



Kidney News: Spazio Giovani - Rassegna

L'infezione da CMV nel trapianto di rene

G. Bedino, P. Esposito

U.O. Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

CMV INFECTION IN KIDNEY TRANSPLANTED PATIENTS

ABSTRACT. Cytomegalovirus (CMV) infection is a common complication following kidney transplantation resulting in significant morbidity, graft loss, and occasional mortality. Patients at high risk of CMV disease are CMV-seronegative recipients (R-) who receive an organ from CMV-seropositive donor (D+) and those receiving an intensive T-cell depleting induction immunosuppression. The diagnosis is based on the detection of viral replication by pp65 antigenemia or CMV DNAemia. Current preventive strategies in kidney transplant recipients include universal prophylaxis for 3-6 months after kidney transplantation or pre-emptive therapy with valganciclovir or intravenous ganciclovir. Established disease should be treated using either intravenous ganciclovir or oral valganciclovir until CMV replication can no longer be detected. Ganciclovir-resistance CMV, which consists of a lack of clinical or virological response to prolonged therapy due to viral gene mutations, is an emerging clinical challenge. In this review, we highlight the most relevant topics on CMV and kidney transplantation based on current evidence and guidelines.

Key Words. Kidney transplantation, CMV infection, CMV DNA, Ganciclovir resistance



Giulia Bedino

Infezione da citomegalovirus

L'infezione da citomegalovirus (CMV) è una delle più comuni complicanze infettive che seguono al trapianto rene e di organi solidi in generale ed è causa di aumentata morbilità e mortalità in questi

pazienti (1, 2). I principali fattori di rischio per lo sviluppo di infezione da CMV sono il mismatch sierologico donatore-ricevente (D+/R-) e l'utilizzo di farmaci con intensa attività di deplezione sui linfociti T (ad esempio, globuline anti timocitarie) per la terapia di induzione o per il trattamento di rigetto acuto (3, 4).

Nel paziente immunodepresso si parla di "infezione da CMV" nel caso di evidenza di replicazione virale in assenza di manifestazioni cliniche, mentre con il termine "malattia da CMV" si identifica l'espressione clinica di un'infezione attiva, ovvero l'identificazione di replicazione virale accompagnata da qualunque segno o sintomo direttamente correlabile con il virus (5). Si definisce "in-

fezione primaria" la replicazione virale in individui CMV-sieronegativi (quindi riceventi IgG negativi di organi da donatori IgG positivi, D+/R-) e "infezione secondaria" l'infezione attiva in individui già CMV-sieropositivi per riattivazione del virus latente o per reinfezione con un differente ceppo di CMV (Tab. I).

La malattia citomegalica può manifestarsi come una *syndrome da CMV* caratterizzata da febbre, malessere generale e neutropenia o con interessamento d'organo va-

TABELLA I - DEFINIZIONE DEI DIVERSI QUADRI DI INFEZIONE DA CMV

Infezione da CMV	Evidenza di replicazione virale nel sangue o altri liquidi biologici anche in assenza di sintomi
Malattia da CMV	Infezione da CMV con segni e sintomi correlabili al virus
Infezione primaria	Infezione da CMV in pazienti sieronegativi
Infezione secondaria	Evidenza di replicazione virale per riattivazione di un virus latente o per reinfezione con virus di diverso ceppo in pazienti sieropositivi

riabile: dalle più comuni manifestazioni gastroenteriche, alla più severa polmonite da CMV, alle più rare retiniti, encefaliti, miocarditi fino a interessamento multiorgano potenzialmente fatale. Oltre a causare la malattia citomegalica, generalmente associata ad alta carica virale, l'infezione da CMV è gravata da numerosi effetti indiretti spesso secondari a prolungati periodi di bassa replicazione virale e dovuti all'attività immunomodulante del virus (6). Tra questi è stato riconosciuto un effetto favorente reciproco con il rigetto acuto, ovvero l'infezione da CMV è un fattore di rischio per lo sviluppo di rigetto acuto e a sua volta il rigetto acuto può determinare un aumento della replicazione virale (7-9). Inoltre il CMV si associa alla disfunzione cronica del trapianto come fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di atrofia tubulare e fibrosi tubulointerstiziale (10). In corso di infezione da CMV aumenta la suscettibilità a infezioni batteriche e altre infezioni opportunistiche (in particolare da funghi) (11); aumenta il rischio di malattia linfoproliferativa (PTLD) EBV-relato (12, 13) e aumenta il rischio di Sarcoma di Kaposi HHV-8 relato (14). Infine, l'infezione da CMV è stata associata a stenosi dell'arteria renale (15), incidenza di diabete mellito (16) e insorgenza o recidiva di microangiopatia trombotica (17).

Diagnosi

Pre-trapianto: sierologia. Lo stato sierologico del donatore e del ricevente è il predittore chiave del rischio di infezione post-trapianto e va dunque eseguita su tutti i pazienti la ricerca di IgG anti CMV pre-trapianto. Se il ricevente è sieronegativo al momento della valutazione per l'immissione in lista di attesa la sierologia va ripetuta al momento del trapianto. In caso di test sierologici dubbi il donatore va considerato positivo e il ricevente negativo in modo da ritenere il paziente ad alto rischio per la gestione terapeutica. La sierologia non ha alcun ruolo per la diagnosi e il monitoraggio di infezione attiva post-trapianto (18).

Post-trapianto: pp 65 antigenemia. Test semiquantitativo di immunofluorescenza indiretta che rivela la fosfoproteina 65 (pp65) nei leucociti infettati dal CMV nel sangue periferico. I risultati vengono espressi come numero di cellule pp65-positive per numero di leucociti valutati. Un alto numero di cellule positive si associa con la malattia da CMV. Questo test ha una buona specificità e un'alta sensibilità, è di facile esecuzione e di basso costo. Tuttavia manca di una precisa standardizzazione, può dipendere dall'esperienza dell'operatore, non può essere eseguito nel caso di bassa conta di neutrofili ($<1000/\text{mm}^3$) e richiede tempi brevi di processazione del campione

(6-8 ore dal prelievo) per evitare una riduzione della sensibilità (19).

Post-trapianto: DNAemia. La PCR identifica il CMV DNA nel sangue intero, leucociti, plasma o siero. I risultati vengono espressi come numero di copie di CMV DNA per millilitro. Numerosi studi hanno dimostrato una buona correlazione tra la carica virale misurata come DNAemia con PCR e pp65 antigenemia. Entrambi i test hanno alta sensibilità e simile specificità con alto valore predittivo negativo e basso valore predittivo positivo. I risultati non sono influenzati dal tempo di processazione o dalla leucopenia, il test è automatizzato riducendo il rischio della variabilità operatore dipendente, ma è più costoso. Entrambi i test sono utili per la diagnosi della infezione attiva e il monitoraggio della risposta alla terapia e la scelta del test dipende essenzialmente dalle risorse e dall'esperienza dei laboratori locali (20, 21). Per la diagnosi di localizzazione d'organo del virus è raccomandata la ricerca di CMV DNA nei fluidi biologici (ad esempio, nel broncolavaggio) e nei tessuti biotici.

Strategie di prevenzione

Le strategie in uso per la prevenzione dell'infezione da CMV hanno contribuito in maniera essenziale alla riduzione della incidenza della malattia citomegalica e della mortalità CMV-relata. Due sono le strategie comunemente utilizzate: la profilassi e la terapia pre-emptive. In entrambe i casi i farmaci utilizzati sono Ganciclovir ev e il suo profarmaco orale Valganciclovir, tuttavia all'interno di ciascuna strategia esistono significative differenze di pratica clinica da Centro a Centro.

Profilassi: consiste nella somministrazione di farmaci antivirali anche in assenza di replicazione virale. A seconda dei Centri può essere effettuata in tutti i pazienti oppure in una sottopopolazione di pazienti ad alto rischio (D+/R-, induzione con globuline antitimocitarie). L'inizio della terapia avviene generalmente nei primi 10 giorni post-trapianto e la durata può variare da tre a sei mesi post-trapianto. Il principale svantaggio della profilassi è l'aumentata incidenza di malattia citomegalica "tardiva", ovvero l'insorgenza della malattia una volta cessata la profilassi. Questa sembra associata essenzialmente alla persistenza di un'elevata immunosoppressione e all'assenza di immunità CMV specifica. Esistono tuttavia alcune evidenze che il prolungare la profilassi da 3 a 6 mesi riduca l'insorgenza di malattia da CMV tardiva. Gli altri effetti sfavorevoli della profilassi sono la prolungata esposizione a farmaci con uno spettro di tossicità soprattutto midollare e l'aumentata probabilità di sviluppare ceppi di CMV resistenti alla terapia (22, 23).



Terapia pre-emptive: consiste in un attento monitoraggio della carica virale al fine di individuare precocemente l'aumento di replicazione virale e di iniziare il trattamento al raggiungimento di un determinato cut off e prima che si sviluppino i sintomi della malattia. Il trattamento va continuato fino ad almeno due determinazioni consecutive di assenza di replicazione virale. I vantaggi di questa strategia sono la possibilità di permettere di sviluppare un'immunità cellulo-mediata CMV-specifica e di ridurre la tossicità e i costi associati a una terapia di profilassi prolungata. Oltre alle difficoltà logistiche (monitoraggio stretto e sistematico, generalmente settimanale) questo atteggiamento terapeutico ha lo svantaggio di non proteggere dagli effetti indiretti del CMV che non correlano con alti livelli di carica virale ma con prolungati periodi di attività del virus (23, 24).

Tutte le metanalisi confermano che entrambe le strategie terapeutiche riducono l'incidenza della malattia da CMV (25, 26), tuttavia in alcuni trial la profilassi risulta in una migliore sopravvivenza dell'organo a 4 anni e una ridotta incidenza di rigetto (23). Le linee guida KDIGO consigliano la profilassi per almeno 3 mesi per tutti i pazienti trapiantati e per almeno 6 settimane dopo la terapia con globuline antitimocitarie (27). Le International Consensus Guidelines of the Transplantation Society promuovono nei pazienti con mismatch sierologico D+/R- l'uso della profilassi, ma considerano un'adeguata opzione la terapia pre-emptive suggerendo ad ogni Centro di valutare il rapporto rischio-beneficio in base alle proprie possibilità di monitoraggio dei riceventi, costo dei farmaci, incidenza di malattia, rigetto, infezioni opportunistiche e mortalità. Per quanto riguarda i pazienti D+/R+ o D-/R+ le International Consensus Guidelines considerano le due strategie assolutamente eguali, mentre viene consigliata la profilassi di 3-6 mesi nei pazienti in cui viene effettuata terapia di induzione con anticorpi antilinfocitari (18).

Terapia

Il trattamento di prima linea consigliato per la malattia citomegalica è Ganciclovir ev (5 mg/kg ogni 12 ore) o Valganciclovir (900 mg ogni 12 ore *per os*). Nel caso di infezioni severe o potenzialmente fatali va preferito sempre il Ganciclovir per via endovenosa, come anche nei casi di ridotto assorbimento o scarsa tollerabilità della formulazione orale. I dosaggi vanno adeguati alla funzione renale per evitare accumulo e maggiore tossicità, ma è importante anche evitare sottodosaggi che possono risultare in una ridotta efficacia e promuovere farmacoresistenza. In caso di tossicità con leucopenia andrebbe

evitata la riduzione della dose del farmaco mentre piuttosto andrebbero minimizzati i dosaggi di acido micofenolico, trimetoprim-sulfametossazolo e inibitori di m-TOR. Nei casi di severa leucopenia (neutrofili < 1000/mm³) andrebbe valutata la possibilità di utilizzare il fattore di crescita granulocitario. Durante il trattamento della malattia la carica virale andrebbe monitorata almeno una volta la settimana. Nei casi più complessi con alta carica virale, leucopenia, interessamento multiorgano, e scarsa responsività al trattamento la terapia immunosoppressiva andrebbe ridotta o minimizzata (18). Non è chiaro se il trattamento con immunoglobuline CMV specifiche possa determinare un'ulteriore efficacia, ma può essere considerato nei casi di malattia potenzialmente fatale.

Resistenza alla terapia

La resistenza al Ganciclovir è un problema emergente ed è da sospettare nei casi di mancata risposta clinica e virologica alla terapia prolungata ed è dovuta a mutazioni genetiche del virus. I fattori di rischio per lo sviluppo di resistenza sono una prolungata esposizione alla terapia antivirale (mediana 5-6 mesi), severa immunosoppressione, mancanza d'immunità CMV specifica (D+/R-), inadeguati dosaggi del farmaco (28-32). La diagnosi di CMV resistenza al Ganciclovir va effettuata dimostrando la presenza delle caratteristiche mutazioni nei geni UL97 Kinasi o UL54 DNA polimerasi con analisi di sequenza su CMV DNA. Oltre il 90% dei casi di resistenza al Ganciclovir sono determinati da una mutazione dell'UL97 kinasi che determina la fosforilazione del Ganciclovir permettendone l'attività antivirale (33), nella minoranza dei casi la mutazione è sul gene che codifica per l'UL54 polimerasi determinando resistenza oltre che al Ganciclovir anche a Cidofovir e Foscarnet poiché la polimerasi è il bersaglio di questi farmaci antivirali (34). Attualmente non esiste alcun trial controllato che supporti una *best practice* per la selezione di una terapia alternativa nei casi di CMV resistenza al Ganciclovir, tuttavia la International Consensus Guidelines of the Transplantation Society ha suggerito un algoritmo diagnostico-terapeutico (Fig. 1). Innanzitutto nel caso di sospetto clinico di CMV resistenza bisogna accertarsi di non utilizzare livelli subterapeutici del farmaco e che la terapia immunosoppressiva non sia eccessiva. Empiricamente, nell'attesa del risultato della ricerca di mutazioni, nei casi di malattia citomegalica che può considerarsi moderata è consigliato aumentare il dosaggio del Ganciclovir a dosaggio doppio rispetto a quello generalmente consigliato (10 mg/kg ogni 12 ore), nei casi di maggiore severità viene consigliato di sospendere la terapia immu-

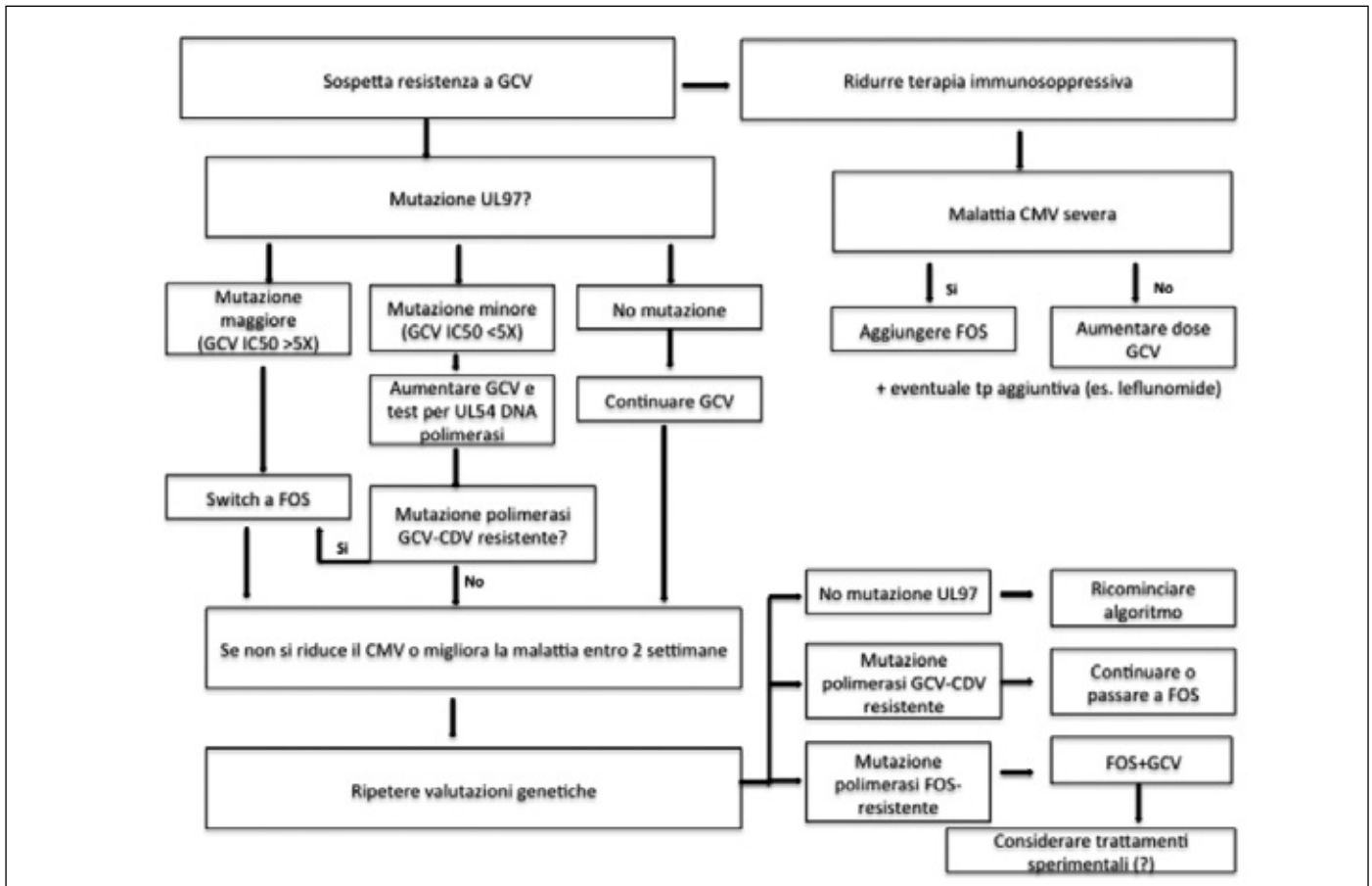


Fig. 1 - Algoritmo di gestione e trattamento della resistenza al Ganciclovir in corso di malattia citomegalica.
 Abbreviazioni: GCV= ganciclovir; FOS= foscarnet; CDV=cidofovir;
 GCV IC50= concentrazione di GCV necessaria a ridurre la crescita del CMV del 50% in vitro

nosoppressiva e integrare la terapia con Foscarnet. Se viene dimostrata la presenza di mutazione UL97 va effettuato uno shift terapeutico a Foscarnet mentre nei casi di mutazione UL54 è consigliata la combinazione di Foscarnet e Ganciclovir, mentre il Cidofovir non è generalmente consigliato per la presenza di resistenza crociata.

Non è del tutto chiaro se un monitoraggio terapeutico del farmaco possa essere utile in quanto la forma attiva è il Ganciclovir trifosforilato intracellulare, ma esistono alcune evidenze che i livelli sierici siano un valido surrogato (35, 36). In realtà un range terapeutico del Ganciclovir non è stato chiaramente definito. Studi in pazienti con trapianto di organo solido che ricevevano Ganciclovir come profilassi o come trattamento riportano un ampio range di concentrazioni plasmatiche. La concentrazione del picco (30 minuti dopo la somministrazione) variava da 0.96 a 22.1 µg/mL mentre la concentrazione basale (12 ore dopo l'ultima somministrazione) variava da 0.06 a 11.7 µg/mL. Inoltre nessuno di questi studi chiariva

in maniera convincente una relazione tra concentrazioni del farmaco e efficacia e tossicità della terapia con Ganciclovir (37-38). In particolare l'insorgenza di neutropenia, il principale effetto collaterale della terapia, non correlava con le concentrazioni ematiche. In quest'ottica, in considerazione della mancanza di range terapeutici definiti, il ruolo del monitoraggio dei livelli plasmatici del farmaco ha probabilmente un valore limitato ma può essere utile in quei pazienti nei quali si osservi una scarsa risposta clinica alla terapia e nei quali un potenziale shift terapeutico a farmaci nefrotossici come il Foscarnet potrebbe ridurre la sopravvivenza del graft.

Conclusioni

L'infezione da CMV è una delle principali complicanze infettive e causa di aumentata morbilità e mortalità nei pazienti trapiantati di rene. I pazienti ad alto rischio sono



i riceventi CMV IgG negativi che ricevono un rene da donatore CMV IgG positivo e i pazienti che hanno dovuto sostenere una terapia immunosoppressiva con attività di deplezione sui linfociti T. Fondamentale è una diagnosi precoce che si basa sulla identificazione della replicazione virale con pp65 antigenemia sui leucociti del sangue periferico o tramite ricerca di DNA virale con PCR su sangue o altri tessuti biologici. Esistono due strategie attualmente in uso per la prevenzione della malattia da CMV: la profilassi e la terapia pre-emptive. La prima consiste nella somministrazione di farmaci antivirali in tutti i pazienti per i primi 3-6 mesi post-trapianto. La seconda prevede il monitoraggio stretto della DNAemia al fine di iniziare la terapia in caso di riscontro di infezione asintomatica da CMV. Nel caso di

malattia citomegalica il trattamento di scelta si basa su Ganciclovir per via endovenosa o Valganciclovir per via orale. Nei casi di mancata risposta clinica va sospettata la resistenza al ganciclovir che rappresenta una sfida terapeutica emergente.

Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse

Indirizzo degli Autori:

Dr. Pasquale Esposito
U.O. Nefrologia, Dialisi e Trapianto
Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo
Via Camillo Golgi 19
27100 Pavia
pasqualesposito@hotmail.com

Bibliografia

- San Juan R, Aguado JM, Lumbreras C, et al. Incidence, clinical characteristics and risk factors of late infection in solid organ transplant recipients: data from the RESITRA study group. *Am J Transplant* 2007; 7(4): 964-71.
- Rubin RH. Impact of cytomegalovirus infection on organ transplant recipients. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Suppl 7): S754-66.
- Hibberd PL, Tolkoff-Rubin NE, Cosimi AB, et al. Symptomatic cytomegalovirus disease in the cytomegalovirus antibody seropositive renal transplant recipient treated with OKT3. *Transplantation* 1992; 53(1): 68-72.
- Lumbreras C, Otero JR, Herrero JA, et al. Ganciclovir prophylaxis decreases frequency and severity of cytomegalovirus disease in seropositive liver transplant recipients treated with OKT3 monoclonal antibodies. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(11): 2490-2.
- Humar A, Micheals M. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 262.
- Legendre C, Pascual M. Improving outcomes for solid-organ transplant recipients at risk from cytomegalovirus infection: late-onset disease and indirect consequences. *Clin Infect Dis* 2008; 46(5): 732-40.
- Reischig T, Jindra P, Svecová M, Kormunda S, Opatrný K Jr, Treska V. The impact of cytomegalovirus disease and asymptomatic infection on acute renal allograft rejection. *J Clin Virol* 2006; 36(2):146-51.
- Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, et al. The impact of cytomegalovirus infection and disease on rejection episodes in renal allograft recipients. *Am J Transplant* 2002; 2(9): 850-6.
- Humar A, Gillingham KJ, Payne WD, Dunn DL, Sutherland DE, Matas AJ. Association between cytomegalovirus disease and chronic rejection in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1999; 68(12): 1879-83.
- Reischig T, Jindra P, Hes O, Bouda M, Kormunda S, Treska V. Effect of cytomegalovirus viremia on subclinical rejection or interstitial fibrosis and tubular atrophy in protocol biopsy at 3 months in renal allograft recipients managed by preemptive therapy or antiviral prophylaxis. *Transplantation* 2009; 87(3): 436-44.
- Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(1): 76-98.
- Razonable RR, Brown RA, Humar A, Covington E, Alecock E, Paya CV; PV16000 Study Group. Herpesvirus infections in solid organ transplant patients at high risk of primary cytomegalovirus disease. *J Infect Dis* 2005; 192(8): 1331-9.
- Mañez R, Breinig MC, Linden P, et al. Posttransplant lymphoproliferative disease in primary Epstein-Barr virus infection after liver transplantation: the role of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis* 1997; 176(6): 1462-7.
- Razeghi E, Hadadi A, Khashayar P, Pourmand G. Kaposi's sarcoma in renal transplantation: report of three cases. *Clin Nephrol* 2009; 71(2): 214-6.
- Pouria S, State OI, Wong W, Hendry BM. CMV infection is associated with transplant renal artery stenosis. *QJM* 1998; 91(3): 185-9.
- Hjeltnes J, Sagedal S, Hartmann A, et al. Asymptoma-

- tic cytomegalovirus infection is associated with increased risk of new-onset diabetes mellitus and impaired insulin release after renal transplantation. *Diabetologia* 2004; 47(9):1550-6.
17. De Keyzer K, Van Laecke S, Peeters P, Vanholder R. De novo thrombotic microangiopathy induced by cytomegalovirus infection leading to renal allograft loss. *Am J Nephrol* 2010; 32(5): 491-6.
 18. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010; 89(7): 779-94.
 19. 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.
 20. Piiparinen H, Helanterä I, Lappalainen M, 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: 367-72.
 21. Li H, Dummer JS, Estes WR, Meng S, Wright PF, Tang YW. Measurement of human cytomegalovirus loads by quantitative real-time PCR for monitoring clinical intervention in transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 187-91.
 22. Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, et al. The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2010; 10(5): 1228-37.
 23. Kliem V, Fricke L, Wollbrink T, Burg M, Radermacher J, Rohde F. Improvement in long-term renal graft survival due to CMV prophylaxis with oral ganciclovir: results of a randomized clinical trial. *Am J Transplant* 2008; 8: 975-83.
 24. Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP, et al. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney Int* 2004; 66: 329-37.
 25. Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freibeld AG. Meta-analysis: the efficacy of strategies to prevent organ disease by cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Ann Intern Med* 2005; 143(12): 870-80.
 26. Strippoli GF, Hodson EM, Jones C, Craig JC. Preemptive treatment for cytomegalovirus viremia to prevent cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2006; 81(2): 139-45.
 27. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Chapter 13: viral diseases. *Am J Transplant* 2009; 9(Suppl): S44-58.
 28. Erice A, Borrell N, Li W, et al. Ganciclovir susceptibilities and analysis of UL97 region in cytomegalovirus (CMV) isolates from bone marrow recipients with CMV disease after antiviral prophylaxis. *J Infect Dis* 1998; 178: 531.
 29. Li F, Kenyon KW, Kirby KA, et al. Incidence and clinical features of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease in heart transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 439.
 30. Lurain NS, Bhorade SM, Pursell KJ, et al. Analysis and characterization of antiviral drug-resistant cytomegalovirus isolates from solid organ transplant recipients. *J Infect Dis* 2002; 186: 760.
 31. Limaye AP. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus in organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 866.
 32. Baldanti F, Lurain N, Gerna G. Clinical and biologic aspects of human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. *Hum Immunol* 2004; 65: 403.
 33. Mendez JC, Sia IG, Tau KR, et al. Novel mutation in the CMV UL97 gene associated with resistance to ganciclovir therapy. *Transplantation* 1999; 67: 755-7.
 34. Boivin G, Goyette N, Gilbert C, et al. Analysis of cytomegalovirus DNA polymerase (UL54) mutations in solid organ transplant patients receiving valganciclovir or ganciclovir prophylaxis. *J Med Virol* 2005; 77: 425-9.
 35. Piketty C, Bardin C, Gilquin J, et al. Monitoring plasma levels of ganciclovir in AIDS patients receiving oral ganciclovir as maintenance therapy for CMV retinitis. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6:117-20.
 36. Fishman JA, Doran MT, Volpicelli SH, et al. Dosing of intravenous ganciclovir for the prophylaxis and treatment of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2000; 69: 389-94.
 37. Tornatore KM, Garey KW, Saigal N, et al. Ganciclovir pharmacokinetics and cytokine dynamics in renal transplant recipients with cytomegalovirus infection. *Clin Transplant* 2001; 15: 297-308.
 38. Erice A, Jordan MC, Chace BA, et al. Ganciclovir treatment of cytomegalovirus disease in transplant recipients and other immunocompromised host. *JAMA* 1987; 257: 3082-7.