

## Valeur pronostique de l'antigénémie pp65 et de la PCR semi-quantitative dans la détection de la réactivation du CMV chez les greffés de moelle osseuse.

H. Ksouri (1), A. Lakhal (2), R. Ben Amor (2), L. Torjman (2), W. Achour (1), T. Ben Othmen (2), S. Ladeb (2), A. Abdelkefi (2), A. Slim (3), A. Abdeladhim (2) & A. Ben Hassen (1)

(1) Service des laboratoires du Centre national de greffe de moelle osseuse, Tunis, Tunisie. E-mail : ksourih\_2000@yahoo.fr

(2) Unité de greffe du Centre national de greffe de moelle osseuse, Tunis, Tunisie.

(3) Service de microbiologie du CHU Charles-Nicolle, Tunis, Tunisie.

Manuscrit n° 2742. "Virologie". Reçu le 8 novembre 2004. Accepté le 2 août 2005.

**Summary:** Prognosis value of the pp65 antigenemia and semi-quantitative PCR in the detection of the CMV reactivation in bone marrow grafted patients.

In this article a Cytomegalovirus (CMV) antigenemia and semiquantitative PCR retrospective evaluation of 26 bone marrow allo-grafted patients for different haematological disease is reported. Eighteen patients had a CMV reactivation despite a prophylactic treatment, seven of those patients had both positive antigenemia pp65 and positive semi-quantitative CMV PCR. During CMV reactivation, 3 patients developed a CMV disease despite a pre-emptive therapy.

The follow up of the antigenemia was performed since  $D_{21}$  until  $D_{100}$  post transplantation, the antigenemia positivity occurred at  $D_{53}$  and was preceded about 7 days by CMV PCR positivity. The CMV disease wasn't associated with a high viral load.

All patients that had CMV reactivation had a positive CMV serology before the graft, whereas only 37,5% of the patients who did not reactivate had a positive CMV serology. Respectively half patients who reactivated and only 12,5% of those who didn't had a Graft versus host disease (GVHD), which preceded the reactivation about 21 days in six of the formers. Clinical and biological signs presented by our patients in this cases report, seems to be associated more with the GVHD than with CMV reactivation.

### Résumé:

Une évaluation rétrospective de l'antigénémie Cytomegalovirus (CMV) et de la PCR CMV semi-quantitative chez 26 allo-greffés de moelle osseuse pour différentes hémopathies est rapportée dans ce travail.

Malgré un traitement antiviral prophylactique, 18 patients ont eu une réactivation du CMV, dont 7 ont eu à la fois une antigénémie et une PCR CMV semi-quantitative positives. Au cours de la réactivation CMV, 3 patients ont développé une maladie due au CMV, malgré un traitement préemptif.

L'antigénémie s'est positivisée à  $J_{53}$  post greffe en médiane. La positivité de la PCR a précédé celle de l'antigénémie de 7 jours en médiane. La maladie due au CMV n'a pas été associée à une charge virale élevée.

L'ensemble des patients qui ont eu une réactivation du CMV avaient une sérologie CMV positive en pré-greffe et 50 % d'entre eux ont développé une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) avant cette réactivation. Alors que la sérologie du CMV n'était positive que chez 37% des patients qui n'ont pas réactivé, et dont seulement 12,5 % a eu une GVHD. Cette GVHD a précédé la réactivation en médiane de 21 jours chez 6 patients.

Les manifestations clinico-biologiques qu'ont eu nos patients à cette occasion semblent être plutôt liées avec la GVHD, qu'ils ne le sont avec la réactivation CMV.

## Introduction

Le Cytomegalovirus (CMV) est un agent opportuniste responsable de complications sévères chez les sujets immunodéprimés (13). C'est l'agent pathogène viral le plus fréquemment responsable de morbidité et de mortalité chez les personnes greffées de moelle osseuse (11, 12).

Le diagnostic de réactivation du CMV repose sur différentes techniques qui permettent de mettre en évidence une répllication active du virus (13) : isolement viral, détection des

antigènes viraux, détection de l'ADN viral par PCR ou par hybridation *in situ*.

L'antigénémie pp65, qui détecte l'antigène pp65 du tégument, permet de quantifier les leucocytes du sang périphérique marqués par le CMV. Cette technique a prouvé son efficacité dans la détection et le suivi de la réactivation du CMV chez les patients immunodéprimés (1, 10, 18).

Le traitement prophylactique repose sur l'aciclovir et le valaciclovir (en fonction de l'atteinte rénale). Le traitement préemptif à base de ganciclovir ou de foscarnet (en fonction

**bone marrow transplantation  
Cytomegalovirus reactivation  
Graft versus host disease (GVHD)  
pp65 antigenemia  
semi-quantitative PCR  
hospital  
Tunis  
Tunisia  
Maghreb  
Northern Africa**

**greffe de moelle osseuse  
réactivation du Cytomegalovirus  
maladie du greffon contre l'hôte  
(GVHD)  
antigénémie pp65  
PCR semi-quantitative  
hôpital  
Tunis  
Tunisie  
Maghreb  
Afrique du Nord**

de l'atteinte rénale) est administré dès le diagnostic de la réactivation du CMV (4, 15).

Dans cet article nous nous proposons de déterminer la valeur pronostique de l'antigénémie pp65 et de la PCR semi-quantitative du CMV dans la prise en charge de l'infection par le CMV chez des patients allogreffés de moelle osseuse pour différentes hémopathies malignes.

## Patients et méthodes

### Les patients

Notre travail a porté sur 26 patients (8 femmes et 18 hommes) hospitalisés au Centre national de greffe de moelle osseuse pour diverses hémopathies malignes (tableau I); leur médiane d'âge est de 21 ans (5-40 ans) et ils ont tous bénéficié d'allogreffes géno-identiques.

Tableau I.

Répartition des patients selon les pathologies.  
Distribution of patients according to pathologies.

pathologie	A.M	L.A.M	L.M.C	Fanconi	LA.L
nombre de patients	9	6	6	3	2

AM: aplasie médullaire; LAM: leucémie aiguë myéloblastique;  
LMC: leucémie myéloïde chronique; LAL: leucémie aiguë lymphoblastique

La sérologie CMV était positive chez 21 patients avant greffe : seulement 3 de leurs donneurs avaient une sérologie CMV négative, alors que les 5 patients qui avaient une sérologie CMV négative avant greffe ont tous eu des donneurs CMV positifs.

L'ensemble de nos patients a bénéficié d'un conditionnement selon les pathologies qu'ils présentaient et ont eu en post-greffe un traitement immunosuppresseur à base de ciclosporine et de corticoïdes en cas de maladie du greffon contre l'hôte (GVHD).

La stratégie thérapeutiques anti-CMV dans notre centre comporte deux volets :

- un traitement prophylactique qui consiste en l'administration d'un anti-viral non spécifique, du CMV (acyclovir en intra-veineux à la dose de 500 mg/m<sup>2</sup> x 3 par jour) de J<sub>-5</sub> à J<sub>21</sub> post-greffe, relayé par un traitement par voie orale à la dose de 800 mg/m<sup>2</sup> x 3 par jour, jusqu'à J<sub>100</sub> post-greffe;
- un traitement préemptif utilisant un anti-viral spécifique du CMV (ganciclovir ou foscarnet) dès l'apparition d'une réactivation du virus, confirmée par une antigénémie CMV et/ou une PCR CMV positives et avant la déclaration d'une maladie à CMV effective.

Si l'hémogramme est normal : ganciclovir en intra-veineux à la dose de 5 mg/m<sup>2</sup> x 2 par jour, dès le diagnostic de réactivation et jusqu'à J<sub>14</sub>, en traitement d'attaque. Un traitement identique d'entretien est poursuivi, jusqu'à disparition de la réactivation. En cas de GVHD et de traitement par les corticoïdes, le traitement préemptif est maintenu jusqu'à J<sub>100</sub> post-greffe.

Si les polynucléaires neutrophiles (PNN) < 1 000/mm<sup>3</sup>: le foscavir en intra-veineux à la dose de 90 mg/kg x 2 par jour est utilisé à la place du ganciclovir tout en respectant les mêmes modalités.

### Les méthodes

La recherche de l'antigénémie CMV par la technique d'immunofluorescence indirecte, et la recherche du génome du CMV par PCR CMV semi-quantitative ont été réalisées hebdomadairement à partir de J<sub>21</sub> post-greffe et se sont poursuivies jusqu'à J<sub>100</sub> post-greffe. La technique de capture d'hybride a

été réalisée, quant à elle, pour les patients qui présentaient une réactivation du CMV associée à des signes cliniques d'appel, tels que, pour une pneumonie due au CMV : un syndrome respiratoire avec dyspnée, tachypnée, hypoxie et des infiltrats pulmonaires dans la radio du thorax; pour une maladie digestive due au CMV : des diarrhées, des nausées et des épigastralgies.

Chaque patient bénéficie d'une numération formule sanguine quotidienne. Un bilan biologique complet (rénal, hépatique, recherche de la protéine C réactive) est pratiqué chez tous les patients trois jours par semaine. En cas de signes d'appel, selon leur nature, une radiographie du thorax, une gazométrie du sang, un lavage broncho-alvéolaire ou une biopsie gastrique sont réalisés.

### Antigénémie du CMV (18)

La recherche de l'antigénémie pp65 a été réalisée dans notre laboratoire pour tous les patients, dans les deux heures qui ont suivi le prélèvement (sang total sur anticoagulant / : héparinate de sodium ou EDTA) comme recommandé par le fabricant (Cinakit Argène). Cette recherche s'est poursuivie de façon hebdomadaire pour chaque patient de J<sub>21</sub> jusqu'à J<sub>100</sub> post-greffe. Cette technique détecte la présence de la phosphoprotéine virale pp65 dans le noyau des polynucléaires périphériques grâce à une technique d'immunofluorescence indirecte, où le premier anticorps correspond à un anticorps monoclonal spécifique de cette phosphoprotéine. Après isolement, les leucocytes sont ajustés de manière à avoir 2.10<sup>5</sup> cellules/spot après cytopspin. Le résultat est exprimé en nombre de polynucléaires contenant l'antigène pour 2.10<sup>5</sup> cellules. Le seuil de positivité à partir duquel une réactivation du CMV est suspectée est de 1 cellule positive/2.10<sup>5</sup> cellules.

En cas de neutropénie, les prélèvements sont adressés systématiquement pour PCR au laboratoire Merieux de Lyon.

### PCR semi-quantitative (cette analyse a été réalisée au laboratoire Mérieux de Lyon) (7, 8)

Pour chaque patient, 5 ml de sang sont prélevés sur héparinate de sodium. La PCR semi-quantitative est réalisée sur les leucocytes séparés par une méthode utilisant le dextran. Cette technique est basée sur la détermination de la concentration du génome viral dans l'échantillon analysé. Deux amorces de 25 pb chacune délimitant une région conservée de 406 pb du génome du CMV codant la polymérase, ont été synthétisées. Après PCR, des aliquotes de 10 µl de chaque produit d'amplification sont soumis à une électrophorèse en gel d'agarose, transférés sur une membrane de nylon par la technique de southern-blot et hybridés en utilisant une sonde interne. Comme contrôle interne et pour une analyse semi-quantitative du produit PCR, six standards références sont inclus. Ces standards sont préparés en ajoutant des quantités connues d'ADN AD 169 CMV purifiées (équivalents de 0,8 à 80 000 copies du génome du CMV) dans de l'ADN de 10<sup>4</sup> cellules MRC-5. L'évaluation semi-quantitative a été faite grâce à l'analyse des southern-blot par un système de mesure densitométrique (Biocom 200, Biocom, Les Ulis, France). On attribue à la bande spécifique correspondant à chaque échantillon PCR positif un score de 1 à 4 sur la base de l'intensité des bandes, par rapport à 4 points sur la courbe standard des dilutions correspondants à : 80, 800, 8000, 80000 copies du génome du CMV.

### Technique de capture d'hybrides (2)

Cette technique a été réalisée sur des échantillons de lavage broncho-alvéolaire ou des biopsies tissulaires, chez les patients présentant des manifestations clinico-biologiques faisant

suspecter une maladie due au CMV. Il s'agit d'une technique d'hybridation des acides nucléiques avec amplification du signal, utilisant une détection par chimioluminescence (Kit Digene Hybrid Capture® System) modifiée pour application à des biopsies tissulaires. Les échantillons qui contiennent l'ADN viral cible correspondant à une région de 40 000 pb du génome du CMV hybride avec un mélange de sondes ARN spécifiques complémentaires de cette région. Les hybrides ARN/ADN sont capturés à la surface des cupules d'une plaque ELISA par des anticorps spécifiques de ces hybrides. Dans une seconde étape, les hybrides ainsi immobilisés sont révélés par des anticorps spécifiques marqués à la phosphatase alcaline qui génère, après addition de substrat, un produit chimioluminescent. Plusieurs molécules de phosphatase alcaline sont conjuguées à chaque anticorps : la fixation simultanée de plusieurs anticorps sur chacun des hybrides capturés entraîne une amplification importante du signal. Une gamme étalon permet de quantifier l'ADN du CMV présent dans l'échantillon. Le résultat est exprimé en nombre de copies de génome viral par ml d'échantillon.

La détection du génome du CMV à des taux > 2 000 copies/ml dans les lavages broncho-alvéolaires ou les biopsies gastriques a permis de diagnostiquer les cas de maladie due au CMV chez nos patients.

## Résultats

Parmi les 26 patients, 18, soit 69 %, ont présenté une réactivation du CMV; parmi ceux-ci, 7 patients avaient à la fois une antigénémie et une PCR du CMV semi-quantitative positives et 11 patients uniquement une PCR du CMV positive. La moyenne d'âge des patients ayant eu une réactivation était de 23 ans (5 à 40), pour les autres elle était de 10 ans (5 à 26). La PCR du CMV s'est positivée en médiane 7 jours avant l'antigénémie du CMV.

Parmi les patients qui n'ont pas eu une réactivation du CMV, on compte, respectivement 5 cas d'aplasie médullaire, 2 cas de maladie de Fanconi et 1 cas de LMC.

La durée moyenne de positivité de l'antigénémie a été de 21 jours (4 à 80), celle de la PCR de 46 jours (14 à 89) (tableau II).

L'ensemble des 18 patients qui ont réactivé leur CMV avait une sérologie du CMV positive avant greffe (100 %), contre

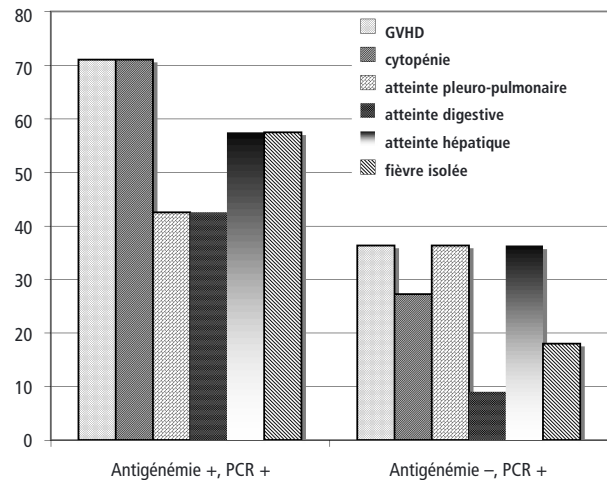
Tableau IV.

Corrélation entre charge virale, réactivation et maladie due au CMV.  
Correlation between viral load, reactivation and CMV disease.

	maladie due au CMV	réactivation
pic antigénémie	12 cellules	413 cellules
pic PCR	2+	4+
GVHD	3/3	6/15

Figure 1.

Association antigénémie et signes clinico-biologiques.  
Antigenemia associated with clinico-biological signs.



seulement 3 parmi les 8 patients qui n'ont pas réactivé, soit 37,5 % (tableau III).

Trois patients ont présenté une maladie due au CMV, 2 digestives et 1 pulmonaire diagnostiquées par la technique de capture d'hybrides modifiée. Ce diagnostic a été porté sur un nombre de copies du génome du CMV > 2 000 copies/ml sur lavement bronchito-alvéolaire ou sur biopsie gastrique.

Sur les dix patients qui ont fait une GVHD (*Graft versus host disease*) ou maladie du greffon contre l'hôte) 9 avaient réactivé leur CMV (tableau III).

Le pic de cellules dont l'antigénémie du CMV était positive, ainsi que le pic de la PCR du CMV positive, ont été observés chez 3 patients qui n'ont pas présenté de maladie due au CMV, mais qui avaient présenté une GVHD (tableau IV).

Les manifestations clinico-biologiques (atteinte pleuro-pulmonaire, digestive, hépatique, cytopénie et fièvre isolée) ont prédominé chez les patients qui ont eu à la fois une antigénémie du CMV positive et une PCR du CMV positive par rapport à ceux ayant eu uniquement une PCR positive (figure 1).

Ces manifestations étaient plutôt associées à la GVHD qu'avec la réactivation (figure 2).

Parmi l'ensemble des patients, l'évolution a été défavorable pour 7 d'entre eux, ayant tous eu une réactivation du CMV, dont 1 qui a présenté une pneumopathie interstitielle due au CMV (tableau III).

## Discussion

La réactivation du CMV a été observée chez 69 % de nos patients, alors que ce pourcentage est en général de 50 % chez les greffés de moelle osseuse (4). L'antigénémie du CMV s'est positivée chez 27 %, ce qui est inférieur à la valeur retrouvée dans l'étude d'OSAROGIAGBON *et al.* (14). Cette positivité s'est produite en médiane à J<sub>53</sub> (39-102) post-greffe, ce qui justifie la recherche de l'antigénémie

Tableau II.

Délais (jours) d'apparition et durées de positivité de l'antigénémie pp65 et de la PCR du CMV.  
Delays of appearance (days) and durations of the antigenemia pp65 positivity and CMV PCR

antigénémie + / greffe	durée antigénémie +	durée PCR+	PCR+ / antigénémie +
53 (39-102)	21 (3-80)	46 (14-89)	7 (0-40)

Tableau III.

Caractéristiques des patients.  
Patients' characteristics.

	antigénémie + PCR +	antigénémie - PCR +	antigénémie - PCR -
nombre de patients	7	11	8
maladie due au CMV	2	1	0
GVHD (1)	5	4	1
décédés (2)	4	3	0
sérologie CMV R/D (3)			
+/+	7	11	2
-/+	0	0	3
-/-	0	0	2
+/-	0	0	1

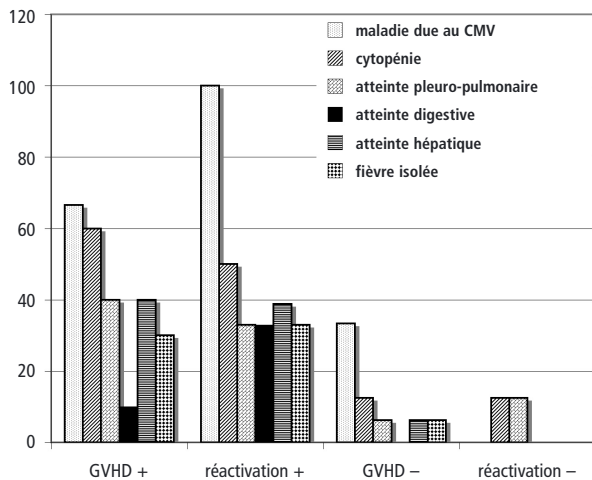
(1) Chez 6 patients la GVHD a précédé la réactivation de 21 j en médiane.

(2) 4 pneumopathies : 3 dues au CMV « 1 diagnostiquée, 2 probables » et 1 due au *Pneumocystis carinii*; 1 maladie digestive due au CMV probable; 2 cystites dues au BK virus.

(3) Sérologie du CMV receveur/donneur avant greffe.

Figure 2.

Fréquence des corrélations entre GVHD, réactivation du CMV et signes clinico-biologiques.  
Frequency of correlations between GVHD, CMV reactivation and clinico-biological signs.



pendant les trois premiers mois qui suivent la greffe. Sur l'ensemble des 18 patients qui avaient réactivé leur CMV, trois, soit 17 %, ont développé une maladie due au CMV, ce qui représente un pourcentage plus élevé que celui retrouvé dans l'étude d'OSAROGIAGBON *et al.* (14). Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que l'ensemble de nos patients qui ont réactivé leur CMV avaient une sérologie CMV positive avant greffe et qu'ils avaient tous bénéficié d'allogreffes. Ces deux éléments représentent en effet des facteurs de risques pour la réactivation du CMV (5, 15). Ainsi, seulement 37,5 % des patients avaient une sérologie CMV positive parmi ceux qui n'ont pas réactivé.

La durée de positivité de l'antigénémie de 21 jours est en rapport avec la régression de la charge virale, et constitue un bon marqueur de l'action du traitement préemptif (13). Le délai entre la positivité de la PCR et de l'antigénémie a été dans notre travail de 7 jours en médiane. Ce délai était de 4 jours dans d'autres études (9, 14).

La moitié des patients qui ont présenté une réactivation du CMV (9/18) ont eu une GVHD, contre seulement 1/8, soit 12,5 %, des patients qui n'ont pas réactivé leur CMV. La GVHD a précédé de 21 jours en médiane la réactivation chez 6 patients. L'apparition de cette GVHD avant la réactivation du CMV et l'instauration d'un traitement corticoïde à cette occasion accentuerait le dysfonctionnement préexistant de l'immunité cellulaire chez ces patients et expliquerait le comportement ultérieur de ce virus. Ainsi, la GVHD représente un facteur favorisant la réactivation, selon certains auteurs (9).

L'absence de la relation entre charge virale et maladie due au CMV notée chez nos patients est rapportée dans la littérature (2, 3), puisque la progression rapide de la charge virale peut se produire, même en moins d'une semaine, surtout en cas de GVHD aiguë (14, 17).

Le choix d'un seuil de positivité de l'antigénémie à partir duquel on peut considérer l'éventualité d'une réactivation et débiter un traitement préemptif est très important à faire. BOECKH *et al.* (3) ont insisté sur la nécessité de choisir le seuil d'antigénémie le plus bas pour débiter un traitement préemptif au long cours (100 jours), puisque le choix d'un seuil élevé s'accompagne d'une grande fréquence de maladie due au CMV (6, 14, 16). La prévalence des manifestations clinico-biologiques en cas de réactivation et chez les patients

(antigénémie+, PCR+) par rapport à ceux (antigénémie-, PCR-) seraient plutôt les stigmates de la GVHD.

## Conclusion

La sérologie CMV du receveur, ainsi que le type de greffe, constituent des facteurs de risque pour la réactivation du CMV. Le rôle de la GVHD en tant que facteur favorisant a été confirmé par différents auteurs. Le développement d'une maladie due au CMV n'est pas toujours tributaire de la charge virale, surtout en cas de GVHD. La PCR semi-quantitative est un outil de choix pour le dépistage précoce d'une réactivation du CMV, puisque l'antigénémie peut rester négative malgré la réalité de la réactivation, en particulier en cas de neutropénie ou d'atteinte digestive par le CMV. La recherche de l'antigénémie du CMV reste toutefois un marqueur fiable et précoce de la réactivation du CMV et permet de juger de l'efficacité du traitement antiviral.

## Références bibliographiques

1. AVERY RK, ADAL KA, LONGWORTH DL & BOLWELL BJ – A survey of allogeneic bone marrow transplant programs in the United States regarding cytomegalovirus prophylaxis and pre-emptive therapy. *BMT*, 2000, **26**, 763-767.
2. BOECKH M & BOIVIN G – Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. *Clin Microbiol Rev*, 1998, **11**, 533-554.
3. BOECKH M, BOWDEN RA, GOOLEY T, MYERSON D & COREY L – Successful modification of a pp65 antigenemia-based early treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease in allogeneic marrow transplant recipients. *Blood*, 1999, **93**, 1781-1785.
4. BOECKH M, GOOLEY TA, MYERSON D, CUNNINGHAM T, SCHOCH G & BOWDEN RA – Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood* 1996, **88**, 4063-4071.
5. BOIVIN G, BELANGER R, DELAGE R, BELIVEAU C, DEMERS C *et al.* – Quantitative analysis of cytomegalovirus (CMV) viremia using the pp65 antigenemia assay and the cobas amplicor CMV monitor PCR test after blood and marrow allogeneic transplantation. *J Clin Microbiol*, 2000, **38**, 4356-4360.
6. BOIVIN G, QUIRK MR, KRINGSTAD BA, GERMAIN M & JORDAN MC – Early effects of ganciclovir therapy on the quantity of cytomegalovirus DNA in leucocytes of immunocompromised patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, **41**, 860-862.
7. DROUET E, COLIMON R, MICHELSON S, FOURCADE N, NIVELEAU *et al.* – Monitoring levels of HCMV DNA in blood after liver transplantation. *J Clin Microbiol*, 1995, **33**, 389-394.
8. DROUET E, MICHELSON S, DENOYEL G & COLIMON R – Polymerase chain reaction detection of HCMV in over 2000 blood specimens correlated with virus isolation and related to urinary virus excretion. *J Virol Methods* 1993, **45**, 259-276.
9. GERNA G, FURIONE M, BALDANTI E, PERCIVALLE E, COMOLI R & LOCATELLI E – Quantitation of human cytomegalovirus DNA in bone marrow transplant recipients. *Br J Haematol*, 1995, **91**, 674-683.
10. GERNA G, REVELLO M, PERCIVALLE E, ZAVATTONI M, PAREA M & BATTAGLIA M – Quantification of human cytomegalovirus viremia by using monoclonal antibodies to different viral proteins. *J Clin Microbiol*, 1990, **28**, 2681-2688.
11. MEYERS JD, FLOURNOY N & THOMAS ED – Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis*, 1986, **153**, 478-488.
12. MEYERS JD, LJUNGMAN P & FISHER LD – Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia. *J Infect Dis*, 1990, **162**, 373-380.
13. MICHEL Y, DESIRE N & GARBARG-CHENON A – Cytomégalo-virus : Aspects clinico-biologiques et intérêt des marqueurs

virologiques quantitatifs. *Feuillets de Biologie*, 1999, XXXX (230), 35-44.

14. OSAROGIAGBON RU, DEFOR TE, WEISDORF MA, ERICE A & WEISDORF DJ – CMV antigenemia following bone marrow transplantation: Risk factors and outcomes. *Blood and Bone Marrow Transplantation*. 2000, 6, 280-288.
15. QAMRUDDIN AO, OPPENHEIM BA, GUIVER M, MUTTON KJ & CHOPRA R – Screening for cytomegalovirus (CMV) infection in allogeneic bone marrow transplantation using a quantitative whole blood polymerase chain reaction (PCR) method: analysis of potential risk factors for CMV infection. *BMT* 2001, 27, 301-306.
16. SALTZMAN RL, QUIRK MR & JORDAN MC – High levels of circulating cytomegalovirus DNA reflects visceral organ disease in viremic immunosuppressed patients other than marrow recipients. *J Clin Investig*, 1992, 90, 1832-1838.
17. SHIMOKAWA T, MORISHIMA Y, KITAORI K, KATO C & SAO H – Early treatment of CMV antigenemia with ganciclovir for prevention of fatal CMV disease in patients receiving marrow from HLA-matched unrelated donors. *Int J Hematol* 1999, 70, 119-126.
18. THE TH, VAN DER PLOEG M, VAN DER BERG AP, VLIEGER AM, VAN DER GIESSEN M & VAN SON WJ – Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leucocytes - a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation*, 1992, 54, 193-198.