

## **Eva Vejražková: Problematika CMV infektu u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk – souhrn**

**Úvod:** Preemptivní antivirová specifická terapie snížila mortalitu i morbiditu spojenou s infekcí lidským cytomegalovirem (CMV) u pacientů po transplantaci hematopoetických buněk (HSCT). Nicméně i přes preemptivní terapii dochází ke vzplanutí CMV nemoci stejně jako k nárůstu pozdní CMV nemoci i vzniku virové rezistence. Vznik rezistence na podávaná virostatika je stále relativně málo prozkoumanou komplikací léčby CMV u pacientů po HSCT.

**Cílem práce** bylo stanovit četnost výskytu CMV primoinfekce/reaktivace během 1. roku po HSCT u pacientů ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK). Byl analyzován vliv nižšího dávkování králičího antithymocytárního globulinu použitého v rámci transplantačního přípravného režimu na výskyt CMV infekce, reakce štěpu proti hostiteli (GVHD), relapsu základního onemocnění a vliv na mortalitu po HSCT. Cílem práce bylo dále stanovit incidenci klinické i genotypové rezistence viru na podávaná virostatika v podmínkách FNHK a byl hledán vztah mezi klinickou rezistencí CMV (selháním léčby) a virovou rezistencí podmíněnou genotypicky. U pacientů s prokázanou virovou rezistencí byly porovnány metody sekvenční analýzy podle Sangera se Sekvenováním nové generace (NGS).

**Soubor nemocných a metodika:** Do prospektivního sledování bylo zařazeno 101 pacientů (47 žen a 54 mužů) IV. interní hematologické kliniky FNHK, u kterých byla provedena v časovém rozmezí od 06/2012 do 12/2014 alogenní HSCT. CMV DNAémie byla monitorována pomocí kvantitativní real-time PCR, průkaz CMV ve tkáni byl prováděn metodou imunohistochemie. Sekvenční analýza genů UL97 a UL54 byla prováděna u všech pacientů suspektně rezistentních k léčbě. Za klinickou rezistenci byl považován stav, kdy po minimálně 2 týdnech řádně vedené antivirové terapie došlo k nárůstu CMV nálože alespoň o jeden řád. Byla provedena sekvenční analýza genů UL97 a UL54, získané sekvence byly srovnávány s referenčním kmenem a následně porovnány s databází literárně popsanych mutací. Při průkazu virové rezistence bylo prováděno porovnání metodiky podle Sangera a NGS.

**Výsledky:** Incidence CMV reaktivace/primoinfekce v našem souboru byla 69 %. Snížení dávkování thymoglobulinu z 7,5 mg/kg na 6 mg/kg v rámci transplantačního přípravného režimu fludarabin/busulfan/thymoglobulin nemělo signifikantní vliv na CMV infekci. Také nevedlo k vyšší incidenci GVHD ani k vyššímu riziku relapsu či mortalitě v prvním potransplantačním roce. Incidence klinické rezistence CMV byla 7 % (odpovídá 12 % pacientů s anti-CMV léčbou) a incidence virové rezistence byla 3 % (5 % léčených pacientů). Tři případy klinické rezistence byly podmíněny mutací CMV ve virové thymidinové kináze UL97 (L595F, M460I, A594V). U pacientů s prokázanou virovou rezistencí byla mutace prokázána pomocí NGS metody o maximálně jeden odběr dříve oproti standardní sekvenaci dle Sangera.

**Závěr:** Mírná redukce dávek thymoglobulinu v rámci transplantačního přípravného nevedla k vyšší incidenci GVHD ani neovlivnila riziko relapsu či celkovou mortalitu v prvním potransplantačním roce a je tedy cestou ke snížení toxicity léčby při zachování její účinnosti.

Pacienti s prolongovaným podáváním virostatik a s vysokou virovou náloží by měli být pečlivě monitorováni a při diagnóze klinické rezistence by měla být testována citlivost klinického izolátu na podávanou léčbu (v klinické praxi např. sekvenční analýzou dané oblasti genu).

NGS analýza dokáže kvantitativně vyjádřit zastoupení mutované subpopulace viru v klinickém izolátu. Je také citlivější a prokáže mutovaný kmen již od 5 % zastoupení. Nicméně, vzhledem k náročnosti této metody a bez významné klinické relevance získaných dat se v současné době jedná o metodu vhodnou spíše pro výzkum než do rutinní praxe.