	57.9
Femenino	80.0	36.4	42.1
Total	100.0	100.0	100.0

TABLA N° 4. COMPARACIÓN DE PACIENTES TRASPLANTADOS SEGÚN LA PATOLOGÍA PREVIA AL ANÁLISIS DE CMV			
Patología	Resultado		Total %
	Positivo %	Negativo %	
Adenopatías	0.0	3.0	2.6
Leucemia linfoblástica aguda	80.0	54.5	57.8
Leucemia mieloide aguda	0.0	12.1	10.5
Linfoma leucemizado a LLA	20.0	0.0	2.6
Linfoma no hodgkin	0.0	18.1	15.7
No refiere	0.0	9.0	7.8
Síndrome mielodisplásico	0.0	3.0	2.6
	100.0	100.0	100.0

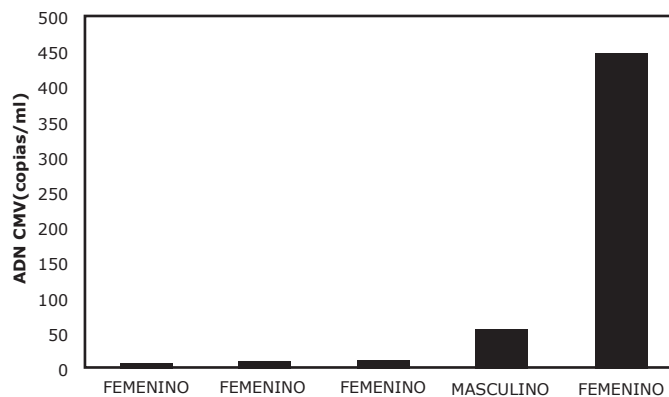


Figura N°. 1 Comparación entre los casos con resultados positivos y el número de copias de ADN CMV obtenidos por PCR en tiempo real.

Los pacientes que han sido trasplantados a causa de LLA, tanto varones como mujeres, alcanzaron los mayores porcentajes entre 50 y 68%. El trasplante de médula ósea en pacientes con LLA es una buena alternativa de supervivencia de cinco años libre de enfermedad, con recaídas entre 40 y 60% (29).

De las 38 muestras analizadas, los casos con resultados positivos se determinaron en cinco pacientes, predominando el género femenino sobre el masculino. En México, han comunicado resultados similares al presente reporte. No se conocen del todo las razones del predominio en el sexo femenino, sin embargo, señalan que las variaciones en los niveles de estrógenos pueden causar mayor riesgo de contagio, al tener efecto sobre el sistema inmunitario (3).

Los pacientes trasplantados a causa de LLA y linfoma leucemizado a LLA, tuvieron porcentajes elevados en los casos con resultados positivos por infección activa de CMV a través de la PCR en tiempo real. En todas las formas de aloinjertos son más frecuentes las infecciones por CMV (30). La infección por CMV permanece latente durante toda la vida del individuo, es decir que una vez pasada la primoinfección, en cualquier momento se puede reactivar, estas infecciones reactivadas se relacionan con la enfermedad con mucho más frecuencia en inmunocomprometidos que en inmunocompetentes (1). En la infección por CMV la memoria inmunológica va a estar activa por mucho tiempo, para verificar una reactivación viral se necesita detectar la carga viral circulando en la sangre, por esto es importante utilizar técnicas moleculares que permitan detectar la presencia del genoma viral y determinar el número de copias.

Los casos con resultados positivos determinados por la PCR en tiempo real tienen rangos específicos que van desde 1-100 y >300 (DNA CMV copias/ml). La PCR en tiempo real como método de diagnóstico para el CMV determina resultados seguros antes que se manifiesten los síntomas de CMV en los niños que han recibido un trasplante de médula ósea, y garantiza una evolución satisfactoria pos-trasplante, con la aplicación de un tratamiento antiviral que reduzca los índices de rechazo morbilidad y mortalidad.

Los pacientes que tuvieron antecedentes personales de infecciones respiratorias y trasplantados por un linfoma leucemizado a LLA presentaron resultados positivos. No se encuentra información relevante sobre esta asociación, por eso es importante realizar una futura investigación.

CONCLUSIÓN

La prevalencia de prueba positiva para infección de citomegalovirus fue mayor en muestras pertenecientes a pacientes de género femenino que habían recibido trasplante de médula ósea. En toda la población estudiada, la prevalencia de CMV fue del 13%.

CONFLICTOS DE INTERESES: ninguno que declarar.

AGRADECIMIENTO: a las estudiantes de cuarto año de medicina, Universidad Espíritu Santo: Adriana Luzuriaga, Indira Flores, Nathalie Fuentes, Mariana García y a SOLCA Guayaquil.

FINANCIACIÓN: este trabajo ha sido financiado por la Universidad Espíritu Santo Ecuador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jawezt E, Melnick A, Adelberg E. Microbiología médica, 25th ed. México: Mc Graw Hill, 2011. 449 págs.
2. Villasis A, Mosqueda JL. Infecciones en trasplante de médula ósea. *RevInvestClin*. 2005; 57(2):381-6.
3. Gutiérrez J, Cruz L. Estudio de la seroprevalencia de la infección por citomegalovirus a través de la concentración sérica de IgG en un hospital de tercer nivel. *RevMexPatolClin*. 2008;55(4):175-86.
4. Bhadauria D, Sharma RK, Kaul A, Prasad N, Gupta A, Gupta A, et al. Cytomegalovirus disease in renal transplant recipients: a single-center experience. *Indian J Microbiol*. 2012 Sep;52(3):510-5.
5. Sagedal S, Hartmann A, Nordal, K, Osnes K, Leivestad T, Foss A, et al. Impact Of Early Cytomegalovirus Infection And Disease On Long - Term Recipient And Kidney Graft Survival. *Kidney Int*. 2004;66:329-37.

6. Briganti E, Russ G, Graeme R, McNeil J, Atkins R, et al. Risk of renal allograft loss from recurrent glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 2002;347(2):103-9.
7. Onuigbo M, Haririan A, Ramos E, Klassen D, Wali R, Drachenberg C. Cytomegalovirus-Induced glomerular vasculopathy in renal allograft: A report of two cases. *AJT*. 2002;2:684-6.
8. Tomlinson L, Boriskin Y, McPhee I, et al. Acute cytomegalovirus infection complicated by collapsing glomerulopathy. *NDT*. 2003;18:187-9.
9. Fishman J, Rubin R. Medical progress: infection in organ-transplant recipients. *NEJM*. 1998;338(24):1741-51.
10. Murray BM, Brentjens J, Amsterdam D, Holwill S, Rice P. Monitoring and diagnosis of cytomegalovirus infection in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8(9):1448-57.
11. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 1998;338(24):1741-51.
12. Pouteil-Noble C, Ecochard R, Landrison G, Donia-Maged, A, Tardy JC, Bosshard S, et al. Cytomegalovirus infection-an etiological factor for rejection? A prospective study in 242 renal transplant patients. *Transplantation*. 1993;55(4):851-7.
13. Schroeder R, Michelon T, Yo F, Bortolotto A, ämmerhirt E, Oliveira J, et al. Cytomegalovirus disease latent and active infection rates during the first trimester after kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2004;36(4):896-8.
14. Murray BM, Subramaniam S. Late cytomegalovirus infection after oral ganciclovir prophylaxis in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2004;6(1):3-9.
15. Lebranchu Y, Bridoux F, Büchler M, Meur Y, Etienne I, Toupance O, et al. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. *Am J Trans*. 2002;2:48-56.
16. Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V, Thervet E, Durand D. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal-transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation*. 2004;78(4):584-90.
17. Nemati E, Eizadi M, Moghani Lankarani M, Kardavani B, Khoddami HR. Cytomegalovirus disease after kidney transplantation: clues to accurate diagnosis. *Transplant Proc*. 2007;39:987-89.
18. Nakamura R, Battiwalla M, Solomon S, Follmann D, Chakrabarti S, Cortez K, et al. Persisting posttransplantation cytomegalovirus antigenemia correlates with poor lymphocyte proliferation to cytomegalovirus antigen and predicts for increased late relapse and treatment failure. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10:49-57.
19. Nichols W, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis*. 2002;185:273-82.
20. Boeckh M, Nichols WG, Papanicolaou G, Rubin R, Wingard JR, Zaia J. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: current status, known challenges, and future strategies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003;9:543-558.
21. Tey SK, Kennedy GA, Cromer D, et al. Clinical assessment of anti-viral CD8+ T cell immune monitoring using QuantiFERON-CMV® assay to identify high risk allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients with CMV infection complications. *PLoS One*. 2013 Oct 11;8(10):e74744..
22. Xiao HW, Luo Y, Lai XY, Shi M, Tan M. Donor TLR9 gene tagSNPs influence susceptibility to aGVHD and CMV reactivation in the allo-HSCT setting without polymorphisms in the TLR4 and NOD2 genes. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49:241-247.
23. Rasheed W, Ghavamzadeh A, Hamladji R, Ben T, Alseraihy A, Abdel F, et al Hematopoietic stem cell transplantation practice variation among centers in the Eastern Mediterranean Region (EMRO): Eastern Mediterranean Bone Marrow Transplantation (EMBMT) group survey. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2013;6(1):14-9. doi: 10.1016/j.hemonc.2013.04.001. Epub 2013 Apr 6.
24. Barkam C, Kamal H, Dammann E, Diedrich H, Buchholz S, Eder M, et al. Improving safety of preemptive therapy with oral valganciclovir for cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Res*. 2012;2012:874601. Epub 2012 Dec 3.
25. Pergam SA, Xie H, Sandhu R, Pollack M, Smith J, Ilieva, et al. Efficiency and risk factors for CMV transmission in seronegative hematopoietic stem cell recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Sep;18(9):1391-400.
26. Yi ES, Kim YJ. Cytomegalovirus infection according to cell source after hematopoietic cell transplantation in pediatric patients. *Yonsei Med J*. 2012 Mar; 53(2):393-400.
27. Farfán M, Torres J, Vergara A, Donoso G, Alba A, París C, et al. Comparación de las técnicas de reacción de polimerasa en cadena en tiempo real y antigenemia para la detección de citomegalovirus en sangre de niños sometidos a trasplantes. *Rev Chil Infect*. 2011; 28 (2): 113-17.
28. Gimeno C, Solano C, Latorre JC, Hernández JC, Clari MA, Remigia MJ, et al. Quantification of DNA in plasma by an automated real-time PCR assay (Cytomegalovirus PCR Kit) for surveillance of active cytomegalovirus infection and guidance of preemptive therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(10): 3311-18.
29. Pacheco M, Madero L. *Oncología pediátrica*. Psioncología. 2003; 0(1):107-116.
30. Díaz A, de la Caridad M, Resik S. Infecciones por citomegalovirus. *RevCubana MedGenIntegr*. 1998;14(3):270-8.