

Wanneer is testen op CMV-cellulaire immuniteit zinvol?

Frans Verduyn Lunel, Greet Boland

Samenvatting

Het meten van cellulaire immuniteit tegen cytomegalovirus (CMV) na een transplantatie wordt steeds vaker toegepast maar heeft tot nu toe geen vaste plaats verworven in de routinefollow-up van transplantatiepatiënten. Idealiter kan het meten van cellulaire immuniteit helpen bij de beslissing om bij een actieve infectie met CMV antivirale behandeling te beginnen of juist een afwachtend beleid te voeren. Ook zou het kunnen helpen bij het uitvoeren van een meer geïndividualiseerd beleid voor de patiënt. De ontwikkelingen lijken veelbelovend. Er zijn inmiddels commercieel verkrijgbare testen die zijn toegepast bij patiënten die een orgaan- of een stamceltransplantatie hebben ondergaan. Er zijn diverse strategieën binnen het post-transplantatiebeleid mogelijk voor toepassing van deze testen, zoals het inschatten of een antivirale profylaxe gestaakt kan worden of het beoordelen of bij een actieve infectie antivirale therapie noodzakelijk is. De studies tot nu toe zijn echter heterogeen over methoden en gebruikte definities, zodat een uniforme benadering nu nog moeilijk aan te geven is. In individuele gevallen is het mogelijk gebleken het beleid op geleide van de resultaten van de testen aan te passen.

Abstract

An increasing number of studies of monitoring of cell mediated immunity (CMI) against cytomegalovirus (CMV) after organ- or stem cell transplantation has been published. However, measurement of CMI has not become part of the basic management in post-transplantation monitoring. Measurement of CMI should be helpful in individualizing patient management of antiviral prophylaxis or therapy after transplantation. Recent developments are promising. Tests for measurement of CMI after transplantation have become commercially available. Several applications in

post-transplantation strategies are possible such as considering whether antiviral prophylaxis can be suspended or not, or whether antiviral therapy in the presence of CMI is warranted or not. Studies of CMI are heterogeneous with respect to methodology or applied definitions. Therefore, it is difficult to recommend a universal approach for monitoring of CMI. However, in individual cases, CMI test results have been used successfully for individual patient management.

Inleiding

Het humane cytomegalovirus (CMV) is een van de belangrijkste pathogenen die een infectie kunnen veroorzaken na een orgaan- (OT) of stamceltransplantatie (SCT). CMV is een β -herpesvirus en blijft, net als andere herpesvirussen, na een primaire infectie latent aanwezig in de gastheer. Een primaire infectie kan bij voorheen gezonde personen symptomloos verlopen maar kan ook een mononucleoseachtig ziektebeeld veroorzaken. Seroprevalentie varieert tussen 30 en 90 procent.¹ Na de primaire infectie wordt CMV bij immunocompetente personen onder controle gehouden door de innate maar vooral ook de adaptieve, cellulaire immuniteit. De rol van de innate immuniteit is nog beperkt bekend.

Een specifieke cellulaire immuniteit van T-cellen tegen CMV ontstaat meestal rond de vier tot zes weken na de infectie. Deze cellulaire immuniteit is afhankelijk van interacties tussen presentatie van peptiden van CMV door antigeen presenterende cellen via het 'major histocompatibility'-complex

Universitair Medisch Centrum Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, sectie Virologie, Utrecht, F.M. Verduyn Lunel, arts-microbioloog, G.J. Boland, klinisch microbioloog. Correspondentieadres: F.M. Verduyn Lunel (f.m.verduynlunel@umcutrecht.nl).

(MHC) en T-cellen specifiek gericht tegen deze epitopen.²⁻⁴ De reactiviteit tegen bepaalde CMV-peptiden kan echter verschillen per HLA-type.

CMV en transplantatie

Na een transplantatie wordt de adaptieve cellulaire immuniteit onderdrukt voor rejectieprofylaxe na een OT of profylaxe van 'graft versus host' (GVH) na een SCT. Bij een verlaagde cellulaire immuniteit kunnen latent aanwezige virussen zoals CMV reacteren. Zonder profylaxe kan 30 tot 60 procent van de ontvangers een CMV-infectie of -ziekte krijgen,⁵⁻⁷ waarbij het hoogste risico bestaat bij ontvangers die zelf seronegatief zijn (R⁻) en vervolgens een orgaan krijgen van een seropositieve donor (D⁺). Een actieve CMV-infectie na transplantatie kan symptomloos verlopen maar kan ook resulteren in orgaanschade zoals retinitis, colitis of hepatitis. Daarnaast zijn er indirecte effecten, zoals de kwaliteit van het getransplanteerde orgaan op de langere termijn, of een nadelige invloed op de weerstand tegen infecties door andere pathogenen zoals een verhoogde kans op opportunistische schimmelinfecties na een stamceltransplantatie.⁸ Om de nadelige effecten van een CMV-infectie te ondervangen kan na een orgaantransplantatie bij patiënten die een hoog risico hebben op een actieve infectie, gekozen worden uit twee strategieën, namelijk universele profylaxe met een antiviraal middel gedurende drie tot zes maanden na de transplantatie, of preëemptieve therapie onder monitoren van de viral load in het bloed.⁹ Nadelen van universele profylaxe zijn de kans op soms ernstige bijwerkingen, zoals leukopenie door onderdrukking van het beenmerg, en de extra kosten voor medicatie. Ten slotte zou door de voortdurende blootstelling aan antivirale medicatie de kans om een resistentie tegen antivirale middelen te ontwikkelen groter worden. Daarnaast blijft de mogelijkheid bestaan dat sommige ontvangers van transplantaat voldoende hebben aan een kortere profylaxe. Gezien de beperkte keuze aan antivirale middelen is dit een belangrijk nadeel. Een alternatieve strategie is om frequent de viral load in volbloed of plasma te vervolgen en preëemptieve therapie te beginnen zodra de viral load boven een vooraf gedefinieerde afkapwaarde komt. Nadeel van deze strategie is de grotere kans op een actieve CMV-infectie.

Het aanvullend monitoren van de cellulaire immuniteit tegen CMV zou kunnen helpen bij het meer individualiseren van het te voeren beleid. Het aantonen van cellulaire immuniteit zou kunnen helpen bij het voorspellen van optreden van een CMV-infectie nadat de profylaxe gestaakt wordt, of de mogelijkheid creëren om eerder antivirale profylaxe te staken. Ook zou overwogen kunnen worden om bij een CMV-infectie in aanwezigheid van een cellulaire immuniteit een afwachtend beleid te voeren zonder antivirale therapie.

Over de ontwikkeling van cellulaire immuniteit tegen CMV na een transplantatie zijn meerdere studies gepubliceerd. In dit artikel wordt vooral gekeken naar recente ontwikkelingen met het gebruik van commercieel verkrijgbare testen.

Testen

Het aantonen van specifieke cellulaire immuniteit (CMI) tegen CMV gebeurt door de reactie van T-cellen na blootstelling aan CMV-antigenen te meten. Daarvoor zijn de CMV-QuantiFERON-test (CMV-QFT)¹⁰ en enkele ELISPOT-testen (T-Track ELISPOT, Lophius Biosciences GmbH, Regensburg, en de T-SPOT.CMV test, Oxford Immunotec Ltd., UK)^{11,12} commercieel verkrijgbaar. Deze testen zijn vergelijkbaar met testen die voor de tuberculosedagnostiek gebruikt worden (respectievelijk QuantiFERON-TB en TB ELISPOT) en kunnen tot de interferon-gamma release-assays (IGRA) gerekend worden. De CMV-QFT gebruikt volbloed dat afgenomen wordt in drie verschillende buizen, waarvan één buis 22 verschillende synthetische peptiden bevat, afkomstig van zes verschillende immuundominante CMV-eiwitten.¹⁰ De eventueel aanwezige CMV-specifieke lymfocyten worden door blootstelling aan CMV-peptiden aangezet tot interferonproductie, wat vervolgens gemeten kan worden met behulp van standaard ELISA-technieken. Wanneer de lymfocyten inert zijn door immuunsuppressie zal ook de mitogeencontrole geen interferonproductie opleveren en wordt de testuitslag als onbepaald ('indeterminate') afgegeven. De CMV-QFT meet alleen de reactiviteit van CD8⁺-T-cellen vanwege de keuze van de gebruikte peptiden. Verder is de reactiviteit beperkt tot een selectie van meest voorkomende HLA-types.¹³ Dat kan betekenen dat bij gezonde personen een CMV-QFT negatief kan zijn ook al is een cellulaire immuniteit aanwezig.

Voor de ELISPOT moeten eerst de perifere bloedmonocyten (PBMC) geïsoleerd worden. Deze PBMC worden blootgesteld aan geactiveerde CMV-antigenen (IE-1 en pp65) die normaliter via antigeenpresenterende cellen als peptiden aan T-cellen gepresenteerd worden. De antigenen die in deze test aan het immuunsysteem worden aangeboden zijn echter anders geprepareerd dan de antigenen in de CMV-QFT. Deze aangepaste antigenen zetten naast CD8⁺ ook CD4⁺ en NK-cellen aan tot interferonproductie. Bij aanwezigheid van CMV-specifieke T-cellen komt interferonproductie op gang, wat zichtbaar gemaakt kan worden in een spot-ELISA.

Praktisch gezien is de CMV-QFN-test eenvoudig en goed gestandaardiseerd uit te voeren. Het testresultaat kan binnen 24 tot 48 uur bekend zijn, afhankelijk van hoe vaak de ELISA voor detectie van interferon wordt uitgevoerd. De uitvoering van een ELISPOT-test is bewerklijker en minder goed te automatiseren vanwege de celisolatie, celtelling en resultaatinterpretatie (spots tellen). Directe vergelijkingen van beide testen zijn tot nu toe alleen bij dialyse- en niertransplantatiepatiënten uitgevoerd.¹⁴⁻¹⁶ De resultaten zijn door verschillen in methodologie echter niet eenduidig, waardoor er geen voorkeur voor een van deze testen aangetoond kan worden. Beide testen meten de cellulaire immuniteit en gezien het bovenstaande wordt de keuze welke test geïmplementeerd kan worden, mede afhankelijk van de voorzieningen op en expertise van een laboratorium.

Klinische toepassingen

Pretransplantatierisico-inschatting

Enkele studies toonden een verband tussen de resultaten verkregen met CMV-QFT of een ELISPOT voorafgaande aan de transplantatie en de kans op het ontstaan van een actieve infectie met CMV na de transplantatie. Een deel van de patiënten in deze studies kreeg antivirale profylaxe en bij een deel werd de preëemptieve monitoringstrategie toegepast. Bij al deze studies werd waargenomen dat een hoge interferonuitscheiding gepaard ging met minder CMV-infecties na de transplantatie (*tabel 1*). Een deel van de analyses was gedaan op monsters afgenomen voorafgaand aan de transplantatie. Hoewel er verschillen zitten in de onderlinge observaties en toegepaste methodologie, wordt in deze

publicaties gesuggereerd dat op geleide van pretransplantatieresultaten duidelijk kan worden welke patiënt bijvoorbeeld wel of geen profylaxe hoeft te krijgen na de transplantatie.¹⁷⁻¹⁹

Gezien de diversiteit in methodologie en resultaten lijken er op dit moment nog onvoldoende concrete aanwijzingen te zijn om een risico-inschatting in de dagelijkse klinische praktijk toe te passen.

Monitoren van CMV-immuniteit na de transplantatie

CMV-seronegatieve ontvangers van organen van CMV-seropositieve donoren ontwikkelen vaak een primaire CMV-infectie na de orgaantransplantatie en zullen primaire immuniteit moeten opbouwen tegen CMV in de weken na de orgaantransplantatie. Deze primaire infecties kunnen ernstiger verlopen dan een CMV-reactivatie bij CMV-positieve ontvangers. Bij een selectie van seronegatieve ontvangers van organen van een seropositieve donor was de incidentie van een CMV-infectie die gepaard ging met CMV-ziekte, lager wanneer na het staken van antivirale profylaxe de CMV-QFT positief was, vergeleken met de incidentie waar de CMV-QFT negatief of onbepaald was (respectievelijk 6,4, 22,2, en 58,3 procent, $p < .001$).²⁰ Soortgelijke waarnemingen werden gedaan bij toepassing van de T-SPOT-CMV bij patiënten die gevolgd werden na een niertransplantatie.¹² Wanneer de T-SPOT-CMV, afgenomen net voor het staken van de profylaxe, niet reactief was werd vaker een actieve CMV-infectie (al dan niet symptomatisch) aangetoond dan wanneer een positieve testreactie werd gemeten op zowel IE1 als pp65-antigenen, namelijk respectievelijk 20 versus 0 procent.

Onderscheid van patiënten die zonder antivirale therapie in staat zijn om een actieve infectie weer onder controle te krijgen

In diverse studies is aangetoond dat de CMV-infectie beter onder controle gehouden kan worden bij patiënten bij wie de testen op cellulaire immuniteit positief zijn. Bij een aantal patiënten met een allogene SCT werd de cellulaire immuniteitsontwikkeling gedurende een jaar na de SCT gevolgd²¹ met de CMV-QFT en de ELISPOT. De hoogte van de interferonproductie na stimulatie met CMV-antigenen was geassocieerd met het onder controle krijgen van de CMV-infectie, al

Tabel 1.

Transplantatie-type	CMV-beleid	CMV-detectie	Test	Aantal patiënten	Opmerkingen	Referentie
Long en nier	Longtransplantatie: profylaxe voor alle patiënten. Niertransplantatie: Profylaxe indien D ⁺ /R ⁻ en preëemptief indien R ⁺ .	PCR	CMV-QFT	44	Van de CMV-R ⁺ -patiënten met een niet-reactieve CMV-QFT en een reactieve CMV-QFT ontwikkelden respectievelijk 7/14 (50%) versus 4/30 (13%) een actieve infectie met CMV na de Tx. De combinatie D ⁺ /ontvanger plus CMV-QFT 'niet-reactief' was in een multivariate analyse significant t.o.v. de combinatie D ⁺ /ontvanger plus CMV-QFT 'reactief' (OR 10,49, CI 1,88-55,46)	17
Nier	Profylaxe voor alle R ⁻ /D ⁺ -patiënten en R ⁺ -patiënten welke ATG ontvingen. Preëemptieve behandeling bij overige R ⁺ -patiënten	pp65-antigeen	ELISPOT	137	Pretransplantatieve T-celrespons tegen IE1-eiwit was significant verschillend tussen patiënten die wel of niet een antigenemie na de Tx ontwikkelden: Respectievelijk 21,5 ± 44 en 54,4 ± 90 per 3 x 10 ⁵ PBMC's in de preëemptief behandelde groep en respectievelijk 4 ± 4,8 versus 52 ± 103 spots per 3 x 10 ⁵ PBMC's in de profylaxegroep.	18
Nier en pancreas	Preëemptieve behandeling	pp65-antigeen	ELISPOT	69	Alleen CMV-R ⁺ -patiënten. Pretransplantatieve T-celrespons tegen pp65-eiwit was significant verschillend tussen patiënten die wel of niet een antigenemie na de Tx ontwikkelden. Een actieve CMV-infectie werd waargenomen bij 15/48 (31%) patiënten indien de ELISPOT positief was (> 10 spots/2,0 x 10 ⁵ PBMC's) versus 12/21 (57%) patiënten indien de ELISPOT negatief was (< 10 spots/2,0 x 10 ⁵ PBMC's).	19

CMV-QFT = CMV-QuantIFERON-test; R+ = CMV-seropositieve ontvanger; R- = CMV-seronegatieve ontvanger; D+ = CMV-seropositieve donor; PBMC = perifere bloedmonocyten.

dan niet met antivirale therapie. Bij patiënten met een SCT bij wie de CMV-QFT drie maanden na de SCT een positief, negatief of onbepaald resultaat gaf, was bij respectievelijk 49, 0, en 10 procent geen antivirale therapie nodig. Dergelijke observaties waren er ook bij patiënten na een

OT.^{22,23} Er bestaan echter geen internationaal geldende afkapwaarden voor de viral load van CMV in bloed na een SCT of orgaantransplantatie waarboven antivirale therapie begonnen moet worden. In de praktijk stelt ieder instituut

afzonderlijk afkapwaarden vast die min of meer op de lokale situatie afgestemd zijn. Deze waarnemingen tonen wel aan dat bij aanwezigheid van cellulaire immuniteit tegen CMV na een SCT of orgaantransplantatie, niet altijd antivirale therapie nodig is en dat daarmee een afwachtend beleid gevoerd kan worden. Het blijft echter tot op heden onduidelijk boven welke waarde van de viral load in bloed antivirale therapie gestart moet worden in aanwezigheid van een reactieve CMV-QFT.

Het voorspellen van opvlamming van CMV-replicatie of CMV-ziekte

Een van de eerste publicaties over toepassing van de CMV-QFT na een allogene SCT toonde een overeenkomst tussen de reactiviteit van deze test en het optreden van een CMV-infectie. Hoewel niet beschreven werd wanneer de testen afgenomen werden na de transplantatie, werd wel een late (meer dan 100 dagen na SCT) CMV-infectie waargenomen bij patiënten bij wie het testresultaat negatief of onbepaald was.²⁴ Ook 16 seropositieve patiënten die een SCT hadden ondergaan en gedurende een jaar gevolgd werden, ontwikkelden allen een CMV-reactivatie. Patiënten bij wie de CMV-QFT voorafgaand aan of tijdens de CMV-activatie positief was, hadden een lagere viral load dan patiënten bij wie de CMV-QFT negatief was. Antivirale therapie was bij respectievelijk de CMV-QFT-positieve en CMV-QFT-negatieve categorie niet nodig in 67 en 15 procent van de gevallen.²⁵

In drie andere studies met respectievelijk 63 volwassenen en 37 en 16 kinderen die een SCT hadden ondergaan, werd een significant verband gevonden tussen een positieve ELISPOT of CMV-QFT en het optreden van een CMV-infectie.^{26,27}

In een studie met 86 niertransplantatiepatiënten die allen valganciclovir-profylaxe kregen werd het verband onderzocht tussen de resultaten van de CMV-QFT en het ontwikkelen van een CMV-infectie na het staken van de profylaxe. In een multivariate analyse bleek dat een negatieve CMV-QFT geassocieerd was met het ontwikkelen van een CMV-infectie (OR 4,2CI:1,1-15,6).²⁸ Soortgelijke verbanden werden gevonden bij andere studies met andere patiënten na een orgaantransplantatie.²⁹⁻³²

Uit deze studies blijkt dat, indien er cellulaire immuniteit tegen CMV aantoonbaar is, de kans op

CMV-activatie lager is.

Toepassing klinische praktijk

Kneidinger et al. beschreven in 2014 een patiënt die een longtransplantatie had ondergaan en vervolgens een primaire, symptomatische infectie met CMV opliep.³³ De auteurs gebruikten de resultaten van de testen op cellulaire immuniteit in hun beleid, waarbij na de ontwikkeling van immuniteit een afwachtend beleid zonder antivirale therapie werd gevoerd.

Binnen het UMC Utrecht hebben wij soortgelijke ervaringen. Een 49-jarige harttransplantatiepatiënt ontwikkelde een primaire, symptomatische infectie met CMV na het staken van profylaxe. Na maandenlange antivirale behandeling werd deze gestaakt nadat de CMV-QFT reactief werd. De viral load is spontaan gedaald en de patiënt had daarna geen CMV-gerelateerde klachten meer.

Conclusie

Het meten van cellulaire immuniteit tegen CMV na een transplantatie is vooral onderzocht bij transplantatiepatiënten. Er zijn inmiddels commercieel verkrijgbare testen die toepassing buiten referentielaboratoria toelaten. De testen lijken vooralsnog vooral behulpzaam bij het bepalen of er verhoogde kans is op CMV-activatie bij afwezigheid van aantoonbare cellulaire immuniteit, en of antivirale therapie achterwege kan blijven bij een reactivatie. De studies tot nu toe zijn echter heterogeen als het gaat om methoden en gebruikte definities, zodat een uniforme benadering nu nog moeilijk aan te geven is. Structurele toepassing van de test staat nog in de kinderschoenen. In individuele gevallen kan een test op cellulaire immuniteit tegen CMV wel behulpzaam zijn bij het bepalen van het beleid.

Referenties

1. Razonable RR, Hayden RT. Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection after Solid Organ Transplantation. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26:703-27.
2. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-Art Monitoring of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immunity After Organ Transplant: A Primer for the Clinician. *Clin Infect Dis.* 2012;55:1678-89.
3. Sester M, Sester U, Gärtner BC, et al. Dominance of Virus-Specific CD8 T Cells in Human Primary Cytomegalovirus Infection. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:2577-84.
4. Snyder CM. Buffered memory: a hypothesis for the maintenance of functional, virus-specific CD8+ T cells during cytomegalovirus infection. *Immunol Res.* 2011;51:195-204.

5. Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, et al. A prospective study of the natural cause of cytomegalovirus infection and disease in renal allograft recipients. *Transplantation*. 2000;70:1166-74.
6. Hartmann A, Sagedal S, Hjeltnes J. The Natural Course of Cytomegalovirus Infection and Disease in Renal Transplant Recipients. *Transplantation*. 2006;82:S15-7.
7. McDevitt LM. Etiology and impact of cytomegalovirus disease on solid organ transplant recipients. *Am J Health Syst Pharm*. 2006;63:S3-9.
8. Nichols WG, 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.
9. Beam E, Razonable RR. Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation: Epidemiology, Prevention, and Treatment. *Curr Infect Dis Rep*. 2012;14:633-41. 1
10. Walker S, Fazou C, Crough T, et al. Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8+ T-cell responses using QuantiFERON®-CMV. *Transpl Infect Dis*. 2007;9:165-70.
11. Barabas S, Spindler T, Kiener R, et al. An optimized IFN- γ ELISpot assay for the sensitive and standardized monitoring of CMV protein-reactive effector cells of cell-mediated immunity. *BMC Immunol*. 2017;18:14.
12. Chanouzas D, Small A, Borrows R, Ball S. Assessment of the T-SPOT.CMV interferon- γ release assay in renal transplant recipients: A single center cohort study. *PLOS ONE*. 2018;13:e0193968.
13. Cantisán S, Rodelo-Haad C, Páez-Vega A, et al. Factors Related to the Development of CMV-Specific CD8+ T cell Response in CMV-Seropositive Solid Organ Transplant Candidates. *Am J Transplant*. 2015:715-22.
14. Abate D, Saldan A, Mengoli C, et al. Comparison of Cytomegalovirus (CMV) Enzyme-Linked Immunosorbent Spot and CMV Quantiferon Gamma Interferon-Releasing Assays in Assessing Risk of CMV Infection in Kidney Transplant Recipients. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2501-7.
15. Banas B, Böger CA, Lückhoff G, et al. Validation of T-Track® CMV to assess the functionality of cytomegalovirus-reactive cell-mediated immunity in hemodialysis patients. *BMC Immunol*. 2017;18:15.
16. Lee H, Park KH, Ryu JH, et al. Cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in seropositive kidney transplant recipients. *PLOS ONE*. 2017;12:e0189488.
17. Cantisán S, Lara R, Montejó M, et al. Pretransplant Interferon- γ Secretion by CMV-Specific CD8+ T Cells Informs the Risk of CMV Replication After Transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13:738-45.
18. Bestard O, Lucia M, Crespo E, et al. Pretransplant Immediately Early-1-Specific T Cell Responses Provide Protection for CMV Infection After Kidney Transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13:1793-805.
19. Kim S-H, Lee H-J, Kim S-M, et al. Diagnostic Usefulness of Cytomegalovirus (CMV)-Specific T Cell Immunity in Predicting CMV Infection after Kidney Transplantation: A Pilot Proof-of-Concept Study. *Infect Chemother*. 2015;47:105-10.
20. Manuel O, Husain S, Kumar D, et al. Assessment of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immunity for the Prediction of Cytomegalovirus Disease in High-Risk Solid-Organ Transplant Recipients: A Multicenter Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2013;56:817-24.
21. Yong MK, Lewin SR, Manuel O. Immune Monitoring for CMV in Transplantation. *Curr Infect Dis Rep*. 2018;20:4.
22. Lisboa LF, Kumar D, Wilson LE, Humar A. Clinical Utility of Cytomegalovirus Cell-Mediated Immunity in Transplant Recipients With Cytomegalovirus Viremia. *Transplantation*. 2012;93:195.
23. Páez-Vega A, Poyato A, Rodríguez-Benot A, et al. Analysis of spontaneous resolution of cytomegalovirus replication after transplantation in CMV-seropositive patients with pretransplant CD8+IFN γ response. *Antiviral Res*. 2018;155:97-105.
24. Fleming T, Dunne J, Crowley B. Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8+ T-Cell responses using the QuantiFERON®-CMV assay in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients attending an Irish hospital. *J Med Virol*. 82:433-40.
25. Bono P, Orlandi A, Zoccoli A, et al. Quantiferon CMV assay in allogeneic stem cell transplant patients. *J Clin Virol*. 2016;79:10-1.
26. Neshar L, Shah DP, Ariza-Heredia EJ, et al. Utility of the Enzyme-Linked Immunospot Interferon- γ -Release Assay to Predict the Risk of Cytomegalovirus Infection in Hematopoietic Cell Transplant Recipients. *J Infect Dis*. 2016;213:1701-7.
27. Paouri B, Soldatou A, Petrakou E, et al. Quantiferon-Cytomegalovirus assay: A potentially useful tool in the evaluation of CMV-specific CD8+ T-cell reconstitution in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Pediatr Transplant*. 2018;22:e13220.
28. Deborska-Materkowska D, Perkowska-Ptasinska A, Sadowska A, et al. Diagnostic utility of monitoring cytomegalovirus-specific immunity by QuantiFERON-cytomegalovirus assay in kidney transplant recipients. *BMC Infect Dis*. 2018;18:179.
29. Chierighin A, Potena L, Borgese L, et al. Monitoring of Cytomegalovirus (CMV)-Specific Cell-Mediated Immunity in Heart Transplant Recipients: Clinical Utility of the QuantiFERON-CMV Assay for Management of Posttransplant CMV Infection. *J Clin Microbiol*. 2018;56:e01040-17.
30. Sood S, Haifer C, Yu L, et al. Early viral-specific T-cell testing predicts late cytomegalovirus reactivation following liver transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2018;0:e12934.
31. Thompson G, Boan P, Baumwol J, et al. Analysis of the QuantiFERON-CMV assay, CMV viraemia and antiviral treatment following solid organ transplantation in Western Australia. *Pathology*. 2018;50:554-61.
32. Kneidinger N, Giessen C, von Wulffen W, et al. Trip to immunity: resistant cytomegalovirus infection in a lung transplant recipient. *Int J Infect Dis*. 2014;28:140-2.