

1 Přílohy

DETEKCE POLYOMAVIRU WU A KI A LIDSKÉHO BOCAVIRU U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK A TRANSPLANTACI PLIC

P-03

Blagojević K.⁽¹⁾, Krausová B.⁽²⁾, Zajac M.⁽²⁾, Briksí A.⁽²⁾, Keslová P.⁽³⁾, Kouba M.⁽⁴⁾,
Šimonek J.⁽⁵⁾, Sedláček P.⁽³⁾, Cetkovský P.⁽⁴⁾, Lischke R.⁽⁵⁾, Hubáček P.^(2,3)

1 - studentka katedry genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha;

2 - Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 3 - Klinika dětské

hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 4 - Ústav hematologie a krevní

transfúze, Praha; 5 - 3. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Polyomaviry KI (KIPyV) a WU (WUPyV) byly objeveny v roce 2007 ve vzorcích z dýchacích cest od pacientů s respiračním onemocněním. Od této doby jsou KIPyV a WUPyV detekovány zejména u dětí s respiračním onemocněním a u imunosuprimovaných pacientů. Předpokládá se, že vyvolávají onemocnění dýchacího traktu s maximálním výskytem do 5% nemocných. Nicméně, KIPyV a WUPyV jsou detekovány i u osob bez respiračních symptomů. Lidský bocavirus (HBoV) je znám od roku 2005. Patří do čeledi Parvoviridae a vyskytuje se až u 20% pacientů s respiračním a GIT onemocněním. HBoV byl objeven i u asymptomatických pacientů a u pacientů s infekcí dalšími viry.

Metody: K retrospektivní detekci virů bylo použito 649 vzorků z dýchacích cest a tkání dýchacího traktu získaných mezi roky 2004-2013 od 35 dětí a 263 dospělých po transplantaci plic a hematopoetických kmenových buněk. Extrakce DNA byla provedena pomocí Ultra Clean Spin DNA isolation kitů firmy MoBio a vzorky byly následně uchovány v -20°C. Detekce byla provedena RQ-PCR pomocí plasmidové kalibrační křivky s cílovou sekvencí na přístrojích Applied Biosystem 7500 a Biorad CFX96.

Výsledky: Virus WUPyV byl detekován u 2 vzorků (0,3%) od 2 pacientů (1 dětský a 1 dospělý) s detekovanou kvantitou $8,9 \times 10^9$ /ml a $2,1 \times 10^4$ /ml. KIPyV byl pak detekován v 58 vzorcích (8,9%) od 42 pacientů (7 dětských a 35 dospělých) s mediánem detekované kvantity $1,9 \times 10^5$ /ml vzorku (rozmezí $1,5 \times 10^3$ /ml - $4,25 \times 10^9$ /ml), HBoV pak v 28 vzorcích (4,3%) od 25 pacientů (3 dětských a 22 dospělých) s mediánem detekované kvantity $3,2 \times 10^4$ /ml vzorku (rozmezí $5,0 \times 10^2$ /ml - $1,58 \times 10^9$ /ml). U 4 pacientů jsme pak detekovali příslušné viry také v časově blízkých vzorcích periferní krve. 9 pacientů v období jednoho měsíce po získání vzorku zemřelo. U dvou vzorků jsme detekovali zároveň přítomnost KIPyV a HBoV.

Závěr: Studie potvrdila výskyt polyomavirů WUPyV, KIPyV a HBoV i v české populaci a to u dětských i dospělých imunosuprimovaných pacientů. K bližšímu osvětlení jejich patofyziologického účinku však bude třeba, s ohledem na komplikovanost studovaných pacientů, získat k testování větší skupinu pacientů a nejlépe v prospektivní studii získat data o co největšímu počtu virových agens v dýchacích cestách těchto pacientů.

Práce je podpořena projektem institucionální podpory rozvoje výzkumné organizace 00064203 MZ ČR.

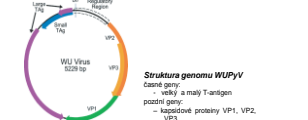
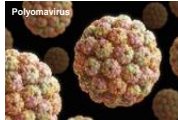
Příloha 1:

Abstrakt prezentovaný na Hradeckých virologických dnech 2013: XVIII. Celostátní konference virologů 15. – 16. 10. 2013

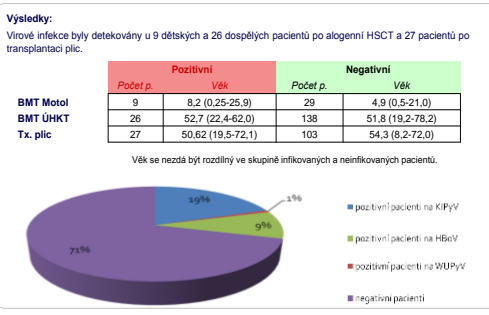
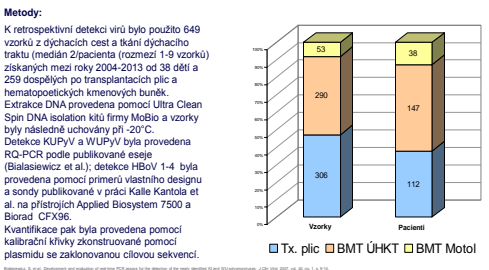
Detekce polyomaviru WU a KI a lidského bocaviru u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk a transplantaci plic

Kateřina Blagojevoval¹, Blanka Krausová², Miroslav Zjác², Aleš Briš², Petra Keslová³, Michal Koubař⁴, Jan Šimonek⁵, Petr Sedláček³, Petr Četkovský⁴, Robert Lischke⁶, Petr Hubáček^{3,5}
 1. studentka katedry genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha, 2. Ústav lékařské mikrobiologie 2, LF UK a FN Motol, Praha, 3. Klinika dětské hematologie a onkologie 2, LF UK a FN Motol, Praha, 4. Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha, 5. 3. chirurgická klinika 1, LF UK a FN Motol, Praha, 6. Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha.

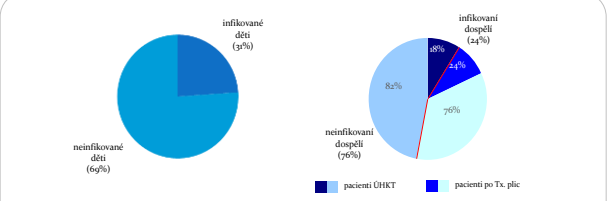
Úvod:
Polyomaviry KI (KIPyV) a WU (WUPyV) byly objeveny v roce 2007 ve vzorcích z dýchacích cest od pacientů s respiračním onemocněním. KIPyV a WUPyV jsou pojmenovány podle institucí, kde byly objeveny (Karolinska Institute, Washington University).
 Jde o neobalené cirkulární ds DNA viry z čeledi Polyomviridae, s velikostí genomu přibližně 5 kb. KIPyV a WUPyV jsou detekovány zejména u dětí s respiračním onemocněním a u imunosuprimovaných pacientů. Přenos se odehrává inhalací nebo kontaminovanými předměty.
 Je pravděpodobně celoživotní persistence.
 Předpokládá se, že vyvolávají onemocnění dýchacího traktu s maximálním výskytem do 5% nemocných v běžné populaci; po HSCT jsou detekovány s výskytem přibližně 26% pro KIPyV a 8% u WUPyV. KIPyV a WUPyV jsou ovšem detekovány i u osob bez respiračních symptomů.



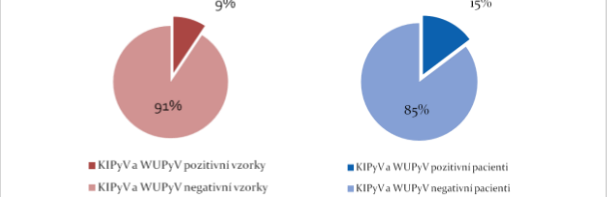
Lidský bocavirus (HBoV) byl popsán ve Švédsku v roce 2005 ve vzorcích z nosořtanu od asymptomatických pacientů a pacientů s infekcí dalšími viry.
 Patří do čeledi Parvoviridae a má ss DNA o velikosti přibližně 5 kb a je podobný psím a boviním parvovirům z kmene Bocavirus.
 Vyskytuje se až u 20% pacientů s respiračním a GIT onemocněním - především u dětí. Detekován byl nicméně i u asymptomatických pacientů.
 Primární infekce probíhá v dětství do 6. roku věku.
 Býl detekován nejen ve vzorcích respirační tkáně a stolici, ale také v sáru, tonsilách, slinách, moči. Přenos viru je neznámý - většina parvovirů se ale přenáší inhalací, kontaktem s infikovanou stolicí, sputem, nebo močí. Pravděpodobně může persistovat několik měsíců po infekci - ve sliznici, či lymfatické tkáni (např. tonsily).
 V roce 2009-10 objeveny další typy HBoV, dnes HBoV1-4.
 HBoV-1 - je detekován ve všech věkových kategoriích, ale převážně u dětí s respiračním onemocněním.
 HBoV 2-4 se vyskytuje převážně ve stolici, vzácněji i v respiračních vzorcích. S gastroenteritidou je asociovan zejména HBoV2.
 Prevalence HBoV typů je v posloupnosti 1 > 2 > 3 > 4.



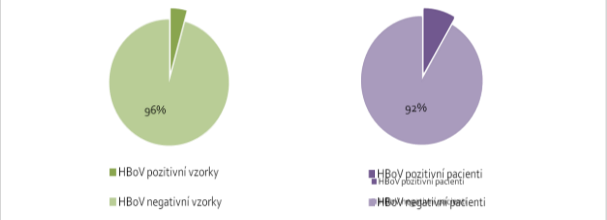
Závěr:
 Studie potvrdila výskyt polyomavirů WUPyV (1%), KIPyV (19%) a HBoV (9%) i v české populaci a to u dětských i dospělých imunosuprimovaných pacientů. K bližšímu osvětlení jejich patofyziologického účinku však bude třeba, s ohledem na komplikovanost studovaných pacientů, získat k testování větší skupinu pacientů a nejlépe v prospektivní studii získat data o co největším počtu virových agens v dýchacích cestách těchto pacientů.



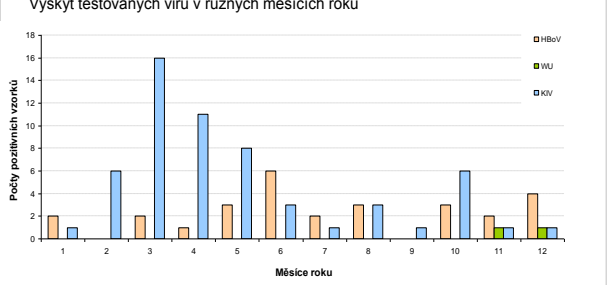
Výskyt virů není u dětské populace vyšší než u dospělých (Chi-kvadrát test p=0,336). U infikovaných dětí a dospělých byl detekován vždy jeden z virů.
 KIPyV byl detekován v 58 vzorcích (8,9%) od 42 pacientů (7 dětských (20%) a 35 dospělých (13,3%); medián detekované kvantitativní 1,9x10⁹/ml vzorku (rozmezí 1,5x10⁹/ml - 4,25x10⁹/ml).
 WUPyV byl detekován u 2 vzorků (0,3%) od 2 pacientů (1 dětský a 1 dospělý) s detekovanou kvantitou 8,9x10⁹/ml a 2,1x10⁹/ml.



HBoV byl detekován v 28 vzorcích (4,3%) od 25 pacientů (3 dětských (8,5%) a 22 dospělých (8,4%) s mediánem detekované kvantitativní 3,2x10⁶/ml vzorku (rozmezí 5,0x10⁵/ml - 1,58x10⁹/ml).



U dvou vzorků jsme detekovali zároveň přítomnost KIPyV a HBoV.



Rozložení výskytu testovaných virů v průběhu roku naznačuje vyšší výskyt KIPyV v době od března do června, kdy je již detekce tradičních respiračních virů, které jsou zpravidla RNA, vzácnější. Výsledky však budeme ještě ověřovat a to zejména v nadcházející sezóně respiračních infekcí 2013-2014.

Příloha je podpořena projektem institucionální podpory rozvoje výzkumné organizace 00064203 MZ ČR.

Příloha 2: Poster prezentovaný na XXIII. Konferenci dětských hematologů a onkologů České a Slovenské republiky, 25. – 27. Října 2013 – Ostrava