

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Dizertační práce

Plzeň 2024

Petr Drenko

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Vnitřní nemoci

Infekční nemoci a jejich vliv na rozvoj a progresi dysfunkce
renálního štěpu

Optimalizace preventivního přístupu k virovým infekcím

Infectious diseases and their impact on the development and
progression of renal graft dysfunction

Optimizing the preventive approach to viral infections

Dizertační práce

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Reischig, Ph.D.

Plzeň 2024

MUDr. Petr Drenko

Obsah

Seznam použitých zkratk	4
Abstrakt	7
Abstract	8
1 Obecná část	9
1.1 Úvod	9
1.2 Stratifikace infekcí dle potransplantačního období	11
1.2.1 Časné potransplantační období	11
1.2.2 Přechodné a pozdní potransplantační období	12
1.3 Prevence infekčních komplikací	12
1.3.1 Vakcinace	12
1.3.2 Antimikrobiální prevence	13
1.4 Bakteriální infekce	14
1.4.1 Infekce močových cest	14
1.4.2 Respirační infekce	16
1.4.3 Infekce způsobené Clostridium difficile	17
1.5 Infekce Pneumocystis jiroveci	17
1.6 Virové infekce	19
1.6.1 Cytomegalovirová infekce	19
1.6.2 BK polyomavirová infekce	24
1.6.3 EBV infekce a potransplantační lymfoproliferativní onemocnění	26
1.6.4 Infekce virem hepatitidy B	28
1.6.5 Infekce virem hepatitidy C	30
1.6.6 Infekce virem herpes simplex	32
1.6.7 Infekce virem varicella-zoster	33
1.6.8 Infekce lidským herpesvirem 6 a 7	34
1.6.9 SARS-CoV-2 infekce a COVID-19	35
2 Praktická část	41
2.1 Nedostatečná odpověď k SARS-CoV-2 mRNA vakcinaci a vysoký výskyt závažné formy COVID-19 u příjemců transplantované ledviny	41
2.2 Účinnost a bezpečnost jedné a dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín u pacientů po transplantaci ledviny	49
2.3 Profylaxe valganciklovirem versus preemptivní přístup u pacientů po transplantaci ledviny	60
3 Reference	77

Seznam použitých zkratk

ALA	antilymphocyte antibody
AKI	acute kidney injury
ATG	antithymocyte globulin (thymoglobulin)
ATN	acute tubular necrosis
CMV	cytomegalovirus
CI	confidence interval
CKD	chronic kidney disease
COVID-19	coronavirus disease 2019
D	donor
DAA	direct-acting antiviral agents
DSA, dnDSA	donor-specific antibody; de novo donor-specific antibody
ELISpot	enzyme-linked immunospot
HR	hazard ratio
HLA	human leukocyte antigens
IFN- γ	interferon gamma
IF/TA	interstitial fibrosis and tubular atrophy
IL-2	interleukin 2
IVIG	intravenous immunoglobulin
MFI	mean fluorescent intensity
mRNA	messenger RNA
OR	odds ratio
PBMCs	peripheral blood mononuclear cells
PCR	polymerase chain reaction
PTLD	post-transplant lymphoproliferative disorder
PVAN	polyomavirus-associated nephropathy
R	recipient
RBD	receptor binding domain
RRT	renal replacement therapy
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
S	spike protein
SFC	spots forming cells
SVR	sustained virological response
TMP-SMX	trimethoprim-sulfamethoxazol

VNA	virus neutralizing antibody
VNT	virus neutralization test

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím se zapůjčováním této práce.

V Plzni, 26.2. 2024

Jméno: MUDr. Petr Drenko

Podpis:

Abstrakt

Infekční nemoci a jejich vliv na rozvoj a progresi dysfunkce renálního štěpu

Infekční onemocnění představují významný rizikový faktor morbidity a mortality příjemců orgánových transplantací. U pacientů po transplantaci ledviny jsou infekční komplikace nejčastější příčinou úmrtí s funkčním štěpem.

Cytomegalovirová infekce (CMV) patří mezi nejčastěji se vyskytující oportunní infekce po transplantaci solidních orgánů. I přes novodobé rutinní užití preventivních opatření znamená CMV infekce u příjemců transplantované ledviny vyšší riziko selhání funkce štěpu a mortality. Kromě přímého působení má CMV také imunomodulační schopnost, která je spojena se zvýšeným rizikem zejména T-lymfocyty zprostředkované a pravděpodobně i protilátkami zprostředkované rejekce štěpu, přičemž oba tyto procesy limitují jeho dlouhodobé přežívání. Dvě hlavní strategie prevence CMV zahrnují (1) univerzální profylaxi s léčbou všech rizikových (dle serostatusu dárce-příjemce) pacientů antivirovými léky a (2) preemptivní přístup založený na monitoraci CMV a léčbě pouze vybraných pacientů s významnou virovou replikací (DNAemií). Současná mezinárodní doporučení považují obě strategie u pacientů po transplantaci ledviny za ekvivalentní, a to i v případě vysoce rizikové podskupiny seronegativních příjemců štěpu od seropozitivních dárců (D+R-). Prezentuji randomizovanou studii „OVERT“ z našeho transplantčního centra, která přímo srovnává profylaxi valganciklovirem s preemptivním přístupem u příjemců transplantované ledviny z pohledu účinnosti redukce nepřímých dopadů CMV. Rozdíl v incidenci akutní rejekce štěpu v 1 roce po transplantaci nebyl mezi oběma přístupy statisticky významný. Profylaxe však významně snížila riziko výskytu subklinické rejekce ve 3 měsících. Přestože byly oba přístupy stejně účinné v prevenci CMV nemoci, výskyt CMV DNAemie (včetně epizod s vyšší virovou náloží) byl významně vyšší v preemptivní skupině.

Pacienti po transplantaci ledviny jsou ve vysokém riziku onemocnění coronavirus disease 19 (COVID-19), které způsobuje koronavirus 2. typu způsobující těžký akutní respirační syndrom (SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), s těžkým průběhem a vysokou mortalitou. Navzdory základní a adjuvantní SARS-CoV-2 vakcinaci zůstává značný počet transplantovaných pacientů bez kýžené protilátkové odpovědi odpovídající seroprotekci. Prezentovaná randomizovaná studie hodnotí účinnost a bezpečnost jedné versus dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín u pacientů s ledvinným štěpem ve snaze optimalizovat adjuvantní vakcinační schéma. V této práci jsme ukázali, že sekvenční podání dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín je bezpečné a významně zvyšuje míru pozitivní protilátkové odpovědi u pacientů po transplantaci ledviny oproti jedné posilující dávce.

Klíčová slova: příjemci transplantované ledviny, infekce, cytomegalovirus, SARS-CoV-2, prevence, vakcinace

Abstract

Infectious diseases and their impact on the development and progression of renal graft dysfunction

Infectious diseases represent a significant risk factor for morbidity and mortality among organ transplant recipients. In renal transplant recipients, infectious complications are the most common cause of death with preserved graft function.

Cytomegalovirus (CMV) infection is one of the most common opportunistic infections after solid organ transplantation. Despite the routine use of modern preventive measures, CMV infection puts kidney transplant recipients at higher risk of graft failure and mortality. In addition to direct action, CMV also has an immunomodulatory ability that is associated with an increased risk of T-lymphocyte-mediated and possibly antibody-mediated graft rejection in particular, both of which limit long-term allograft survival. The two main strategies for CMV prevention include (1) universal prophylaxis with treatment of all patients at risk (according to donor-recipient serostatus) with antiviral drugs and (2) preventive therapy based on CMV monitoring and treatment of only selected patients with significant viral replication (DNAemia). The current International Consensus Guidelines consider both strategies equivalent in patients after kidney transplantation, even in the high-risk subgroup of seronegative recipients from seropositive donors (D+R-). Here we present the randomized "OVERT" trial from our transplant center that directly compares valganciclovir prophylaxis with a preemptive approach in kidney transplant recipients in terms of efficacy in reducing the indirect effects of CMV. The difference in the incidence of acute graft rejection at 1 year was not statistically significant between the both regimens. However, prophylaxis was associated with a lower risk of subclinical rejection at 3 months. Although both regimens were effective in preventing CMV disease, the incidence of CMV DNAemia (including episodes with higher viral loads) was significantly higher with preemptive therapy.

Kidney transplant patients are at high risk of coronavirus disease 19 (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2), with a severe course and high mortality. Despite standard and adjuvant SARS-CoV-2 vaccination, a significant number of solid organ recipients remain without a satisfactory serological response. The presented randomized trial evaluates the efficacy and safety of one and two booster doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine in renal allograft patients in an effort to optimize the adjuvant vaccination schedule. In this study, we showed that sequential administration of two booster doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine is safe and significantly increases the rate of positive antibody response in renal transplant patients compared to a single booster dose.

Key words: kidney transplant recipients, infection, cytomegalovirus, SARS-CoV-2, prevention, vaccination

1 Obecná část

1.1 Úvod

Infekční nemoci jsou jedním z hlavních „pilířů“ morbidity a mortality pacientů po orgánových transplantacích. U příjemců transplantované ledviny jsou infekční komplikace vůbec nejčastější příčinou úmrtí s funkčním štěpem.¹ Riziko infekční komplikace u pacienta po transplantaci je determinováno synergií dvou hlavních faktorů: (1) epidemiologické expozice jedince a (2) „net state of immunosuppression“, který vyjadřuje míru uplatnění všech rizikových faktorů, které predisponují jedince k dané infekci.² Identifikace a korekce jakéhokoliv modifikovatelného rizikového faktoru je pro prevenci a léčbu infekce zásadní. Rozdělení potransplantačního průběhu na tři časová období, která jsou orámovaná rizikem výskytu specifických infekčních agens, je užitečným podkladem pro diferenciální diagnostiku infekčních syndromů: (1) časně období (první měsíc), (2) přechodné období (1-6 měsíců), a (3) pozdní období, tj. delší než 6-12 měsíců.³

Viry, zejména pak CMV, představují díky své schopnosti přímého (klinické syndromy specifické pro daný virus) a především nepřímého (imunomodulační, imunosupresivní, onkogenní, aterogenní efekt) působení významnou podskupinu infekčních patogenů u příjemců orgánových transplantací.⁴ Cytomegalovirová infekce patří mezi nejčastější oportunní infekce po transplantaci solidních orgánů.⁵ Před příchodem antivirotik jsme u pacientů, u nichž se rozvinulo CMV onemocnění, pozorovali vyšší výskyt ztráty funkce štěpu, dalších oportunních infekcí a mortality přímo asociované s CMV. Díky moderním diagnostickým, preventivním a léčebným metodám je závažné CMV onemocnění vzácnou situací. Bohužel i asymptomatická replikace (DNAemii) CMV má potenciál vyvolat svými imunomodulačními účinky dysfunkci štěpu a významně zkrátit dobu jeho přežívání.⁶⁻⁸ Prevence CMV a snaha omezit jeho nepřímé dopady na minimum tvoří kritickou část potransplantačního managementu. Současná International Consensus Guidelines považují dvě hlavní strategie (univerzální profylaxi a preemptivní přístup) v prevenci CMV u pacientů po transplantaci ledviny za rovnocenné, a to i v případě velmi rizikové podskupiny seronegativních příjemců štěpů od seropozitivních dárců (D+R-).⁹ Univerzální profylaxe je založena na antivirové léčbě všech pacientů v riziku (všech serovariant kromě D-R-pacientů). Preemptivní přístup zahrnuje pravidelnou monitoraci CMV a léčbu pouze vybraných pacientů se signifikantní virovou replikací (CMV DNAemii).¹⁰⁻¹⁵ Preemptivní léčba umožňuje rozvoj časně asymptomatické CMV DNAemie s možnými nepřímými účinky CMV infekce, mezi které patří mimo jiné i akutní rejekce štěpu.¹⁵ Současně však epizody CMV viremie kontrolované preemptivní léčbou pomáhají posílit CMV specifickou imunitu u pacientů D+R- a zabránit rozvoji CMV nemoci v pozdním potransplantačním období.¹⁶ Pozdní CMV infekce (late onset CMV) či myelotoxicita spojené s univerzální profylaxí s sebou nesou nepříznivé výsledky.^{17,18} Profylaxe vedená valciklovirem znamená ve srovnání s valganciklovirem pro pacienta vyšší denní zátěž tabletami (2 g 4×denně) a vyšší riziko výskytu fibrózy štěpu ve 3 letech po transplantaci.¹⁵ V této práci proto uvádím randomizovanou studii, která byla navržena tak, aby přímo porovnála profylaxi vedenou valganciklovirem s preemptivním přístupem u

pacientů po transplantaci ledviny z pohledu účinnosti redukce nepřímých dopadů CMV. Primárním cílem studie byla incidence akutní rejekce štěpu ve 12 měsících po transplantaci diagnostikovaná pomocí protokolárních biopsie. Studie současně zahrnovala analýzu výskytu CMV nemoci a CMV DNAemie, rezistence na ganciklovir, CMV specifické T-buněčné imunity, subklinické rejekce diagnostikované protokolární biopsií ve 3 měsících, rozvoj de novo dárcovsky-specifických protilátek (DSA), renální funkce a přežití štěpu, dalších infekcí nebo popis logistických aspektů, které jsou pro aplikaci preemptivní terapie klíčové.

Pacienti po transplantaci ledviny jsou ve vysokém riziku onemocnění coronavirus disease 19 (COVID-19), které způsobuje koronavirus 2. typu způsobující těžký akutní respirační syndrom (SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), s těžkým průběhem a vysokou mortalitou.¹⁹⁻²¹ Během „zimní vlny“ pandemie COVID-19 začátkem roku 2021 byla v našem regionu 7denní incidence onemocnění 1050/100000 obyvatel.²² Publikovaná data zdůrazňují význam seroresponse včetně přítomnosti virus neutralizační aktivity v otázce ochrany proti COVID-19 s těžkým průběhem.²³ Po základní (dvoudávkové) vakcinaci dosáhlo pozitivní protilátkové odpovědi pouze 16-38 % příjemců transplantované ledviny.²⁴⁻²⁶ Dalších 33 – 49 % reagovalo serokonverzí po dávce třetí.²⁷⁻³⁰ Čtvrtá dávka SARS-CoV-2 vakcíny je u příjemců transplantované ledviny bezpečná, avšak potenciál posílit titr protilátek na úroveň neutralizační aktivity má pouze u marginální části pacientů (19-42 %), kteří nereagovali adekvátně na dávku třetí.³¹⁻³³ V praktické části práce se zabývám nejprve randomizovanou studií, která srovnává výskyt a průběh COVID-19 u očkovaných a neočkovaných pacientů z našeho transplantačního centra, a současně skrze prospektivní kohortu hodnotí protilátkovou odpověď vakcinovaných pacientů ve srovnání s pacienty, kteří se zotavili z COVID-19. Navazující studie pak měla posoudit účinnost a bezpečnost jedné a dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín u pacientů po transplantaci ledviny. Primárním cílem této studie byl rozdíl v míře pozitivní protilátkové odpovědi (SARS-CoV-2 IgG) mezi jednou a dvěma posilujícími dávkami v sekvenčním podání čtyři týdny po ukončení vakcinace. Sekundární cíle zahrnovaly hodnocení positivity virus neutralizačních protilátek (VNA), výše titrů SARS-CoV-2 a VNA, nežádoucích účinků, monitoraci dnDSA, monitoraci výskytu COVID-19 a přímé srovnání hodnocených parametrů mezi jednou a dvěma booster dávkami, a současně mezi oběma typy mRNA vakcín (mRNA-1273 vs. BNT162b2).

Obecná část této práce se věnuje rekapitulaci vybraných infekčních onemocnění, zejména pak virových, se zaměřením na novodobé poznatky v oblasti diagnostiky, prevence a léčby. V praktické části pak dokumentují snahu o optimalizaci preventivního přístupu k CMV a SARS-CoV-2 u pacientů po transplantaci ledviny skrze randomizované studie z našeho transplantačního centra FN Plzeň.

1.2 Stratifikace infekcí dle potransplantačního období

1.2.1 Časné potransplantační období

Tuto skupinu (během prvního měsíce po transplantaci) infekčních komplikací tvoří dva základní pilíře: (1) preexistující infekce dárce nebo příjemce a (2) infekce spojené s chirurgickým zákrokem a navazující hospitalizací. Během prvního měsíce po transplantaci se oportunní infekce prakticky nevyskytují, protože se doposud neměl možnost plně projevit účinek exogenní imunosuprese. Povaha peritransplantační péče determinuje charakter infekčních komplikací v časném období. Časné infekce mnohdy reflektují technické chirurgické problémy (hematom, urinom, lymfokéla, striktury, zhmoždění). Invazivní procedury narušující přirozenou bariéru organismu jsou spojené s vyšším rizikem zejména nozokomiální infekce s polyrezistentními mikrobiálními kmeny. Pacienti se zavedenými ureterálními stenty, katetrizací močového měchýře nebo centrálního žilního řečiště, reperfučním poškozením tkáně, nebo ti, kteří vyžadují dlouhodobou ventilační podporu jsou také v riziku rozvoje nozokomiální infekce.³⁴ Efektivní přístup vyžaduje časnou a přesnou diagnostiku následovanou terapeutickým (invazivním či konzervativním) zásahem. Problematická může být diferenciální diagnostika febrilií či laboratorní elevace zánětlivých parametrů (CRP). Zde je nutné pomýšlet i na neinfekční příčiny zvýšené teploty či markerů zánětu, jako je akutní rejeckce ledvinného štěpu, ischemicko-reperfuční poškození s těžkou akutní tubulární nekrózou (ATN), nebo např. proinflamatorní dysregulace (cytokinová bouře) v reakci na podání deplečních protilátek (thymoglobulin, ATG).

Důležitou problematiku představují infekce, a jejich následná aktivace, pocházející z dárcovského orgánu. Nejčastěji se tyto infekce vyskytují v rámci transplantované tkáně v tzv. latentní podobě (např. CMV, TBC, HIV). K transmisi může také dojít v době aktivní infekce s doprovodnou bakteriemií/viremií dárce v době alokace transplantátu. Potenciální dárce štěpu může být také infikovaný nozokomiálním bakteriálním kmenem v rámci hospitalizační dárcovské přípravy.^{35,36} Běžné bakteriální infekce včetně septikemie nepředstavují, při kvalitní diagnostice a cíleném antimikrobiálním zajištění dárce a následně příjemce, kontraindikaci k transplantaci.³⁷ Zlatým standardem uplatňujícím se ve screeningu infekčních komplikací u potenciálních dárců, ale i příjemců, jsou serologické metody založené na detekci protilátek.³⁸ Limitace serologických testů z jejich podstaty nastává v době akutní peritransplantační virové infekce či např. lues (syfilis). V těchto případech je nasnadě rozšířit diagnostické úsilí o detekci nukleových kyselin metodou polymerázové řetězové reakce (PCR), případně akceptovat rizikového dárce.³⁹ Většina transplantčních center má ve zvyku provádět screening závažných přenosných infekčních onemocnění u dárce i příjemce; mezi standardně testované patogeny patří virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV), virus hepatitidy B (HBV) a C (HCV), CMV, virus Epstein-Barrové (EBV), lues (syfilis), nebo tuberkulóza společně s bakteriologickým a mykologickým screeningem.⁴⁰ Tímto způsobem lze tak získat základní mikrobiální status dárce a příjemce, který je určující nejen pro alokaci graftu, ale také pro volbu preventivního přístupu v potransplantačním období. Je nutné upozornit, že s rizikem přenosu některých vybraných patogenů od dárce je zapotřebí počítat a za specifických

preventivních/léčebných kautel jsou akceptovatelné. Typickým příkladem je jistě cytomegalovirová (CMV) infekce. Současně na rozdíl od let minulých se stále více využívají dárce infikovaní HBV, kteří jsou anti-HBcAg pozitivní a anti-HBsAg negativní pro příjemce v minulosti očkované či infikované. Předpokladem je řádné preventivní antivirové zajištění příjemce.⁴¹⁻⁴³ Současně HCV pozitivita dárce není pro alokaci kontraindikací (HCV + příjemce).⁴⁴

1.2.2 Infekce v přechodném (1-6 měsíců) a pozdním (> 6-12 měsíců) potransplantačním období

V tomto období jsou pacienti, díky často naplno vyjádřenému efektu imunosuprese, nejvíce ohroženi rozvojem oportunních infekcí.³ Ve výskytu oportunních infekcí během prvních šesti měsíců po transplantaci existují značné geografické a institucionální rozdíly. Míra rizika pro uplatnění specifického patogena je výsledkem místní epidemiologie, imunosupresivní strategie a specifické antimikrobiální profylaxe používané v peri/potransplantačním období. Užití polyklonálních deplečních protilátek (ATG, thymoglobulin) v imunosupresivním režimu představuje zvýšené riziko vzniku oportunních infekcí (včetně CMV nemoci), ale i bakteriálních infekcí, ve srovnání s antagonisty IL-2 receptorů (IL-2RAs, např. basilixamb).^{45,46} Rutinně užívaná profylaxe kotrimoxazolem (sulfamethoxazol-trimethoprim, TMP-SMX) eliminuje riziko vzniku dříve popisované pneumonie způsobené *Pneumocystis jirovecii*. Současně v denním dávkování zabraňuje vzniku infekce *Toxoplasma gondii* a snižuje riziko výskytu infekcí močových cest (viz dále), meningitidy vyvolané *Listeria monocytogenes* a dalších infekcí vyvolaných druhu *Nocardia*.^{47,48} Herpetické infekce se v jejich typické symptomatologii objevují, za předpokladu dobře vedeného preventivního přístupu s užitím antivirové léčby, u pacientů po orgánových transplantacích jen zřídka.⁴⁹ Naopak výskyt CMV DNAemie po ukončení univerzální profylaxe (late onset CMV) představuje významný rizikový faktor ovlivňující dobu přežívání štěpu a mortalitu pacienta.⁵⁰ V chronickém sledování se častěji setkáváme s běžnými komunitními i nozokomilánými bakteriálními i virovými patogeny. I zde však může přetrvávat riziko oportunní infekce zejména pak při nutnosti posílení imunosuprese z rozličných důvodů (např. rejekční epizody).

1.3 Prevence infekčních komplikací

1.3.1 Vakcinace

Velký význam v prevenci infekčních komplikací má aktivní imunizace.⁵¹ Očkování snižuje riziko těžkého průběhu infekčních onemocnění i mortalitu pacientů. Optimálně by měla být vakcinace vedena, pro vysoké riziko selhání serokonverze v rámci imunosupresivní terapie v potransplantačním období, již před transplantací.^{52,53} Imunizace by měla být zahájena, i dle doporučení, ještě před vstupem do dialyzačního programu v pokročilých fázích chronického onemocnění ledvin (CKD). Období dialýzy je oproti predialýze rizikovým faktorem nedostatečné imunitní odpovědi na vakcinaci. Proto platí pro dialyzované pacienty specifická vakcinační schémata (vyšší jednotlivá

dávka, větší počet dávek). Zvláštní důraz je u dialyzované populace kladen na vakcinaci proti hepatitidě B, chřipce a pneumokokům.⁵⁴ Zároveň však platí pravidlo, že pro pacienty v predialýze či dialýze není kontraindikovaná žádná z vakcín, které jsou doporučeny pro obecnou populaci.

Pacienti v predialýze (CKD 4-5 dle KDIGO) mají být očkováni proti hepatitidě B adjuvantní vakcínou ve schématu 0-1-2-6 měsíců. Pokud není vakcinace dokončena před zahájením dialýzy, má být provedena/dokončena co nejdříve ve stejném schématu. Účinnost vakcinace se ověřuje vyšetřením anti-HBsAg jeden měsíc po dokončení schématu. V případě negativního titru se vakcinační schéma opakuje. Dále se titr protilátek vyšetřuje u těchto pacientů jednou za rok. Pacienti v predialýze (CKD 4-5) a pacienti léčení dialyzačními procedurami mají být každoročně očkováni inaktivovanou vakcínou proti chřipce. Jedná se o tetravalentní vakcínu obsahující inaktivované splity čtyř kmenů chřipkových virů. Na základě nových benefitních klinických dat je aktuálně upřednostňovaná vysokodávková tetravalentní (60 µg antigenů jednotlivého kmene) vakcína oproti původní nízkodávkové (15 µg antigenů jednotlivého kmene).⁵⁵⁻⁵⁷ Současně osoby sdílející s dialyzovanými pacienty společnou domácnost, rodina/pečovatelé a zaměstnanci institucí, které se o dialyzované nemocné starají, mají být každoročně proti chřipce očkováni. Pacienti v predialýze (CKD 4-5) mají být očkováni polyvalentní konjugovanou pneumokokovou vakcínou (PCV13) a s odstupem nejméně osmi týdnů nekonjugovanou polysacharidovou vakcínou (PPSV23). Není-li nemocný očkován v predialýze, provede se vakcinace ve stejném schématu v rámci dialyzační péče. Pět let po druhé dávce má být provedeno přeočkování PPSV23. U pacientů v predialýze (CKD 4-5) a dialyzovaných pacientů, kteří jsou starší 50 let, má být zvažena vakcinace proti herpes zoster. Očkování proti tetanu a dalším infekcím se má řídit pravidly platnými pro obecnou populaci a pro předem definované rizikové skupiny.

Pacienti po transplantaci ledviny jsou ve vysokém riziku neúspěšné serokonverze.^{22,24-33} Všichni příjemci transplantované ledviny mají každoročně podstoupit vakcinaci neživou vakcínou proti chřipce. Jejich blízké kontakty a pečující zdravotníci mají být rovněž očkováni proti chřipce. Všichni příjemci mají být očkováni proti pneumokoku vakcínou PCV13 a PPSV23. Opakovaná dávka nekonjugované pneumokokové vakcíny má být podána pacientům starším 65 let. Doporučuje se také zvažít očkování proti herpes zoster inaktivovanou adjuvantní vakcínou 6-12 měsíců po transplantaci. U pacientů po transplantaci ledviny je doporučené očkování SARS-CoV-2 vakcínami v základním a optimalizovaném adjuvantním schématu s cílem dosažení kýžené humorální response.^{53,54,58,59}

1.3.2 Antimikrobiální prevence

Volba a schéma podávané antimikrobiální profylaxe v peri/potransplantačním období koreluje s individuálním rizikem nemocného k dané infekci. Pneumocystis jiroveci je známým patogenem plicních infekcí (pneumonií) u imunosuprimovaných pacientů. Před rutinním užitím profylaxe kotrimoxazolem (TMP-SMX) činil výskyt infekce zhruba 10-

15 % u příjemců solidních orgánů. V populaci pacientů po transplantaci plic se uvádí až 88 % výskyt.^{60,61} Profylaxe TMP-SMX prakticky eradikovala tento organismus jakožto příčinu významné morbidity a mortality transplantovaných pacientů. V profylaxi se užívá nízkodávkovaný kotrimoxazol (trimethoprim-sulfamethoxazol, 80 mg + 400 mg) v jedné denní dávce s případnou redukcí dle renální funkce. Délka profylaxe TMP-SMX je doporučena po dobu 6-12 měsíců po transplantaci.⁶² U pacientů po transplantaci ledviny je využíván zkrácený režim na čtyři měsíce. Nespornou výhodou tohoto antibiotika je nízká cena a nízká toxicita u většiny pacientů. Dále je také TMP-SMX v denním dávkování účinný v prevenci dalších běžných močových, respiračních a gastrointestinálních infekcí, nebo některých infekcí způsobených *Toxoplasma*, *Listeria* a *Nocardia species*. Na základě pretransplantační „typizace“ CMV serostatusu u dárce a příjemce a zvyklosti konkrétního transplantačního centra je volen způsob preventivního přístupu k CMV. U všech pacientů v riziku, s výjimkou anamnesticky seronegativního dárce a příjemce (D-R-), je indikovaný jeden ze dvou doporučených režimů. Jak již bylo dříve zmíněno, International Consensus Guidelines považují univerzální profylaktický a preemptivní přístup u pacientů po transplantaci ledviny a jater za ekvivalentní, a to včetně vysoce rizikové skupiny seronegativních příjemců od seropozitivních dárců (D+R-).⁹ Profylaktický přístup představuje zajištění všech pacientů v riziku antivirovou léčbou. Preemptivní přístup je založený na pravidelné monitoraci CMV replikace (DNAemie) s případnou antivirovou léčbou v terapeutické dávce pouze vybraných pacientů se signifikantní virovou replikací.⁹⁻¹⁵ Každý z režimů má své slabiny, které mohou mít negativní dopad nejen na vývoj funkce renálního štěpu ale celkovou morbiditu pacienta. Virus Epstein-Barrové (EBV) je spojen s rizikem rozvoje potransplantačního lymfoproliferativního onemocnění (PTLD). PTLD se objevuje u příjemců zhruba do 1 % a její závažnost se pohybuje od „benigní“ polyklonální lymfocytózy po vysoce maligní lymfomy.^{63,64} Ideální strategie prevence PTLD doposud nebyla stanovena, ačkoliv se zdá, že redukce síly imunosuprese riziko vzniku PTLD snižuje. V rámci udržovací léčby betalceptem byl pozorován výrazný výskyt PTLD, zejména pak u EBV seronegativních příjemců.⁶⁵ U vysoce rizikové skupiny pacientů (D+R- a děti) by mělo být prováděno rutinní sledování. Pacienti, kterým není podáván ganciklovir či valaganciklovir v profylaxi CMV, by měli být zajištěni antivirovou profylaxí proti viru herpes simplex a varicella-zoster během prvních 1-3 měsíců plus další měsíc v případě lymfodepleční antirejekční terapie.⁴⁹ Možnosti antivirové léčby/profylaxe cílené proti hepatitidě B a C umožňují navýšit transplantační pool této dříve rizikové, specifické skupiny pacientů. Nutností je však dokonalé zmapování serologického statusu dárců a příjemců doplněného o detekci nukleových kyselin v indikovaných případech.

1.4 Bakteriální infekce

1.4.1 Infekce močových cest

Infekce močového traktu (UTI) patří mezi vůbec nejčastější infekce u pacientů po transplantaci ledviny.⁶⁶ UTI může být asociovaná s konkomitací

bakteriemií, zhoršenou funkcí štěpu z různých příčin (např. sepse/septický šok či akutní rejekce zprostředkovaná T-lymfocyty) a zvýšeným rizikem hospitalizace a úmrtím pacienta. Mezi rizikové faktory UTI, dle několika epidemiologických studií, patří: ženské pohlaví, vyšší věk, rekurující UTI před transplantací, opožděný nástup funkce štěpu, transplantace od zemřelého dárce, katetrizace močového měchýře, přítomnost ureterálních stentů či základní diagnóza autozomálně dominantních polycystických ledvin (ADPKD).⁶⁷ Nejčastějšími uropatogeny jsou u příjemců ledviny, stejně jako u obecné populace, gramnegativní bakterie (56-90 %). Tím vůbec nejčastějším je tak *Escherichia coli*. Dalšími frekventně zastoupenými mikroorganismy jsou: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* nebo *Klebsiella oxytoca*. Druhy enterokoků se stávají v současné době významnými patogeny a mohou způsobovat 24-33 % močových infekcí. Ostatní grampozitivní mikroorganismy jsou v minoritním zastoupení (*Staphylococcus saprophyticus*, *Corynebacterium urealyticum*).⁶⁸ Nepřítomnost svěrače mezi transplantovaným močovodem a původním močovým měchýřem může pacienty predisponovat k rozvoji pyelonefritidy štěpu. Implantované ureterální stenty v průběhu transplantace nebo ledvinové cysty u pacientů s ADPKD mohou sloužit jako rezervoáry bakterií a predisponovat pacienty k recidivujícím UTI.⁶⁹ Klinicky se infekce močových cest může manifestovat jako prostá cystitida (dysurie, polakisurie, urgence, makrohématurie, suprapubická bolest) či komplikovaná infekce (teploty, zimnice, celková slabost, bolest v místě transplantátu). Někdy se však může pacient projevat „atypicky“ (zvýšená teplota, nevolnost, průjem). V případě podezření na infekci se zdrojem v močových cestách by mělo být provedeno kompletní vyšetření moči, včetně biochemismu a sedimentu, dále mikroskopické a kultivační vyšetření. Podezření na komplikovanou infekci (pyelonefritis štěpu) sdruženou s bakteriemií si současně žádá kultivační vyšetření krve. Některá data však udávají, že pouze 9 % pacientů s UTI má pozitivní mikrobiologický záchyt v krvi.⁶⁷ Po stanovení diagnózy je důležité vyselektovat pacienty s podezřením na možnou strukturální či funkční abnormitu močových cest provedením zobrazovacího vyšetření. Metodou volby v úvodu je ultrasonografie (USG) včetně dopplerometrického vyšetření.

V případě nekomplikované cystitidy je možné zahájit empirickou antibiotickou (ATB) léčbu v perorální formě, nejčastěji pak antibiotikem ze skupiny fluorochinolonů (ciprofloxacin) či širokospektrou penicilinovou řadou (amoxicilin-klavulanát), s následnou úpravou dle mikrobiologického záchytu.⁷⁰ Doba léčby cystitidy není jasná. Některá doporučení zohledňují čas po transplantaci. Pacienty do 6 měsíců od transplantace bychom měli léčit 10-14 dní, nemocné 6 a více měsíců od zákroku pak léčíme obvykle 5-7 dní. U příjemců ledviny, kteří se projevují pyelonefritidou štěpu, začínáme (často i pokračujeme) vždy intravenózní formou ATB. Volba se v úvodu opět řídí mikrobiologickou historií pacienta. V našem centru zahajujeme často terapii cefalosporinem III. generace (např. ceftriaxon).⁷⁰ Přesná doba trvání ATB terapie není opět přesně definovaná. Doporučená doba léčby pacienta s komplikovanou UTI je 14-21 dní. Všechna antibiotika je nutné, v případě jejich renální eliminace, upravit dle aktuální funkce štěpu.

Některá preventivní opatření napomáhají redukovat riziko vzniku močových infekcí v potransplantačním období. Výše zmíněný kotrimoxazol (TMP-SMX) snižuje riziko nejen plicních infekcí (pneumonií) způsobených *Pneumocystis jiroveci*, ale je současně preventabilní ve výskytu infekcí močového traktu.⁷¹ Antibiotická léčba či profylaxe u pacientů po transplantaci ledvin však dává možnost vzniku polyrezistentním mikrobiálním kmenům (např. ESBL), které jsou k léčbě TMP-SMX odolné. Je potřeba dodat, že rutinně užívaná antimikrobiální profylaxe nesnižuje riziko mortality nebo ztráty štěpu. Efekt profylaxe oproti placebo nebyl, s ohledem na riziko symptomatické UTI včetně pyelonefritidy štěpu v metaanalýze 6 randomizovaných studií, u pacientů po transplantaci ledviny reportován.⁷² Ureterální stenty, které se v rámci operačního výkonu běžně umísťují přes uretero-vesikální anastomózu, snižují riziko urologických komplikací (havně stenóza ureteru), na druhou stranu ale zvyšují riziko infekce močových cest a pravděpodobně i BK polyomavirové infekce. Časná extrakce uretrálního stentu (obvykle do 2-4 týdnů) po transplantaci může zabránit vzniku UTI.⁷³

V současné době nemáme k dispozici přesvědčivá data, která by podporovala význam monitorace a léčby asymptomatické bakteriurie v časném potransplantačním období. Monitorace asymptomatické bakteriurie a užití antibiotické léčby u pacientů po více než 2 měsících od transplantace ledviny nesnižuje riziko vzniku symptomatické močové infekce nebo rejeckce štěpu.⁷⁴ Naopak vede k riziku vzniku rezistentních bakteriálních kmenů a dalších infekčních komplikací včetně infekce *C. difficile*. Většina pacientů s asymptomatickou bakteriurií, která není léčená, dosáhne spontánní clearance bakteriurie.⁷⁴ Podobně by neměla být léčená asymptomatická kandidurie, pokud není pacient v riziku komplikace či progresu infekce (pacienti podstupující invazivní urologické procedury či pacienti s neutropenií). Doporučení týkající se monitorace a léčby asymptomatické bakteriurie do 2 měsíců od transplantace ledviny nejsou jednoznačná.^{70,72}

1.4.2 Respirační infekce

Plicní infekce je nejčastější formou dokumentované tkáňově invazivní infekce u imunokompromitovaných pacientů.^{75,76} U pacientů po transplantaci ledviny je jejich výskyt nejčastější v prvních šesti měsících po transplantaci s vrcholem kolem třech měsíců. Konkrétní přístup k léčbě plicní infekce je určen klinickým stavem pacienta, typem a stupněm imunosuprese, a dostupností specifické mikrobiologické diagnostiky. Riziko infekce konkrétními patogeny je u pacienta ovlivněno povahou jeho imunitního defektu. Pacienti s alterací humorální imunity jsou ohroženi bakteriemií a sinopulmonálními infekcemi způsobenými opouzdřenými bakteriemi (např. *Streptococcus pneumoniae*).⁷⁷ Kromě toho deficit humorální imunity brání rozvoji plně protektivní protilátkové odpovědi na očkování proti pneumokokům. Alterace T-buněčné imunity vede u pacienta po orgánové transplantaci k riziku rozvoje plicních infekcí vyvolaných „atypickými“ či intracelulárními patogeny (např. legionela, nocardia). Diferenciální diagnostika plicních infekcí je u imunomodulovaného pacienta široká. Mezi

nejčastější bakteriální komunitní patogeny patří: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, a další.⁷⁸ Nozokomiální pneumonie vznikají nejčastěji u pacientů s preexistujícím plicním onemocněním (např. chronická obstrukční plicní nemoc, bronchiektázie), při intubaci nebo po aspiraci.⁷⁹ Bakterie ze skupiny „ESKAPE“ (tj. *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella species*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter spp*) běžně kolonizují dýchací cesty, kůži, intravaskulární katetry nebo endotracheální trubice. Tyto mikroorganismy, běžně s multirezistentní dispozicí, jsou proto častými původci nozokomiálních plicních infekcí.⁸⁰ Na vzniku pneumonie se u této skupiny pacientů mohou podílet také grampozitivní organismy včetně streptokoků rezistentních na fluorochinolony nebo *S. aureus* rezistentní na meticilin (MRSA). Rozlišování mezi komunitními a nozokomiálními patogeny může být však méně významné ve světle narůstající antimikrobiální rezistence. V diferenciální diagnostice respiračních infekcí u pacientů po transplantaci ledviny a obecně u imunokompromitovaných pacientů je však nutné vedle bakteriálních původců zvažovat i virové, fungální či parazitární patogeny.

1.4.3 Infekce způsobené *Clostridium difficile*

Infekce způsobená *C. difficile*, grampozitivní anaerobní bakterií, je u hospitalizovaných transplantovaných pacientů pětikrát častější než u běžné populace. Infekce vyvolaná *C. difficile* postihuje 3-16 % příjemců ledviny, dominantně pak v časném potransplantačním období.⁸¹ Rizikové faktory pro vznik infekce jsou obdobné jako u obecné populace: recentní expozice antibiotické léčbě, hospitalizace či věk nad 65 let. Mezi specifická rizika patří léčba antithymocytárním globulinem (ATG) a hypogamaglobulinémií.⁸² Diagnóza se opírá o přítomnost typické symptomatologie (akutní průjemové onemocnění) a přítomnost toxinu *C. difficile* ve vzorku stolice.⁸³ Primární léčba perorálním vankomycinem nebo fidaxomicinem je doporučena pro nezávažné i závažné průběhy infekce. U fulminantních případů se doporučují vysoké dávky perorálního vankomycinu s intravenózním metronidazolem, případně zvažováním chirurgické intervence.⁸³ U příjemců solidních orgánů s vyšším rizikem recidivy infekce *C. difficile* lze navíc zvažovat podání bezlotoxumabu, lidské monoklonální protilátky proti toxinu B *C. difficile*.⁸⁴ V případě recidivy patří mezi možnosti léčby buď fidaxomicin, nebo prodloužené schéma perorálního vankomycinu. Vedle medikamentózní léčby by se v případě opakovaných recidiv měla zvažovat transplantace fekální mikrobioty, která se ukázala jako bezpečná a potenciálně užitečná u některých, ne však u všech transplantovaných pacientů.⁸⁵

1.5 Infekce *Pneumocystis jirovecii*

Přibližně 5 až 15 % pacientů, kteří podstoupí transplantaci solidního orgánu, při absenci adekvátní profylaxe, vyvine pneumocystovou pneumonii (PCP).⁸⁶ Nejnižší výskyt je u příjemců transplantované ledviny, naopak nejvyšší u příjemců plic a srdce.⁸⁷ Největší riziko výskytu PCP se projevuje do období mezi 1 a 6 měsíci po operaci (v případě neadekvátně vedené profylaxe). Vyšší riziko je u pacientů, kteří dostávají intenzivnější imunosupresivní režimy.⁸⁷

Závažné formy CMV nemoci byly v minulosti spojené s následnou PCP. Úspěchy v prevenci a časně diagnostice CMV tak zásadně přispěly k dramatickému snížení PCP.⁸⁸

Užívání glukokortikoidů v kombinaci s jinými imunosupresivy predisponuje příjemce k rozvoji PCP. Samotné užívání glukokortikoidů pravděpodobně nemá potenciál zvýšit riziko vzniku pneumocystové infekce.^{87,89} Glukokortikoidy predisponují ke vzniku PCP potlačením buněčné imunity a změnou plicního surfaktantu. Některá chemoterapeutika, jako je purinový analog fludarabin, který je spojen s hlubokou lymfopenií, má potenciál rozvoje PCP. Riziko pneumocystové infekce u pacientů užívajících mTOR inhibitory (sirolimus, everolimus) není jasné. Například v metaanalýze 15 studií, které zahrnovaly více než 37 000 příjemců solidních orgánů, bylo užívání inhibitorů mTOR spojeno s pozdním nástupem (> 1 rok po transplantaci) PCP.⁹⁰ Naproti tomu v case control study nebyl mezi 99 pacienty pozorován rozdíl ve výskytu PCP v závislosti na přítomnosti mTOR inhibitorů.⁹¹

Na riziko vzniku PCP u pacientů léčených monoklonální protilátkou anti-CD20 (rituximab) také není jednoznačný názor. Pacienti, kteří dostávali anti-CD20 léčbu bez konkomitantní chemoterapie či aditivních glukokortikoidů v letech 1998-2011 (z jednoho centra), atrahovali PCP ve 30 případech (90 % mělo hematologickou malignitu a 73 % dostávalo kromě rituximabu také glukokortikoidy).⁹² V následné studii zahrnující pacienty s B-buněčným lymfomem, kteří dostávali rituximab jako součást standardní chemoterapie v R-CHOP režim (cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin a prednison plus rituximab), byla kumulativní incidence PCP pouze 1,51 %.⁹³

Pneumocysta se přenáší vzdušnou cestou. K získání nové infekce dochází nejčastěji interpersonálním přenosem. U jedinců s normoreaktivním imunitním systémem dochází k asymptomatické kolonizaci plic, která může následně sloužit jako rezervoár pro šíření Pneumocysty na hostitele s oslabenou imunitou. Je běžné, že se u HIV negativních pacientů projevuje pneumocystová infekce v podobě pneumonie s mírným až středně těžkým průběhem. U některých pacientů je však možný i těžký průběh infekce s doprovodnou respirační kompromitací.⁹⁴ Laboratorně zvýšená hodnota laktát dehydrogenázy (LDH) v kontextu plicních infiltrátů bez jiné zjevné příčiny (např. hematologická malignita) by měla vzbudit podezření na pneumocystovou infekci. Beta-D-glukan je složkou buněčné stěny většiny hub, včetně Pneumocysty. Ačkoli sérový test na beta-D-glukan může být zvýšený u řady jiných mykotických infekcí, pokud je zvýšený, vyvolává rovněž podezření na PCP. V případě že je u pacienta s rizikovými faktory a klinickým/radiologickým nálezem svědčícím pro PCP zvýšená hodnota beta-D-glukanu, pak je třeba přistoupit ke specifické mikrobiologické a molekulární diagnostice. Typický radiologický obraz PCP u pacientů bez HIV tvoří difúzní, oboustranné intersticiální infiltráty. Definitivní diagnóza PCP vyžaduje identifikaci organismu v respiračních vzorcích (ideálně bronchoalveolární laváž, BAL) přímým fluorescenčním barvením pomocí monoklonálních protilátek nebo metodou PCR.⁹⁵

Před rutinním zavedením profylaxe kotrimoxazolem (TMP-SMX) činil výskyt infekce zhruba 10-15 % u příjemců solidních orgánů. V populaci pacientů po transplantaci plic se uvádí až 88 % výskyt pneumocystové infekce.^{60,61} V profylaxi se podává nízkodávkovaný kotrimoxazol (trimethoprim-sulfamethoxazol, 80 mg + 400 mg) v jedné denní dávce s redukcí dávky dle renální funkce. Délka profylaxe TMP-SXM je ve většině případů doporučena po dobu 6-12 měsíců po transplantaci a v případě nutnosti užití vysokých dávek kombinované imunosupresivní terapie (např. léčba rejekce štěpu). U pacientů po transplantaci ledviny je využíván zkrácený režim na čtyři měsíce. Příjemci transplantovaných plic obvykle dostávají celoživotní profylaxi.⁶²

Lékem volby PCP jakékoliv tíže u pacientů s negativním HIV státem je trimethoprim-sulfamethoxazol (TMP-SMX). Dávka TMP-SMX je pro pacienty s normální funkcí ledvin 15 až 20 mg/kg/den intravenózně nebo perorálně ve třech nebo čtyřech rozdělených dávkách.⁹⁶ Dávka se opět upravuje dle funkce renálního štěpu. Přechod z intravenózní na perorální formu byl měl být proveden až v situaci stabilizace klinického stavu pacienta a v případě funkčního gastrointestinálního traktu. U imunokompromitovaných pacientů bez HIV onemocnění je doporučena délka terapie TMP-SXM po dobu 21 dnů.⁹⁷ Zlepšení klinického stavu pacient by se mělo dostavit po zhruba 7 dnech léčby. Po ukončení léčby PCP by mělo být zváženo podávání sekundární profylaxe ve stejném dávkování jako v případě primární prevence pneumocystové infekce. Na rozdíl od HIV pacientů s PCP a pacientů bez HIV se závažným průběhem PCP, nemá adjuvantní užití glukokortikoidů jasné místo v léčebném doporučení. Omezená data nepodporují rutinní užití glukokortikoidů u pacientů bez HIV s PCP, kteří mají mírné až středně závažné onemocnění. V retrospektivní studii hodnotící výsledky 323 hospitalizovaných pacientů bez HIV, kteří měli pneumonii způsobenou *P. jirovecii*, nebyly zjištěny rozdíly v mortalitě, délce pobytu, přijetí na jednotku intenzivní péče, ani potřebě mechanické ventilace u 258 pacientů, kteří dostávali adjuvantní kortikosteroidy, oproti 65 pacientům, kteří je nedostávali.⁹⁸ Druhá retrospektivní studie 31 pacientů bez HIV s PCP rovněž nezjistila významný rozdíl v potřebě mechanické ventilace nebo úmrtnosti mezi skupinami léčenými a neléčenými glukokortikoidy.⁹⁹ Některá data však naznačují, že u závažného onemocnění mohou být glukokortikoidy prospěšné. V metaanalýze 16 retrospektivních observačních studií, která zahrnovala více než 2 500 případů PCP u pacientů bez HIV, byly kortikosteroidy spojeny s nižší mortalitou u pacientů s respiračním selháním.¹⁰⁰

1.6 Virové infekce

1.6.1 Cytomegalovirová (CMV) infekce

Cytomegalovirová (CMV) infekce patří k nejčastějším oportunním infekcím u pacientů po transplantaci solidních orgánů.^{4,5} Významné pokroky v diagnostice a léčbě CMV onemocnění umožnily výrazně snížit mortalitní data. Stejně jako u ostatních herpetických virů je CMV schopný po odeznění akutní (primární) infekce vytvořit latentní formu. Sekundární, symptomatické

CMV onemocnění se může později projevit v rámci reaktivace latentní formy, nebo méně často znamená reinfekci novým exogenním kmenem. CMV u příjemců transplantované ledviny probíhá buď jako CMV infekce, nebo jako CMV onemocnění. CMV infekce je definovaná přítomností CMV replikace (DNAemie) v krvi pacienta bez ohledu na přítomnost symptomů. CMV onemocnění se současně může projevit jako 1) syndrom (signifikantní CMV replikace/DNAemie + ≥ 2 znaky: febrilie, leukopénie, přítomnost ≥ 5 % atypických lymfocytů, trombocytopenie, elevace jaterních aminotransferáz na dvojnásobek horního limitu normy nebo nevysvětlitelná únava/slabost), a/nebo formou 2) tkáňově invazivního CMV onemocnění, které představuje významnou CMV DNAemii se známkami poškození konkrétní tkáň/organu (např. hepatitis, pancreatitis, pneumonie, colitis, retinitis, nephritis) a in situ průkazem CMV specifickými diagnostickými metodami (např. PCR, imunohistochemie, kultivace, histopatologie).^{5,9} Kromě přímých účinků (CMV onemocnění) existují i nepřímé dopady spojené nejen s CMV onemocněním, ale i s asymptomatickou viremii (CMV DNAemií). CMV potencuje imunitní odpověď na aloantigeny, která jednoznačně zvyšuje riziko výskytu epizod akutní rejekce štěpu nebo v dlouhodobém horizontu výskyt intersticiální fibrózy a tubulární atrofie (IF/TA). V konečném důsledku pak vede ke zhoršení výsledků přežívání štěpů.⁶⁻⁸ Primárním rizikovým faktorem pro CMV infekci nebo onemocnění je serologický status dvojice dárce (D)/příjemce (R).^{5,6,9} Jak u pacientů s D+/R-, tak u pacientů s CMV R+ existuje značné riziko reaktivace CMV. U pacientů s CMV D+/R- je však riziko vzniku CMV onemocnění podstatně vyšší než u pacientů s R+. Kromě toho je mezi pacienty s reaktivací CMV nejvyšší vrcholová nálož CMV právě u pacientů s CMV D+/R-. Ve studii přirozeného průběhu CMV před účinnou prevencí se mezi 477 příjemci transplantované ledviny vyskytla aktivní CMV infekce u 67 % CMV D+/R- a R+ pacientů; CMV onemocnění se objevilo u 20 % pacientů s CMV D+/R- a CMV R+ do tří měsíců od transplantace.¹⁰¹ Plošné přijetí strategie prevence CMV po transplantaci změnilo epidemiologii CMV infekce. S výjimkou pacientů s nízkým rizikem (D-R-) se doporučuje prevence CMV v podobě profylaxe nebo preemptivní léčby. Současná doporučená International Consensus Guidelines považují obě strategie u pacientů po transplantaci ledviny a jater (preemptivní přístup i profylaxi) za rovnocenné, a to včetně vysoce rizikové podskupiny seronegativních příjemců od seropozitivních dárců (D+R-).⁹ Mezi další rizikové faktory reaktivace CMV patří užití antithymocytárního globulinu (ATG) v indukčním schématu imunosuprese, mykofenolát/mykofenolová kyselina v udržovací imunosupresi, vysoké dávky kortikoidů v léčbě např. akutní celulární rejekce, užití betalceptu, nebo lymfopenie před a po transplantaci.

Preemptivní léčba je založena na prospektivním sledování virové nálože (DNAemie) CMV pomocí citlivých testů, jakým je PCR z plné krve nebo plazmy.⁹⁻¹⁵ V našem transplantačním centru provádíme monitoraci každý týden po dobu prvních 4 měsíců po transplantaci a poté každý měsíc do 12 měsíců. PCR se současně provádí každý týden, pokud byla zjištěna CMV DNAemie, a v průběhu preemptivní léčby valganciklovirem. Při zjištění signifikantní virové replikace (DNAemie ≥ 1000 IU/ml) zahajujeme léčbu valganciklovirem (dvakrát denně 900 mg) nebo ganciklovirem (5mg/kg

dvakrát denně) v terapeutických dávkách s úpravou dle funkce štěpu. Léčba pokračuje do dosažení dvou po sobě jdoucích negativních PCR testů (DNAemií) s týdenním odstupem.¹⁰² Recidivující CMV DNAemie jsou léčené podobně jako počáteční epizoda. V situaci lymfodepleční antirejekční terapie a/nebo léčby rejekce zprostředkované protilátkami po ukončení plánované profylaxe nebo týdenního testování PCR se podává další měsíční profylaxe valganciklovirem, současně se obnovuje týdenní testování PCR po dobu 1 měsíce. V případě využití preemptivního přístupu a u pacientů s nízkým rizikem rozvoje CMV onemocnění (D-R-) je doporučeno podávání acikloviru/valacikloviru po dobu nejméně 1 měsíce (1-3 měsíce) po transplantaci v prevenci infekce virem herpes simplex (HSV) a varicella zoster (VZV).⁴⁹

Pacienti v profylaktickém přístupu užívají valganciklovir v dávce 900 mg denně po dobu 3 měsíců po transplantaci (nebo 6 měsíců v případě D+R-) nejpozději od 7. dne po transplantaci. V randomizované studii, která nabídla přímé porovnání valacikloviru a valgancikloviru v univerzální profylaxi, nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v prevenci výskytu CMV DNAemie a CMV nemoci.¹¹ Nicméně ve skupině intervenované valaciklovirem byl prokázán vyšší výskyt biopticky prokázané akutní rejekce štěpu ve 12 měsíci po transplantaci. Lze spekulovat o aditivním imunomodulačním účinku na straně valgancikloviru. Výhodou valacikloviru je nižší riziko myelotoxicity, nicméně zřetelnou nevýhodou je vyšší denní zátěž tabletami (čtyřikrát denně 2 g) a z toho plynoucí riziko nespolupráce pacienta.

Preemptivní léčba umožňuje rozvoj časně asymptomatické CMV viremie s možným výskytem nepřímých účinků CMV. Vyšší hodnoty CMV DNAemií znamenají větší pravděpodobnost rozvoje nepřímých dopadů včetně rizika vzniku akutní rejekce. Epizody CMV viremie kontrolované preemptivní léčbou pomáhají posílit CMV specifickou imunitu u pacientů s D+R- a zabránit rozvoji CMV onemocnění v pozdním potransplantačním období (late onset CMV).^{6,7,14,15} Na druhou stranu pozdní nástup CMV infekce nebo onemocnění a myelotoxicita spojená s univerzální profylaxí s sebou nesou nepříznivé výsledky. K dosažení dobrých výsledků přístupu založeného na preemptivní terapii jsou nutné intenzivní protokoly sledování CMV (každý týden po dobu prvních 3-4 měsíců). Naopak méně intenzivní sledování vede k selhání metody a nedostatečné prevenci CMV onemocnění nebo k dlouhodobým nepřímým účinkům. Logistika a náklady na pečlivé sledování CMV představují hlavní nevýhody preemptivní léčby. V přímém srovnání preemptivního a profylaktického přístupu s valganciklovirem nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v incidenci biopticky prokázané akutní rejekce štěpu ve 12 měsících po transplantaci. Významně vyšší výskyt subklinické rejekce štěpu byl pozorován v profylaktické skupině (29 % vs. 13 %, $P = 0.027$). Oba dva režimy byly ekvivalentně preventabilní ve výskytu CMV onemocnění. Ve srovnání s profylaxí vedla preemptivní léčba očekávaně k významně vyšší míře CMV DNAemie (44 % vs. 75 %, $P < 0,001$) a vyššímu podílu pacientů, u nichž se objevily epizody s vyšší virovou náloží (2000 IU/ml), naopak byla spojena s významně nižší expozicí valgancikloviru a neutropenií.¹⁰² Další data (metaanalýza 7 randomizovaných

studií; 560 pacientů) potvrzují nepřítomnost signifikantního rozdílu v incidenci akutní rejekce štěpu, ztráty štěpu, prevenci rozvoje CMV nemoci či úmrtí mezi oběma režimy.¹⁰³

Hodnocení CMV-specifické buněčné imunity má potenciál zlepšit preventivní přístup k CMV u transplantací solidních orgánů.¹⁰⁴ Existuje řada testů na přítomnost CMV-specifických T-buněk. Většina testů je založena na detekci IFN- γ po stimulaci plné krve nebo mononukleárních buněk periferní krve (PBMC) specifickými antigeny CMV nebo překrývajícími se peptidy.¹⁰⁴ U transplantací solidních orgánů dokázaly QuantiFERON-CMV test, ELISpot test nebo intracelulární barvení cytokinů na IFN- γ pomocí průtokové cytometrie předpovědět riziko CMV onemocnění, pokud byly hodnoceny před transplantací; současně identifikovat pacienty s rizikem pozdního nástupu CMV onemocnění po ukončení CMV profylaxe nebo progresu asymptomatické CMV viremie do CMV onemocnění v rámci preemptivní terapie.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ U pacientů po transplantaci ledviny může zahrnutí hodnocení CMV specifické buněčné imunity (QuantiFERON-CMV) do preemptivního režimu modifikovat protokol sledování na méně intenzivní. V případě detekovatelné CMV specifické imunity a současně nízké virové nálože (CMV DNAemii) se tak vyhneme nutnosti užití valgancikloviru. Pokud by se prokázala účinnost a bezpečnost, vedl by takový přístup ke zjednodušení logistiky, menšímu počtu PCR testování a menšímu používání antivirotik. V důsledku toho by byla preemptivní léčba snadněji proveditelná a mnohem levnější. Hranice 0,2 IU/ml IFN- γ je považována za pozitivní výsledek testu. Hladina <0,2 IU/ml s dostatečnou odpovědí na kontrolní mitogen (\geq 0,5 IU/ml) definuje negativní výsledek CMV specifické imunity. Řada pacientů nereaguje na kontrolu mitogenem (CMV negativní i mitogen negativní), což znamená neurčitý výsledek. Areaktivita na mitogen může být znakem globální imunosuprese, současně je však spojena s vyšším výskytem CMV onemocnění.¹⁰⁸ Pacienti s CMV negativním a neurčitým výsledkem jsou klasifikováni jako vysoce riziková pro rozvoj CMV viremie a CMV nemoci.

Aktuálně v našem kolektivu probíhá randomizovaná studie s cílem vyhodnotit, zda je preemptivní terapie pomocí protokolu sledování založeného na systému QuantiFERON-CMV non-inferiorní ve srovnání se standardním, frekventním (týdenním) sledováním založeným pouze na PCR (CMV DNAemii). Primárním cílem v krátkodobém sledování je kumulativní incidence CMV DNAemie ve 12 měsících po transplantaci. V dlouhodobém follow-upu je pak primárním cílem výskyt středně závažné až závažné intersticiální fibrózy/tubulární atrofie (IF/TA) a/nebo IF/TA spojené se zánětem v protokolární biopsii provedené ve 36 měsících.

Pacienti, kteří se v potransplantačním období komplikují CMV nemocí, jsou léčeni valganciklovirem v dávce 900 mg dvakrát denně s úpravou dávky podle funkce štěpu. V případě život ohrožujícího CMV onemocnění nebo CMV kolitidy je lékem volby intravenózní ganciklovir v dávce 5 mg/kg každých 12 hodin s úpravou dávky podle renální funkce. Po zlepšení klinického stavu mohou být pacienti převedeni na valganciklovir. V antivirové léčbě se pokračuje až do doby dosažení clearance CMV DNAemie ve 2 po sobě jdoucích měřeních (<50 IU/ml, nejméně však po dobu

21 dnů).^{109,110} Po každé epizodě CMV onemocnění pokračujeme v sekundární profylaxi valganciklovirem (900 mg jednou denně se snížením dávky v závislosti na funkci ledvin) po dobu 1 měsíce. Součástí přístupu k pacientovi s CMV onemocněním je také redukce udržovací imunosuprese. Obvykle redukuje pouze dávku či zcela vysazujeme antimetabolit, tj. mykofenolát mofetil/mykofenolovou kyselinu nebo azathioprin. Opětovné nasazení plné dávky provádíme v případě opakovaně prokázané negativní CMV DNAemie.

Valganciklovir je proléčivo gancikloviru, které existuje jako směs dvou diastereomerů. Po podání jsou tyto diastereomery rychle přeměněny na ganciklovir jaterními a střevními esterázami. V buňkách infikovaných cytomegalovirem (CMV) je ganciklovir nejprve fosforylován virovou proteinkinázou na monofosfátovou formu a poté je dále fosforylován prostřednictvím buněčných kináz za vzniku trifosfátové formy. Tato trifosfátová forma se pomalu metabolizuje intracelulárně. Fosforylace je závislá na virové kináze a probíhá přednostně v buňkách infikovaných virem. Virustatická aktivita gancikloviru je způsobena inhibicí syntézy virové DNA ganciklovir trifosfátem. Ganciklovir-trifosfát je zabudován do vlákna DNA a nahrazuje mnoho adenosinových bází. To má za následek zabránění syntézy DNA skrze destabilizaci vlákna.¹¹¹

Lékem volby u pacientů s geneticky prokázanou ganciklovir-rezistentní CMV infekcí nebo onemocněním je maribavir.¹¹²⁻¹¹⁴ Maribavir je perorální léčivo, které inhibuje fosfotransferázu UL97 a zastavuje maturaci a vylučování viru. Je aktivní proti CMV s mutací v genech UL97 a UL54. Maribavir je užíván v dávce 400 mg dvakrát denně po dobu osmi týdnů. Častým nežádoucím účinkem je dysgeuzie. Nelze současně podávat s ganciklovirem nebo valganciklovirem. Klíčovou výhodou maribaviru oproti jiným přípravkům je absence myelo/nefrotoxicity. Vzhledem ale k přítomnosti lékové interakce s inhibitory kalcineurinu a mTOR inhibitory je během léčby nutná monitorace hladin těchto imunosupresiv.

Alternativou k valgancikloviru v prevenci k CMV je letermovir. Letermovir je antivirotikum účinné proti CMV bez přidružené myelotoxicity a nevyžaduje úpravu dávky při renální dysfunkci. Má jedinečný mechanismus účinku; inhibuje komplex CMV DNA terminázy. Na rozdíl od valgancikloviru má však letermovir potenciální lékové interakce (mírný inhibitor cytochromu P3450 3A, substrát pro polypeptid 1B1/3 transportující organické anionty) a nemá aktivitu proti HSV nebo VZV. Letermovir je schválen (americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv a Evropskou lékovou agenturou) k profylaxi CMV infekce a onemocnění u dospělých CMV-seropozitivních příjemců (R+) alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk. Recentní randomizovaná, dvojitě zaslepená studie, která měla za úkol přímé srovnání letermoviru (480mg denně + aciklovir v prevenci HSV a VZV) proti valgancikloviru (900mg denně) u vysoce rizikových (D+R-) pacientů po transplantaci ledviny v profylaktickém režimu (200 dní po transplantaci), prokázala non-inferioritu letermoviru v prevenci rozvoje CMV onemocnění. Současně byl ve skupině s letermovirem pozorován nižší výskyt myelotoxicity (leukopenie/neutropenie).¹¹⁵

Letermovir má však ve srovnání s valganciklovirem (ganciklovirem) klinicky významná omezení. Vzhledem ke zmiňované schopnosti letermoviru inhibovat cytochrom P450 3A4 a další izoenzymy, je nutná podstatná úprava dávky imunosupresivních léků (především inhibitory kalcineurinu). Současně, jak už bylo zmíněno, letermovir je specifický pro CMV, a tak je u většiny pacientů nutná profylaxe valaciklovirem (aciklovirem) v rámci prevence HSV a VZV infekce. Jisté je, že jedním z rozhodujících faktorů při volbě antivirotika bude i vysoká cena letermoviru (cca 250 USD denně), která je přibližně dvacetkrát vyšší než cena generického valgancikloviru.

1.6.2 BK polyomavirová (BKPyV) infekce

BK polyomavirus je ubikviterní virus s celosvětovou séroprevalencí přibližně 80 až 90 procent.¹¹⁶ Primární infekce je typicky získaná v dětství, pravděpodobně fekálně-orálním nebo respiračním přenosem. Po primární infekci zakládá virus celoživotní infekci v renálních tubulárních a uroepiteliálních buňkách. U většiny jedinců jsou primární i perzistující infekce klinicky tiché a ve většině případů nejsou spojeny s klinickou expresí. Mezi příjemci transplantované ledviny může vést reaktivace latentní formy nebo přenos nové infekce přes štěp k virurii (detekce intaktního viru nebo virových složek v moči), viremii (typicky detekce virové DNA v krvi) a nefropatii štěpu (průkaz viru nebo virových složek ve tkáni alograftu). K replikaci viru dochází nejčastěji během prvního roku po transplantaci, kdy je buněčná imunita nejvíce potlačena. Virurie a viremie jsou detekovány přibližně u 25-30, resp. 12 % příjemců transplantované ledviny a téměř vždy předcházejí rozvoji nefropatie ve stereotypním vzorci virurie, následovaná viremii a nefropatií asociovanou s BKPyV (BKPyVAN).¹¹⁷

Asymptomatická virurie, viremie a/nebo pomalý progresivní vzestup sérového kreatininu jsou typickými indikátory BKPyVAN. Viremie může následovat několik týdnů po virurii a vyskytuje se nejčastěji u pacientů se setrvalou a vysokou virovou náloží v moči. Viremie je detekována u 10 až 30 % pacientů v prvních šesti měsících po transplantaci a u 5 až 10 % příjemců v následujícím období. Stejně jako u virurie je viremie typicky asymptomatická. Viremie má však pro progresi do BKPyVAN větší prediktivní hodnotu než virurie.^{117,118} Protože BKPyVAN může rychle následovat viremii (např. během jednoho až dvou týdnů) a poškození štěpu může být nevratné, je viremie obecně uznávanou indikací ke snížení imunosuprese. Stejně jako u virurie mají vyšší virové nálože a jejich setrvalost větší prediktivní hodnotu pro progresi do biopticky potvrzené BKPyVAN. Neexistuje jasný threshold BKPyV viremie, který by s určitostí předpovídal rozvoj BKPyVAN. Většina odborníků se však shoduje na tom, že virová nálož BKPyV $\geq 10\,000$ kopií/ml, zejména pokud trvá déle než tři týdny, je velmi suspektní z BKPyVAN (tzv. "presumptivní" BKPyVAN).¹¹⁹ Incidence BKPyVAN je nejvyšší v prvních dvou až šesti měsících po transplantaci. Bez ovlivnění infekce může během několika měsíců dojít k progresivní a ireverzibilní dysfunkci štěpu. BKPyV infekce spouští ve štěpu intersticiální zánět, který pak v čase progreduje do tubulárního poškození a fibrózy. Některé studie ukazují, že i déletrvající BKV viremie s nízkou virovou náloží mohou potencovat fibrogenezi ve štěpu.¹²⁰ Hemoragická

cystitida, která je popisovaná u pacientů po transplantaci krvevorných buněk v rámci BKPyV infekce, je u příjemců transplantované ledviny velmi vzácná.

V časném potransplantačním období je doporučeno provádět screening BKPyVAN u všech pacientů, neboť rychlá reakce v podobě redukce imunosuprese může zabránit progresi do BKPyVAN. Metodou volby detekce BKPyV viremie je PCR. Optimální screeningová strategie však není jasně definovaná. Jedno ze schémat doporučuje vyšetřit pacienty na BKPyV viremii pomocí PCR v těchto situacích/časových intervalech: 1) měsíčně po dobu prvních 6 měsíců po transplantaci, následně každé 3 měsíce do doby 2 let po transplantaci a poté každý rok do 5 let po transplantaci, nebo 2) kdykoliv v případě dysfunkce renálního štěpu.^{119,121}

Biopsie štěpu je zlatým standardem pro diagnostiku BKPyVAN, posouzení závažnosti a vyhodnocení kolaterálních procesů. Protože je však biopsie invazivní diagnostickou metodou a i ona vykazuje určitou míru chybovosti, předpokládaná diagnóza BKPyVAN je často stanovena na základě přítomnosti významné viremie (virová zátěž BKPyV v plazmě $\geq 10\,000$ kopií/ml). Definitivní diagnóza pak vyžaduje nález charakteristických cytopatických změn v biopsii s pozitivním imunohistochemickým vyšetřením, které znamená reakci specifické protilátky namířené proti BKPyV nebo proti zkříženě reagujícímu velkému T antigenu SV40.¹²¹ Pozitivní barvení na SV40 je spojeno s téměř 100 % specificitou pro polyomavirovou nefropatii. Kvůli fokální povaze časného BKPyVAN může být diagnóza přehlédnuta až u jedné třetiny biopsií. V důsledku toho by měla být vyšetřena alespoň dvě bioptická jádra (včetně dřeně). Pokud úvodní biopsie BKPyVAN nepotvrdí, je třeba zvážit opakovanou biopsii. Bioptický obraz rejekce štěpu a BKPyVAN se může velmi podobat. Rozlišení BKPyVAN od rejekce je zásadní. BKPyVAN se obecně odlišuje od rejekce přítomností BKPyV inkluzí a imunohistologickým nebo in situ hybridizačním průkazem virem infikovaných buněk.¹²² Současně je důležité korelovat histologické nálezy s virovou náloží BKPyV v plazmě.

Protože neexistuje specifická antivirová terapie pro polyomavirovou nefropatii, základním přístupem je redukce imunosuprese.¹¹⁹ Tento management platí jak pro prevenci BKPyVAN u pacientů s viremii zjištěnou rutinním screeningem, tak pro léčbu pacientů s diagnostikovanou BKPyVAN. K redukci imunosuprese přistupuje většina transplantačních center (včetně našeho) při hodnotě BKPyV DNAemii ≥ 1000 kopií/ml. Optimální postup pro redukci imunosuprese není jasně definovaný. U pacientů, kteří nemají známky souběžně probíhající BKPyVAN a akutní rejekce, jejich udržovací imunosuprese sestává z kortikoidu, antimetabolitu (mykofenolát mofetil/mykofenolová kyselina nebo azathioprin) a kalcineurinového inhibitoru (takrolimus/cyklosporin), přistupujeme nejprve k redukci dávky antimetabolitu o 50 %. Pokud následná PCR monitorace BKPyV v plazmě neprokáže snížení virové nálože během následujících 2-4 týdnů, antimetabolit zcela vysazujeme. Pokud ani po dalších dvou týdnech nedojde ke kontrole viremie, snížíme dávku kalcineurinového inhibitoru o 25 až 50 %, přičemž cílíme na minimální hladinu takrolimu v plné krvi (4 až 6 ng/ml) nebo na minimální hladinu cyklosporinu v plné krvi (60 až 100 ng/ml).

Existují některé adjuvantní terapeutické přístupy, jejichž účinnost byla proti BKPyV prokázána in vitro. Žádnou z těchto látek však rutinně nepoužíváme v terapii BKPyV infekce, jelikož nebyl prokázán jejich superiority efekt v porovnání s prostou redukcí imunosuprese. Komerčně dostupné přípravky intravenózních imunoglobulinů (IVIG) obsahují neutralizační protilátky proti všem hlavním genotypům BKPyV. Léčbu imunoglobuliny lze zvážit u pacientů, kteří nereagují (pokračující viremie) na doporučenou redukcí imunosuprese. O účinnosti IVIG u pacientů s BKPyVAN jsou k dispozici jen omezená data. Některé observační studie uvádějí po léčbě IVIG vymizení viremie. Pozitivní interpretace těchto výsledků však není úplně možná, protože vedle léčby IVIG byla použita i další antivirotika.¹²³ Cidofovir je nukleotidový analog cytosinu, který je účinný proti různým DNA virům, včetně in vitro aktivity proti polyomavirům. Pro léčbu pacientů s BKPyVAN by měl být zvažován pouze v případě vyčerpání ostatních intervencí. V retrospektivní studii 21 pacientů s BKPyVAN byl osmi z nich, spolu s redukcí imunosuprese, adjuvantně podáván cidofovir v týdenním intervalu. Třináct pacientů bylo léčeno pouze snížením imunosuprese. V mediánu 25 měsíců přežily všechny štěpy pacientů, kterým byl podáván cidofovir.¹²⁴ Je však nutné mít na paměti, že léčba cidofovirem s sebou nese vysoké riziko nefrotoxicity. Projevem nefrotoxicity je proteinurie s rizikem selhání funkce ledvin až u 20 % pacientů. Vysoká pravděpodobnost nefrotoxicity a sporný léčebný efekt jsou důvody, pro které většina transplantčních center cidofovir v léčbě BKPyV infekce u pacienta po transplantaci ledviny opomíjí. V současné době probíhá studie, která hodnotí použití virus-specifických T-buněk (VST) proti BKPyV z pohledu účinnosti a bezpečnosti u pacientů po transplantaci ledviny s BKPyV viremii. Podkladem jsou jejich dříve prokázané pozitivní účinky u pacientů po transplantaci krvetvorných buněk s BKPyV asociovanou hemoragickou cystitidou.

Doposud nejsou k dispozici data, která by doporučovala optimální přístup k pacientům s biopsicky prokázanou BKPyVAN a současně probíhající akutní rejekcí. Některá centra prosazují, aby byla nejprve léčena akutní rejekce (pulzními kortikoidy) a až následně snížena imunosuprese, jakmile se u pacienta dostaví klinická odpověď na antirejekční léčbu.¹¹⁹ Jiní odborníci upřednostňují pouze snížení udržovací imunosuprese.¹²⁵ Současně si nejsme jistí léčbou pacientů, u nichž se objeví rejekční proces v návaznosti na snížení imunosuprese. V obecném pojetí se v takovém případě vyhýbáme zvyšování imunosuprese, pokud je biopsicky potvrzená BKPyVAN, a udržujeme imunosupresi na stejné snížené úrovni, jaká byla v době, kdy se u pacienta rozvinula rejekce.¹²⁵

1.6.3 Virus Epstein-Barrové a potransplantační lymfoproliferativní onemocnění (PTLD)

Virus Epstein-Barrové (EBV) je herpesvirus, který se šíří mezi vnímavými osobami a asymptomatickými EBV jedinci intimním kontaktem. EBV je primárně původcem infekční mononukleózy. Asymptomaticky přetrvává po celý život téměř u všech dospělých a u některých pacientů je spojován se vznikem B-buněčných lymfomů, T-buněčných lymfomů, Hodgkinova

lymfomu, nazofaryngeálního karcinomu nebo karcinomů žaludku. Reaktivní onemocnění nebývá u EBV, na rozdíl od jiných běžných herpesvirů, významným problémem, nicméně u příjemců transplantátů může být spojené s různě vyjádřeným lymfoproliferativním onemocněním.

Potransplantační lymfoproliferativní onemocnění (PTLD) je heterogenní skupina lymfoproliferací, která tvoří u příjemců solidních orgánů zhruba 20 % všech maligních onemocnění a dosahuje 40 až 60 % mortality.¹²⁶ Více než 80 % případů PTLD se objevuje do jednoho roku po transplantaci. Vyskytuje se od benigního polyklonálního B-buněčného syndromu podobnému infekční mononukleóze až po maligní monoklonální lymfom. Mezi rizikové faktory PTLD patří primární infekce EBV po transplantaci seronegativních příjemců od seropozitivních dárců, stupeň imunosuprese, rejekční epizody nebo koinfekce CMV.¹²⁷ Suprese T-buněk, zejména pak alterace EBV-specifické T-buněčné imunity, se zdá být, s ohledem na manifestaci EBV, důležitější než stupeň celkové imunosuprese. PTLD vyskytující se v prvním roce po transplantaci je obvykle B-buněčné CD20+ etiologie. Naproti tomu onemocnění v pozdní fázi může být i EBV negativní. U transplantovaných pacientů byly popsány 3 obecné typy PTLD. Časně léze se projevují jako akutní onemocnění typu infekční mononukleózy s polyklonální proliferací B-buněk bez potenciálu maligního zvratu. Polymorfní typ PTLD představuje polyklonální nebo monoklonální lymfoidní infiltráty, které vykazují známky maligní transformace, zároveň ale nesplňují kritéria pro jeden z B-buněčných nebo T/NK-buněčných lymfomů rozlišovaných u imunokompetentních pacientů. Monomorfní PTLD je charakterizované monoklonální lymfoidní proliferací, která splňuje kritéria pro jeden z B-buněčných nebo T/NK-buněčných lymfomů diagnostikovaných u obecné populace.

Klinický obraz pacientů s PTLD je velmi variabilní a závisí částečně na typu onemocnění a na lokalizaci afekce. Časté jsou nespecifické konstituční příznaky, jakými jsou teploty, úbytek hmotnosti nebo únava. Další příznaky mohou souviset s virovou infekcí, lymfadenopatií, dysfunkcí postižených orgánů nebo útlakem okolních struktur. Virové příznaky se mohou podobat příznakům pozorovaným u akutní infekční mononukleózy. Více než polovina PTLD se projevuje extranodálními masami.¹²⁸ Mezi nejčastěji postižené orgány patří gastrointestinální trakt (žaludek, střevo), plíce, kůže, játra, centrální nervový systém nebo samotný alograft. Téměř 20-25 % pacientů trpí onemocněním centrálního nervového systému a podobný podíl zaujímají infiltrativní léze ve štěpu.¹²⁹ Naprostá většina pacientů s EBV pozitivním PTLD vykazuje vyšší hodnoty virové nálože EBV v plazmě. Studijní data ukázala, že medián virové nálože EBV u pacientů s PTLD byl 3225 kopií/100 µl plasmy, zatímco medián pacientů bez PTLD byl méně než 740 kopií.¹³⁰ Vyšší virová nálož EBV sice svědčí pro PTLD, diagnóza PTLD je však založena zejména na histologickém nálezu. Stejně tak nepřítomnost EBV v periferní krvi sice snižuje pravděpodobnost PTLD, ale diagnózu zcela nevylučuje.

Vzhledem k tomu, že rozvoj PTLD souvisí se stupněm imunosuprese a infekcí EBV, případně CMV, spočívá prevence PTLD do značné míry v omezení expozice pacienta agresivním imunosupresivním režimům, okrajově

pak v antivirové profylaxi. Panuje obecná shoda, že agresivnější vysazení imunosuprese, zejména kalcineurinového inhibitoru (takrolimus) vede k výrazně nižšímu výskytu PTLD. Údaje o účinnosti antivirové profylaxe v prevenci PTLD u příjemců solidních orgánů jsou omezené.¹³¹

Léčba PTLD se liší v závislosti na podtypu PTLD a typu transplantace. Mezi hlavní nástroje počátečního terapeutického přístupu patří snížení imunosuprese, imunoterapie monoklonální protilátkou anti-CD20 (pouze u CD20+ PTLD), chemoterapie, radioterapie nebo jejich kombinace.¹³²⁻¹³⁴ Další možností je imunoterapie s EBV specifickými cytotoxickými T-lymfocyty, která je obecně vyhrazena pro pacienty s přetrvávajícím onemocněním navzdory počáteční léčbě. Při výběru terapie je třeba zohlednit agresivitu PTLD, očekávanou dobu do dosažení odpovědi na léčbu a související toxicitu. Vedle eradikace PTLD je jistě cílem managementu preservace funkce štěpu. Nezřídka jsou tyto cíle v rozporu. Redukce imunosuprese v rámci eradikace PTLD přináší logicky vyšší riziko rejekce štěpu. U většiny pacientů s časnými lézemi je doporučeným prvním krokem redukovat imunosupresivní terapii. U pacientů s polymorfním PTLD, který exprimuje CD20, se vedle redukce imunosuprese využívá biologické léčby monoklonální protilátkou anti-CD20 (rituximab). U pacientů s monomorfní CD20+ PTLD je doporučeno kromě snížení imunosuprese, pokud je to možné, použít rituximab, a to buď samostatně, nebo v kombinaci s chemoterapií. Pro nejméně častou klasickou formu PTLD podobnou Hodgkinově lymfomu existuje jen málo dat o léčbě. Doporučené jsou terapeutické protokoly používané pro klasický Hodgkinův lymfom.

1.6.4 Infekce virem hepatitidy B

Vzhledem k nutnosti imunosupresivní terapie je infekce virem hepatitidy B (HBV) hlavním rizikovým faktorem jaterního poškození u příjemců transplantované ledviny.¹³⁵ U pacientů bez předchozí HBV infekce, kteří obdrželi štěp od dárce s chronickou nebo předchozí infekcí HBV, je hlavním cílem prevence de novo infekce. Riziko de novo infekce je však obecně nízké; HBV se v transplantované ledvině nenachází. Výjimku představují případy, kdy je dárce pozitivní na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), nebo má vysoké hladiny HBV DNA, a v ledvině je zbytková krev dárce. U pacientů s chronickou nebo předchozí HBV infekcí (HBsAg negativní a anti-HBc pozitivní) je primárním cílem léčby prevence reaktivace HBV a progresu jaterního onemocnění. K reaktivaci HBV a/nebo vzplanutí (flare) HBV může dojít u osob se serologickým průkazem chronické infekce HBV (HBsAg pozitivní a anti-HBc pozitivní) nebo u osob s předchozí infekcí HBV. U HBsAg pozitivních pacientů je reaktivace definována výskytem nově detekovatelné HBV DNA, nebo >10 - 100násobným zvýšením HBV DNA u pacientů, u kterých již v minulosti HBV DNA detekovatelná byla. U HBsAg negativních pacientů je reaktivace definována výskytem HBV DNA nebo opětovným výskytem HBsAg. Vzplanutí HBV infekce je definováno jako zvýšení hladiny alaninaminotransferázy (ALT), které je nejméně třikrát až pětkrát vyšší než výchozí hodnota a přesahuje referenční rozmezí. Před transplantací je nutné vyšetřit HBV status příjemce i dárce (žijícího nebo

zemřelého), aby bylo možno posoudit riziko de novo infekce nebo reaktivace HBV.⁴⁰

Příjemci s přítomnou imunitou proti HBV v důsledku proběhlého očkování (anti-HBc negativní, anti-HBs pozitivní; anti-HBs ≥ 10 mIU/ml) a příjemci bez předchozí infekce nebo imunity (HBsAg negativní, anti-HBs negativní a anti-HBc negativní) by měli v ideálním případě dostat transplantaci ledviny od 1) žijícího nebo zemřelého dárce, který nemá známky předchozí infekce HBV s imunitou proti HBV v důsledku očkování nebo bez ní (HBsAg negativní, anti-HBc negativní, anti-HBs pozitivní), nebo 2) žijícího/zemřelého dárce s předchozí infekcí HBV (HBsAg negativní, anti-HBc pozitivní).¹³⁶ Riziko přenosu HBV je zanedbatelné, pokud dárce není HBV DNA pozitivní. V takovém případě se doporučuje profylaktická antivirová léčba. Indikací k antivirové léčbě u příjemců bez předchozí anamnézy HBV (bez ohledu na očkovací status) je dárce s chronickou HBV infekcí (bez ohledu na stav HBV DNA dárce) a dárce s předchozí infekcí HBV (HBsAg negativní a anti-HBc pozitivní), který má detekovatelnou HBV DNA v plazmě nebo je status HBV DNA neznámý.¹³⁷ V jedné retrospektivní studii, která hodnotila 83 transplantací ledvin od HBsAg pozitivních dárců pro HBsAg negativní příjemce, obdrželo 65 příjemců antivirovou profylaxi. U žádného z 63 příjemců, kteří byli před transplantací anti-HBs pozitivní, se po dobu 36 měsíců nerozvinula de novo HBV infekce.¹³⁸ U pacientů, kteří vyžadují antivirovou profylaxi v prevenci de novo infekce, se upřednostňuje entecavir pro jeho nízkou nefrotoxicitu. Léčba by měla být zahájena v době transplantace a trvá ve většině případů jeden rok. Optimální délka terapie však není známá. Vychází se z dat, která uvádí, že kratší doba profylaxe nemusí být dostatečná.¹³⁸ Parametry HBsAg, anti-HBc a HBV DNA by měly být během léčby monitorovány každé tři měsíce. Pokud tyto parametry zůstanou po dobu jednoho roku negativní, lze antivirovou léčbu ukončit.

Příjemci transplantované ledviny s předchozí (HBsAg negativní a anti-HBc pozitivní) nebo chronickou (HBsAg pozitivní) infekcí virem hepatitidy B mohou dostat renální štěp od jakéhokoli dárce bez ohledu na jeho HBV status. Antivirová léčba by měla být užitá u všech příjemců s chronickou nebo předchozí infekcí HBV, včetně pacientů s koinfekcí virem hepatitidy C (HCV). Pacienti s chronickou nebo předchozí infekcí HBV (anti-HBc pozitivní), u kterých je nutné využít rituximab (včetně jediné dávky), by měli zahájit preventivní antivirovou léčbu bez ohledu na jejich HBsAg nebo anti-HBs status.¹³⁹ Pacientům s předchozí HBV infekcí se podává antivirová léčba v době transplantace. U příjemců s chronickou HBV infekcí, kteří užívají antivirovou léčbu (entecavir, tenofovir) již před transplantací a jsou účinně virologicky suprimováni, pokračujeme v zavedené terapii. V případě terapeuticky naivních pacientů zahajujeme léčbu opět v době transplantace.¹⁴⁰ Pacienti, kteří užívají antivirovou léčbu k prevenci reaktivace nebo vzplanutí HBV, by měli mít každých šest měsíců nebo častěji (dle indikace) vyšetřené sérové aminotransferázy (AST, ALT) a HBV DNA.

1.6.5 Infekce virem hepatitidy C

Příjemci transplantované ledviny s infekcí virem hepatitidy C (HCV), pokud není HCV po transplantaci eradikován, mají horší přežití (včetně přežití štěpu) ve srovnání s příjemci transplantované ledviny bez této infekce. Včasně odhalení a léčba HCV infekce po transplantaci, případně onemocnění ledvin asociovaného s HCV, zlepšuje potransplantační výsledky u této populace.¹⁴¹ Uváděná prevalence HCV infekce mezi příjemci transplantované ledviny se pohybuje mezi 1,8-8 %.¹⁴²

Přítomnost HCV posuzujeme u všech kandidátů k transplantaci ledviny. Pacienti v pravidelném hemodialyzačním programu, kteří jsou připravováni k zařazení na čekací listinu, by měli být monitorováni na HCV každých 6 měsíců. Úvodní screening obvykle zahrnuje vyšetření anti-HCV protilátek. V případě jejich pozitivity by měla být stanovena RNA HCV. HCV infekce u potenciálního příjemce není kontraindikací transplantace ledviny.¹⁴¹

Staging jaterního onemocnění (posouzení rozsahu jaterní fibrózy/cirhózy) je standardní součástí hodnocení pacientů s infekcí HCV, včetně kandidátů k transplantaci ledviny. Staging se zprvu provádí pomocí neinvazivních testů, které zahrnují krevní testy a zobrazovací vyšetření; k dispozici máme tranzientní elastografii (TE) nebo kombinaci TE a testu sérových markerů, jako je index poměru aspartátaminotransferázy (AST) a trombocytů (APRI).¹⁴³ Jaterní biopsii lze provést v případě nesouhlasných výsledků neinvazivních testů nebo při podezření na jaterní komorbidity. Výsledky těchto stagingových testů slouží jako podklad pro stanovení prognózy jaterní funkce, pro výběr léčebného režimu HCV a pro rozhodnutí, zda provést transplantaci ledviny nebo kombinovanou transplantaci ledviny a jater.

Přijetí ledviny od dárce s chronickou HCV infekcí může podstatně zkrátit čekací dobu pacienta na transplantační listině. Rostoucí dostupnost léčby přímo působícími antiviroty (direct-acting antiviral agents, DAA), která je pro příjemce transplantátu účinná a bezpečná, otevřela možnost transplantace ledviny od dárce s HCV RNA pozitivitou.¹⁴⁴ Vzhledem k vysoké míře vyléčení dosažené při léčbě DAA zkoumalo několik studií možnost alokace ledviny od HCV RNA pozitivního dárce HCV RNA negativním pacientům s následnou antivirovou léčbou. Většina těchto studií zaznamenala stoprocentní míru vyléčení HCV s vynikající krátkodobou funkcí štěpu a dobrým bezpečnostním profilem.^{145,146} Jako další příklad lze uvést studii provedenou čtyři roky po zavedení DAA ve Spojených státech amerických, podle níž byla DAA spojena s 57% snížením rizika úmrtí u HCV seropozitivních příjemců transplantátu, kteří dostali ledvinu od HCV seropozitivního dárce ([HR] 0,43, 95 % CI 0,19-0,93), ve srovnání s mírou úmrtnosti před zavedením DAA.¹⁴⁷

U pacientů s HCV infekcí a dekompenzovanou jaterní cirhózou by měla být zvážena kombinovaná transplantace jater a ledviny. U pacientů s kompenzovanou cirhózou, ale závažnou portální hypertenzí, by měla být rovněž zvážena kombinovaná transplantace. Pacienti s infekcí HCV a kompenzovanou jaterní cirhózou (tj. pacienti s dobře zachovanou funkcí jater) bez portální hypertenze mohou podstoupit samotnou transplantaci ledviny. Přístupy se však v jednotlivých transplantačních centrech liší.¹⁴¹

U všech potenciálních příjemců transplantované ledviny s infekcí HCV je doporučeno užít antivirovou léčbu.¹⁴⁶ Zásadním rozhodnutím je, zda zahájit léčbu infekce před transplantací nebo po ní. Optimální přístup není zcela jednoznačný. Rozhodnutí o načasování antivirové léčby závisí na závažnosti jaterního onemocnění, mimojaterních komplikacích HCV infekce, předpokládané čekací doby na transplantační listině a dostupnosti orgánů od dárců s infekcí HCV.¹⁴⁷ U kandidátů k transplantaci ledviny s dekompenzovanou cirhózou se doporučuje kombinovaná transplantace ledviny a jater.¹⁴¹ U pacientů, kteří mají pokročilou nebo rychle progredující jaterní fibrózu, ne však dekompenzovanou cirhózu, nebo závažné extrahepatální projevy (např. kryoglobulinemickou vaskulitidu), je odůvodněná okamžitá antivirová léčba před transplantací. U potenciálních příjemců, kteří nemají pokročilou nebo rychle progredující jaterní fibrózu či závažné extrahepatální projevy, závisí způsob léčby na tom, zda jsou na čekací listině zemřelých dárců nebo zda čekají na štěp od žijícího dárce. U osob na čekací listině zemřelých dárců se rozhodnutí o načasování léčby odvíjí od předpokládané čekací doby a od toho, zda jsou k dispozici orgány od dárců s infekcí HCV, které mohou tuto čekací dobu zkrátit. Pokud jsou k dispozici, může být odložena léčba u pacienta bez významné jaterní fibrózy nebo mimojaterních projevů možností, aby pacient mohl dostat orgán dříve.^{141,148} U osob, které čekají na štěp od žijícího dárce, se obvykle zahajuje léčba již před transplantací. Pokud je antivirová léčba zahájena před transplantací, lze individuálně rozhodnout o tom, zda transplantaci odložit o dalších 12 týdnů do doby dosažení SVR12, tj. setrvalé virologické odpovědi.¹⁴¹

Výběr léčebného režimu u chronické infekce HCV závisí na genotypu, rozsahu základního jaterního onemocnění a anamnéze antivirové léčby.¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ U pacientů po transplantaci ledviny jsou vymezení faktory pro výběr léku přítomnost/tíže renální dysfunkce nebo možná interakce se zavedeným imunosupresivním režimem. V současné době je k dispozici dostatek údajů o bezpečnosti a účinnosti různých režimů DAA u příjemců transplantované ledviny, které vykazují dobrou snášenlivost a vysokou míru SVR, shodnou s mírou SVR u běžné populace. Příkladem léčebného režimu pro DAA naivní pacienty po transplantaci ledviny s HCV infekcí je kombinace sofosbuvir-velpatasvir po dobu 12 měsíců pro všechny genotypy. Nebyly prokázány klinicky významné interakce mezi preparátem sofosbuvir-velpatasvir a nejčastěji využívanými imunosupresivními léčivy (takrolimus, cyklosporin, kortikosteroidy).¹⁴⁹⁻¹⁵¹

Všichni pacienti po transplantaci s pokročilou jaterní fibrózou nebo cirhózou, bez ohledu na to, zda dosáhli SVR, vyžadují průběžné sledování, jelikož i u nich existuje riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu (HCC) a dalších komplikací.^{141,152} Dle doporučení KDIGO by měl být u příjemců transplantované ledviny s chronickou infekcí HCV proveden každých šest měsíců screening proteinurie. Nově vzniklá proteinurie (poměr bílkoviny ke kreatininu v moči, P/C ratio >1 g/g) nebo mikroskopická hematurie bez jiné identifikovatelné příčiny opravňuje k provedení biopsie štěpu.¹⁴¹ Proteinurie je nejčastějším projevem onemocnění ledvin asociovaného s HCV infekcí, a proto se používá jako marker dysfunkce štěpu. Onemocnění ledvin spojená s

infekcí HCV zahrnují membranoproliferativní glomerulonefritidu (MPGN), membranózní nefropatii, trombotickou mikroangiopatii (TMA) či transplantační glomerulopatii.^{153,154} Histologické nálezy charakteristické pro kryoglobulinemickou membranoproliferativní glomerulonefritidu (MPGN) mohou vedle léčby DAA vyžadovat specifickou imunosupresivní terapii. Ke sledování vývoje jaterního onemocnění se po transplantaci využívá sériové měření tranzientní elastografií (TE), které je schopné odhalit progresi fibrózy a identifikovat „rychlé fibrotizéry“.¹⁴²

1.6.6 Infekce virem herpes simplex

Herpes simplex virus typu 1 (HSV-1; alfa herpesvirus) často infikuje jedince již v útlém věku, což vede k 50 až 80 % seroprevalenci u dospělých v západních zemích.¹⁵⁵ Seroprevalence sexuálně přenosného herpes simplex viru typu 2 (HSV-2) se u dospělých v posledních několika desetiletích zvýšila na úroveň 15 až 50 % v závislosti na věku, pohlaví a rase. Oba viry zakládají latentní infekci v trigeminálním (HSV-1) nebo sakrálním gangliu (HSV-2), přičemž následná reaktivace je velmi běžná. V posledních letech je HSV-1 stále častější příčinou genitálních lézí, avšak s méně častými recidivami. Prevalence HSV-1 a HSV-2 s rozložením dle věku je u pacientů po transplantaci podobná jako u běžné populace.

Ve srovnání s imunokompetentními osobami se u transplantovaných pacientů virus vylučuje častěji, častěji se u nich také vyskytují závažné klinické projevy a jsou v riziku nedostatečné odpovědi na léčbu.¹⁵⁶ Většina symptomatických HSV onemocnění je u příjemců transplantátů důsledkem reaktivace dříve získaného viru. K tomu dochází zejména v časném potransplantačním období (do několika týdnů) a v případě antirejektivní léčby. Primární infekce z alotransplantátu je vzácná (zdroj latence není transplantován), popsána již ale byla např. u pacientů po transplantaci jater a ledvin.¹⁵⁷

Nejčastějším klinickým projevem HSV jsou orolabiální, genitální nebo perianální léze.¹⁵⁸ Léze mohou být klasické vezikulární a/nebo ulcerativní různého rozsahu. V horším případě se může HSV infekce projevit viscerální nebo diseminovanou formou, včetně diseminovaného mukokutánního onemocnění, ezofagitidy, hepatitidy nebo pneumonitidy.¹⁵⁹ Horečka, leukopenie a hepatitida jsou nejčastějšími příznaky diseminovaného onemocnění. Pneumonitida je popisována u příjemců všech typů solidních orgánů, ale nejčastěji se vyskytuje u pacientů po transplantaci srdce a plic. Pouze vzácně se viscerální forma onemocnění vyskytuje bez lokálních kožních nebo slizničních lézí.

Před transplantací by měl být u pacienta proveden serologický screening HSV IgG. HSV seropozitivní příjemci jsou při absenci antivirové profylaxe vystaveni riziku klinické reaktivace po transplantaci. Incidence klinicky manifestního onemocnění se u seropozitivních pacientů, kteří nejsou zajištěni antivirovou profylaxí, pohybuje v potransplantačním období od 35 do 68 %.^{158,160} Projevit se však HSV infekce může jak u seropozitivních osob, tak u seronegativních pacientů, kteří atrahují infekci de novo. Proto by měl být HSV zvažován v diferenciální diagnostice klinicky relevantního syndromu u

každého pacienta nezávisle na jeho serostatusu. Výskyt reaktivace HSV v rámci specifických imunosupresivních režimů dosud nebyl oficiálně hodnocen. Historicky bylo užívání mykofenolátu/mykofenolové kyseliny spojeno se zvýšeným rizikem reaktivace HSV po transplantaci.^{160,161} Současně nebyla provedena studie, která by porovnávala různé indukční režimy (např. thymoglobulin vs. basiliximab) nebo udržovací imunosupresi s ohledem na míru rizika reaktivace HSV.

PCR je metodou volby v diagnostice HSV-1 a HSV-2 infekce v jakékoliv klinické manifestaci. Jedná se o čtyřikrát citlivější metodu oproti kultivačním testům; ty mohou být rezervovány pro mukokutánní léze. Užití PCR z mozkomíšního moku k diagnostice HSV encefalidity vykazuje 98 % senzitivitu se specificitou blížící se 100 %.¹⁶²

Vakcína, která by zabránila primární infekci HSV, je bohužel zatím nedostupná, a proto se preventivní přístup k HSV zaměřuje na behaviorální a antivirové metody. Všechna antivirotika užívaná v rámci prevence CMV mají současně potenciál zabránit replikaci HSV. Pacienti, kterým není podávána antivirová léčba v profylaxi CMV, by měli být zajištěni antivirovou profylaxi (např. aciklovir nebo valaciclovir) proti herpes simplex viru a varicella-zoster během prvních 1-3 měsíců po transplantaci a další měsíc v případě podání lymfodepleční antirejekční terapie.⁴⁹

Diseminované, viscerální nebo rozsáhlé mukokutánní HSV onemocnění má být léčeno intravenózním aciklovirem v dávce 5-10 mg/kg každých 8 hodin s úpravou dle renální funkce.^{159,163} Slizniční onemocnění u imunokompromitovaných pacientů lze léčit nižší dávkou, tj. 5 mg/kg. Včasné zahájení léčby aciklovirem je spojeno s lepšími výsledky onemocnění. Současná redukce imunosuprese by měla být zvážena v případě život ohrožujícího HSV onemocnění. Lokalizované slizniční onemocnění lze léčit i perorálním acyklovirem, valaciclovirem nebo famciclovirem. V léčbě je třeba pokračovat minimálně 5-7 dní nebo do úplného zhojení lézí. Terapie závažného onemocnění (např. encefalitida) by měla trvat minimálně 14 dní, i když některá centra upřednostňují prodloužení léčby na 21 dní.

1.6.7 Infekce virem varicella-zoster

Varicella-zoster virus (VZV; lidský herpesvirus 3) je alfa herpesvirus, jehož primární infekce se projevuje obvykle v podobě planých neštovic. Po primární infekci ve slizničních nebo kožních buňkách infikuje CD4+ a CD8+ T lymfocyty, které cirkulují krví a šíří virus v rámci kůže či viscerálních orgánů.¹⁶⁴ Odhaduje se, že incidence kožního projevu VZV reaktivace, tj. herpes zoster, je u pacientů po transplantaci solidních orgánů 10 až 100krát vyšší než v běžné populaci, přičemž nejvyšší riziko je u příjemců plic a srdce.¹⁶⁵ Nejčastějším projevem reaktivace VZV u pacientů po transplantaci je již zmiňovaný kožní herpes zoster postihující ≤ 2 přilehlé dermatomy. Je však popisována i atypická manifestace VZV, včetně diseminovaného onemocnění s viscerálním postižením.¹⁶⁶ Navíc se u 20-40 % příjemců štěpu vyvine postherpetická neuralgie, jakožto sekundární komplikace VZV infekce, což je výrazně více než u obecné populace.¹⁶⁷

Vyšší věk, pretransplantační historie VZV a antirejekční léčba byly vyhodnoceny jako nezávislé rizikové faktory pro vznik herpes zoster u pacientů po orgánových transplantacích. Mezi rizikové faktory vzniku postherpetické neuralgie patří také vyšší věk pacienta, současně ale i rozsah erytému nebo stupeň bolesti během akutní fáze.¹⁶⁸ Pacienti po transplantaci ledviny patří mezi nejčastěji afektovanou skupinu imunosuprimovaných pacientů. Ačkoliv nemáme k dispozici studie s designem navrženým tak, aby posoudily vztah jednotlivých imunosupresiv a jejich kombinace k VZV infekci, jako potenciálně rizikový faktor uvádí řada autorů znovu mykofenolát mofetil.¹⁶⁹

Infekce VZV se běžně diagnostikují podle klinického obrazu. K potvrzení diagnózy lze virus identifikovat kultivací nebo imunofluorescenčním barvením monoklonální protilátkou (IFA). Kultivační vyšetření vyžaduje několik dní až týdnů, zatímco vyšetření imunofluorescenční protilátkou lze provést během několika hodin.

Jedním z přístupů k prevenci primárních a reaktivovaných VZV infekcí u transplantovaných pacientů je očkování živou oslabenou vakcínou (Zostavax), která je doporučována pretransplantačně u pacientů ≥ 65 let.¹⁷⁰ Inaktivovaná vakcína proti VZV, která je v současné době v klinických studiích, může být bezpečnější než atenuovaná, a přesto si zachovat silné stimulační vlastnosti pro T-buňky. V antivirové profylaxi VZV u pacientů po transplantacích se využívá obdobně jako u HSV-1/HSV-2 valaciclovir nebo aciklovir po dobu prvních 1-3 měsíců po transplantaci.⁴⁹ Standardní léčbou VZV infekcí u příjemců transplantátů jsou vysoké dávky intravenózního acikloviru.

1.6.8 Infekce lidským herpesvirem 6 a 7

Lidský herpesvirus 6 (HHV-6) a lidský herpesvirus (HHV-7) patří mezi betaherpesviry. HHV-6 byl objeven a poprvé izolován v roce 1986 z cirkulujících lymfocytů pacientů s lymfoproliferativním onemocněním. Izoláty HHV-6 byly rozděleny do dvou subvariant, HHV-6 A a HHV-6 B, které jsou geneticky blízce příbuzné, ale mají odlišné biologické, molekulární a epidemiologické vlastnosti. HHV-6 B je primárním původcem exanthema subitum, zatímco HHV-6 A nebyl jednoznačně spojen s žádným známým onemocněním nebo syndromem.¹⁷¹ HHV-7 byl objeven v roce 1990 z krevních buněk zdravého jedince. HHV-7 nemá jasnou souvislost s žádným známým onemocněním, ačkoli se uvádí, že je zodpovědný za některé případy exanthema subitum.

HHV-6 i HHV-7 se replikují především v T-buňkách, i když HHV-6 může infikovat také B-buňky, NK-buňky a monocyty.¹⁷² K primární infekci HHV-6 a HHV-7 dochází opět v brzkém věku, proto je tak většina starších dětí a dospělých duálně séropozitivních (>90 %). Nejčastější forma transmise je u obou herpesvirů horizontální prostřednictvím viru vylučovaného slinami. HHV-6 i HHV-7 vytvářejí latentní infekce, pravděpodobně v monocytech.¹⁷² Četnost reaktive u imunokompetentních jedinců není známá a u zdravých jedinců není s reaktivací spojeno žádná specifická symptomatologie. Existují však jasné důkazy o reaktivaci u imunosuprimovaných jedinců, jako jsou pacienti s AIDS a příjemci transplantátů. K infekci nebo reaktivaci HHV-6

dochází u 40 až 60 % pacientů po transplantaci kostní dřeně a u 30 až 55 % příjemců solidních orgánů.¹⁷³ K reaktivaci viru HHV-6 obvykle dochází během prvního měsíce po transplantaci a jedná se téměř výhradně o variant HHV-6 B. Podobně byla také v potransplantačním období zaznamenána reaktivace viru HHV-7.

Zejména HHV-6 byl v minulosti spojován se zvýšeným rizikem rejekce alotransplantátu, útlumem kostní dřeně nebo rozvojem CMV onemocnění.^{174,175} Jsou k dispozici data, která naznačují, že reaktivace HHV-6 u alogenních příjemců kostní dřeně a solidních orgánů může být asociována se zvýšeným rizikem vzniku CMV onemocnění.¹⁷⁶ Posloupnost, případně interakce reaktivací zmíněných virových agens a jejich přímé či imunopatologické působení u pacientů po transplantacích zůstává však i nadále otazné.

Serologické testy nejsou při sledování pacientů po transplantaci z hlediska reaktivace viru užitečné, protože u většiny jedinců dochází k serokonverzi již v raném dětství. Ačkoli HHV-6 i HHV-7 lze prokázat v cirkulujících lymfocytech nebo ve slinách, detekce viru ve slinách není užitečná, protože k vylučování dochází i u asymptomatických jedinců.¹⁷⁷ V důsledku toho by mělo být monitorování HHV-6 a HHV-7 prováděno v cirkulujících lymfocytech. Detekci obou virů lze provést přímou izolací infekčního viru nebo detekcí virové DNA pomocí PCR.

Vzhledem k výše popsanému nemáme k dispozici dostatek informací týkající se profylaxe nebo preemptivní strategie zaměřené na snížení rizika HHV-6 B infekce. Studie zahrnující příjemce transplantovaných orgánů, kteří užívali profylaktickou léčbu ganciklovirem zaměřenou na cytomegalovirus, ukazují možný pozitivní vliv i na HHV-6 B. Ve studii se 134 příjemci transplantované ledviny nebyla ganciklovirová profylaxe spojena s redukcí rizika reaktivace HHV-6.¹⁷⁸ V případě symptomatologie, kterou lze připsat HHV infekci, je v léčbě doporučen ganciklovir či foscarnet.¹⁷⁹

1.6.9 SARS-CoV-2 infekce a onemocnění COVID-19

Koronaviry jsou významnými lidskými a zvířecími patogeny. Na konci roku 2019 byl identifikován nový koronavirus jako příčina zápalu plic ve Wuhanu, městě v čínské provincii Hubei.¹⁸⁰ Vzhledem k rychlému šíření viru došlo velmi záhy k epidemii v celé Číně a následně ke globální pandemii. V únoru 2020 označila Světová zdravotnická organizace (WHO) toto onemocnění jako COVID-19. Koronaviry mají velký jednovláknový RNA genom. Virový genom obsahuje čtyři hlavní strukturní proteiny: hrot (S), membránu (M), obal (E) a nukleokapsidový protein (N). Virus se váže na hostitelskou buňku pomocí proteinu S se specifickým receptorem. Hostitelský receptor pro vstup viru je angiotenzin konvertující enzym 2 (ACE2).¹⁸¹ Po navázání na receptor se virus dostane do cytosolu hostitelské buňky, dojde ke spojení virové a buněčné membrány, po němž následuje translace virové genomové RNA. Po replikaci viru a syntéze subgenomické RNA dochází k vytvoření zralého viru. Viriony jsou poté transportovány na povrch buňky ve vezikulách a jsou uvolněny exocytózou. Stejně jako jiné viry se i SARS-CoV-2 v průběhu času

vyvíjí. Některé varianty vzbudily širokou pozornost kvůli svému rychlému šíření v populaci a důkazům týkajících se klinických konsekvencí. Každá varianta má několik označení založených na nomenklatuře používané různými fylogenetickými klasifikačními systémy; Světová zdravotnická organizace (WHO) určila označení pro významné varianty na základě řecké abecedy (Alfa, Beta, Gamma, Delta nebo Omicron varianta SARS-CoV-2).¹⁸²

Hlavním způsobem přenosu SARS-CoV-2 je přímý přenos z člověka na člověka. Předpokládá se, že k němu dochází hlavně kontaktem z bezprostřední blízkosti (tj. přibližně do vzdálenosti dvou metrů) prostřednictvím respiračních partikulí; virus uvolněný v sekretech dýchacích cest při kašli, kýchnutí nebo mluvení jedince s infekcí může nakazit jinou osobu, pokud je vdechnut nebo se dostane do přímého kontaktu se sliznicemi.¹⁸³ SARS-CoV-2 byl také zjištěn v nerespiračních vzorcích, včetně stolice, očních sekretů nebo spermatu. Úloha těchto míst v otázce transmise je však nejasná. Pravděpodobnost přenosu krví (např. krevními produkty nebo injekčními jehlami) se zdá být nízká; respirační viry se obecně nepřenášejí krevní cestou. Infikovaní jedinci jsou nejčastěji zdrojem přenosu během prvních 7 až 10 dnů onemocnění, kdy jsou hladiny virové RNA v horních cestách dýchacích nejvyšší.^{184,185} Doba vylučování virové RNA se liší interindividuálně a může se prodlužovat s věkem, závažností onemocnění nebo stupněm imunosuprese. V přehledu 28 studií byl souhrnný medián doby trvání detekce virové RNA v respiračních vzorcích 18 dní od nástupu příznaků; u některých jedinců byla však virová RNA detekována z respiračního traktu až několik měsíců po počáteční infekci.¹⁸⁶ Detekovatelná virová RNA nemusí nutně znamenat přítomnost infekčního viru a je možné, že existuje i prahová hodnota virové RNA, pod kterou je infekčnost již nepravděpodobná.¹⁸⁷ Vysoké koncentrace virové RNA se projevují nižším počtem amplifikačních cyklů reverzní transkriptázové polymerázové řetězové reakce (RT-PCR), které jsou nezbytné pro její detekci.

Charakter klinické manifestace a tíže COVID-19 závisí nejen na variantě a subvariantě SARS-CoV-2, ale současně i na vnímavosti jedince ke komplikovanějšímu průběhu onemocnění. Mezi rizikové faktory těžšího průběhu patří: věk, preexistující kardiovaskulární a plicní onemocnění, tíže imunosuprese, fyzická inaktivita v předchorobí, socioekonomické pozadí, pohlaví (muži měli disproporcionálně více těžkých a kritických onemocnění včetně celkové mortality pro COVID-19 oproti ženám) a některé laboratorní abnormality (lymfopenie, trombopenie, elevace zánětlivých markerů, elevace laktát dehydrogenázy nebo známky akutního poškození funkce ledvin během infekce SARS-CoV-2).¹⁸⁸ Inkubační doba COVID-19 je obvykle 14 dní po expozici, přičemž většina případů se objevuje přibližně čtyři až pět dní po kontaktu. Medián inkubační doby pro variantu SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.159) se zdá být o něco kratší; první příznaky se objevují zhruba za tři dny.^{189,190} U pacientů se symptomatickým COVID-19 jsou nejčastějšími příznaky kašel, myalgie a bolesti hlavy. Popisované jsou i další symptomy, jako průjemy, bolest v krku a porucha čichu nebo chuti. Nejčastějším závažným projevem infekce je pneumonie, která je charakterizována především horečkou, kašlem, dušností a oboustrannými infiltráty se subpleurální distribucí na grafickém vyšetření plic (CT; HRCT). Postižení

plic se může v průběhu onemocnění vyvíjet s vrcholem závažnosti 10 až 12 dní od počátku symptomatologie.¹⁹¹ Přestože počítačová tomografie (CT) plic může být citlivější než rentgenový snímek hrudníku a některé nálezy na CT mohou být charakteristické pro COVID-19 (např. ground glass opacities), žádný grafický nález nemůže zcela vyloučit ani potvrdit možnost onemocnění COVID-19. Např. ve Spojených státech amerických radiologická společnost (American College of Radiology, ACR) nedoporučuje používat CT plic pro screening nebo diagnostiku COVID-19 a doporučuje jej vyhradit pouze pro hospitalizované pacienty, pokud je to nezbytné pro volbu managementu COVID-19.¹⁹² Běžnými laboratorními nálezy u pacientů s COVID-19 jsou: lymfopenie, zvýšená hladina aminotransamináz (ALT, AST), zvýšená hladina laktátdehydrogenázy (LD), zvýšené hodnoty zánětlivých markerů (např. feritin, C-reaktivní protein a rychlost sedimentace erytrocytů) a abnormality v koagulačních testech (např. prodloužené aPTT). V úvodu má většina pacientů s nálezem pneumonie často normální hladinu prokalcitoninu (PCT) v séru; u pacientů vyžadujících pobyt na jednotce intenzivní péče je však často hladina PCT zvýšená.^{191,193} Ačkoli některé klinické příznaky (zejména poruchy čichu nebo chuti) jsou u COVID-19 častější než u jiných virových respiračních infekcí, neexistují žádné specifické symptomy a kolaterální znaky, které by spolehlivě COVID-19 odlišily. Symptomatické onemocnění může probíhat svou závažností od mírného až po kritické. Každý stupeň závažnosti onemocnění je přesně definován charakterem symptomů a jejich tíží, radiologickým nálezem, potřebou hospitalizace, ventilačními a hemodynamickými parametry nebo stavem vědomí pacienta.^{191,193,194} Mezi komplikace SARS-CoV-2 infekce patří zejména respirační insuficience (ARDS), tromboembolická nemoc, srdeční arytmie, myokardiální léze (včetně zánětu; perimyokarditidy), srdeční selhání, akutní poškození funkce ledvin (AKI), neurologická symptomatologie včetně encefalopatie (popisovaná až u 1/3 hospitalizovaných pacientů), hyperinflamatorní stav charakteru cytokine release syndromu (CRS) nebo vyšší riziko sekundární infekcí včetně bakteriálních.^{191,193,195} Velké observační studie a metaanalýzy uvádějí výskyt AKI u 28-34 % všech hospitalizovaných pacientů a u 46-77 % na jednotkách intenzivní péče.¹⁹⁶ Navzdory velmi omezeným informacím o patogenezi poškození ledvin u COVID-19 se zdá, že AKI zahrnuje komplexní proces zprostředkovaný virovým poškozením, působením cytokinů, dysregulací komplementu, hyperkoagulací a mikroangiopatií v interakci s běžnými a známými rizikovými faktory AKI (např. dehydratace a hypovolémie).¹⁹⁶ Tíže onemocnění a charakter orgánové manifestace poté reflektuje konkrétní přístup k pacientovi s COVID-19 včetně jeho managementu (farmakoterapie).¹⁹⁴ Doba do uzdravení („recovery time“) z COVID-19 je variabilní a závisí kromě závažnosti onemocnění také na věku, vakcinačním statusu, tíži imunokompromitace a preexistujících komorbiditách. U jedinců s mírnou infekcí se očekává relativně rychlé zotavení (např. do dvou týdnů), zatímco u mnoha jedinců se závažným onemocněním je doba do zotavení výrazně delší (např. dva až tři měsíce). Mezi nejčastější přetrvávající příznaky patří únava, problémy s pamětí, dušnost, bolest na hrudi, kašel či kognitivní deficit.

Klinické podezření podložené symptomatologií či epidemiologickým rizikem otevírá dveře k potvrzení diagnózy SARS-CoV-2 infekce. Diagnostickými

pilíři jsou testy na bázi detekce virové RNA pomocí reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) či testování antigenu SARS-CoV-2.^{184,185,191,197} Testovaný vzorek se nejčastěji odebírá stěrem z nosohltanu. Metodou volby je RT-PCR pro její vyšší citlivost oproti antigenním testům. Cycle threshold (Ct) označuje počet cyklů v RT-PCR potřebných k amplifikaci virové RNA na detekovatelnou úroveň. Hodnota Ct tak může napovědět relativní hladinu virové RNA ve vzorku (nižší hodnoty Ct odrážejí vyšší hladiny viru). Pacienti s hodnotou $Ct \leq 35$ byli naší laboratoří identifikováni jako SARS-CoV-2 pozitivní.⁵⁸ Antigenní testy jsou dostupnější, pohodlnější a méně nákladné než amplifikační testy, zároveň mají kratší dobu provedení. Osoby, které používají antigenní testy, by měly být srozuměny s tím, že jejich citlivost je nižší než citlivost RT-PCR a negativní antigenní test provedený pro příznaky nebo nedávný rizikový kontakt obecně vyžaduje buď opakování vyšetření antigenu, nebo provedení amplifikační metody v laboratoři.^{197,198} Systematické přehledy studií ukazují, že nejcitlivější jsou antigenní testy u symptomatických jedinců během prvního týdne onemocnění.^{197,199,200} Pozitivní RT-PCR nebo antigenní test svědčí o infekci a není třeba jej opakovat. Hodnocení virové nálože SARS-CoV-2, pomocí detekce jeho antigenu v séru enzymatickou imunoanalytickou metodou (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay), využívala mnohá centra v případě „borderline“ Ct nálezů, nebo v případě rozhodování o zahájení antivirové léčby u pacientů s delší dobou trvání symptomatologie (např. volba užití remdesiviru u pacienta s délkou symptomů ≥ 10 dnů).^{22,58}

Vysoké procento pacientů po transplantaci ledviny s COVID-19 vyžaduje hospitalizaci a jejich mortalita se pohybuje v rozmezí 10-30 %.¹⁹⁻²² Kromě chronické imunoprese může za nepříznivé výsledky vysoký podíl pacientů, kteří jsou starší nebo mají přidružené komorbidity.^{20-22,201} Vzhledem k omezeným terapeutickým možnostem je maximální úsilí zaměřeno na prevenci COVID-19. Ze škály nabízených preventivních opatření se zdá být nejslibnější cestou účinná vakcinace.²⁰²⁻²⁰⁴ V tuto chvíli již víme, že i přes kompletní základní dvoudávkové schéma, jsou pacienti po transplantaci ledviny nadále ve vysokém riziku onemocnění COVID-19 s těžkým průběhem a vysokou úmrtností.^{19-22,58} Dostupné údaje ukazují nedostatečnou protilátkovou odpověď k vakcinaci, na rozdíl od robustní odpovědi pacientů, kteří se z COVID-19 zotavili.^{22,205} Některé práce uvádí pozitivní protilátkovou odpověď k základnímu (dvoudávkové) vakcinačnímu schématu pouze u 20 % očkovaných pacientů, jiné méně než 40 %.²⁴⁻²⁶ Navzdory redukované protilátkové odpovědi byl po druhé dávce očkování pozorován narůstající počet specifické SARS-CoV-2 T-buněčné populace.²⁰⁶⁻²⁰⁸ Ta je však předmětem diskuzí. Vzhledem k řadě funkčních abnormalit u této skupiny pacientů a již předvakcinační pozitivitě plynoucí pravděpodobně z krosreakivity není jasné, zda takto vakcinací navozená buněčná imunita koreluje se stupněm ochrany proti COVID-19 u pacientů po transplantaci ledviny.^{22,58,208} Zdá se, že třetí dávka vakcíny v adjuvantním schématu zvyšuje protilátkovou odpověď, včetně virus neutralizační kapacity, ale pouze u malé podskupiny dříve seronegativních příjemců solidních orgánů (33-49 %).²⁷⁻³⁰ Homologní i heterologní adjuvantní vakcinační strategie se zdá být bezpečná a dobře tolerovaná. V přímém srovnání vektorové (Ad26COVS) a mRNA (BNT162b2/mRNA-1273) vakcíny po dvou nebo

třech předchozích dávkách mRNA u příjemců transplantované ledviny, kteří zůstali seronegativní, však nebyl pozorován významný rozdíl v humorální i buněčné odpovědi.^{30,59} Stejně tak další randomizovaná studie neprokázala významný rozdíl v imunogenním potenciálu mezi homologním a heterologním vakcinačním režimem.²⁰⁹ Čtvrtá dávka SARS-CoV-2 vakcíny u příjemců ledviny je bezpečná, avšak potenciál zvýšit titer protilátek na úroveň neutralizační aktivity má pouze u marginální části pacientů (19-42 %), kteří nereagovali adekvátně na dávku třetí.³¹⁻³³ Vzhledem k rychlému vývoji jednotlivých variant SARS-CoV-2 byla snaha optimalizovat vakcinační přístup. Z provedených analýz víme, že v úvodu doporučené vakcinační schéma monovalentními vakcínami nemá zdaleka takovou neutralizační účinnost proti recentně nejrozšířenější variantě SARS-CoV-2 Omicron a sub-variantám.²¹⁰⁻²¹² Proto již ke konci roku 2022 nahradily bivalentní vakcíny Moderna a Pfizer-BioNTech, které obsahují stejné množství antigenní mRNA předcházejících a omikronových sub-variant, v booster vakcinačním schématu monovalentní předchůdce. Řada randomizovaných studií ukazuje ve svých výsledcích superioritu bivalentních vakcín v posilujícím schématu s ohledem na imunogenní potenciál (včetně virus neutralizační kapacity) proti novým variantám viru (včetně BQ.1.1 a XBB) ve srovnání s monovalentními vakcínami.^{213,214} Několik studií rovněž naznačuje, že bivalentní boostery snižují výskyt symptomatických onemocnění COVID-19, hospitalizací a úmrtí napříč věkovým spektrem.^{215,216} Současně si bivalentní vakcíny zachovávají vynikající bezpečnostní profil. Další možností, jak zvýšit pravděpodobnost kýžené protilátkové odpovědi k vakcinaci, je navýšení očkovačích dávek. Toto tvrzení podporuje řada prací, ve kterých byla posuzována protilátková odpověď na vyšší vakcinační dávku u běžné populace a u osob užívající imunosupresi.^{56-59,217,218} U rizikových imunokompromitovaných pacientů, včetně těch po orgánových transplantacích, kteří ukázali insuficientní humorální odpověď k předešlému očkování, lze zvážit možnost pasivní imunizace (pre-expoziční profylaxe) podáním anti-SARS-CoV-2 monoklonálních protilátek (tixagevimab-cilgavimab; Evusheld). V profylaktické dávce u této skupiny pacientů významně snižují riziko výskytu symptomatického COVID-19.²¹⁹ Je však potřeba dodat, že preparát Evusheld má významně sníženou neutralizační účinnost proti variantě Omicron a jeho sub-variantám (BA.1, BA.4, BA.5) v porovnání s předchozími variantami SARS-CoV-2.²²⁰

Mezinárodní transplantační společnosti doposud nepublikovaly komplexní doporučení pro léčbu COVID-19, stejně tak nebyly provedeny randomizované studie srovnávající léčebné přístupy v populaci pacientů po orgánových transplantacích. Proto vycházíme z doporučených postupů pro obecnou populaci se specifikacemi pro pacienty po transplantaci ledviny, pokud jsou relevantní.^{19,194,221,222} Gró antivirové léčby u pacientů s COVID-19 představuje remdesivir. Jeho podání je indikované u pacientů s potvrzenou COVID-19 pneumonií, kteří vyžadují oxygenační podporu včetně vysokoprůtokové nasální oxygenoterapie (HFNO) nebo neinvazivní ventilační podporu (NIV).^{194,221,222} V porovnání s placebem významně snižuje 28denní mortalitu a zkracuje dobu do zotavení („recovery time“) u pacientů iniciálně léčených kyslíkem. Současně zkracuje nutnost podávání konvenční oxygenoterapie. Největší prospěch z léčby mají pacienti, u kterých

je zahájena léčba remdesivirem do 7-10 dnů od úvodních symptomů. Zkracuje dobu na umělé plicní ventilaci a snižuje riziko nové potřeby ventilační podpory u pacientů, kteří ji dříve nevyžadovali. V klasickém terapeutickém režimu se podává v dávce 200mg intravenózně první den, následně 100mg denně do celkových 5 dnů.²²³⁻²²⁵ Je současně schválený pro léčbu pacientů, kteří nevyžadují hospitalizaci, ale jsou ve vysokém riziku progresu onemocnění a jejich symptomy netrvají déle než 7 dní. U této skupiny pacientů významně snižuje riziko hospitalizace pro COVID-19 a riziko úmrtí z jakékoliv příčiny. V profylaktickém režimu se podává v dávce 200 mg intravenózně den první, následně 100 mg denně po dobu celkových 3 dnů.²²⁶ Možnosti perorální antivirové léčby jsou omezené. U pacientů s lehkým či středně závažným průběhem COVID-19, kteří jsou ve vysokém riziku progresu onemocnění, nevyžadují hospitalizaci a jejich symptomy netrvají déle než 5 dní, ukazuje molnupiravir rozporuplné výsledky s ohledem na četnost hospitalizací pro COVID-19 a mortalitní benefit.^{227,228} Užití kombinovaného antivirovika nirmatrelvir-ritonavir (Paxlovid) se zdá být v porovnání s molnupiravirem z tohoto pohledu účinnější, avšak pro jeho četné lékové interakce (ritonavir je silným inhibitorem CYP3A4), včetně imunosupresivní léčby (takrolimus, cyklosporin), je u pacientů po transplantaci ledviny v ambulantní léčbě prakticky nepoužitelný.^{229,230} Dexamethason je schopný imunomodulace excesivní systémové inflamace a ovlivnění průběhu SARS-CoV-2 infekce. V souladu s mechanismem účinku kortikoidů se předpokládá příznivý efekt léčby u pacientů, u kterých je zahájena léčba po zhruba 7 dnech trvání onemocnění. Podání dexamethasonu či jiného steroidu (většina studií byla však provedena s dexamethasonem) v analogické dávce je doporučeno u pacientů, kteří vyžadují konvenční oxygenoterapii i jakoukoliv jinou formu respirační podpory (HFNO, NIV, UPV).^{194,221,222} Snižuje mortalitu o 36 % oproti standardní péči u pacientů vyžadujících UPV a o 18 % u pacientů vyžadujících oxygenoterapii bez potřeby UPV. Vyšší benefit z léčby kortikoidy mají pacienti, kteří vyžadují vyšší oxygenační podporu.²³¹ Naopak není prokázán jakýkoliv prospěch z léčby kortikoidy u pacientů, kteří nevyžadují respirační podporu. Užití profylaktické antikoagulační léčby (preferenčně LMWH; enoxaparin 40 mg denně, dalteparin 5000 IU denně) je doporučeno u pacientů se středně těžkým, těžkým či kritickým průběhem COVID-19, kteří zároveň nejsou ve vysokém riziku krvácivé komplikace.^{194,221,222,232} U kriticky nemocných pacientů nepřináší navýšení LMWH do terapeutické dávky klinický benefit (mortalita, organ free support days) oproti dávce profylaktické.^{221,222,233,234} Není dostatek důkazů o rutinním užití profylaxe u pacientů s lehkým průběhem. U pacientů s COVID-19, kteří užívají kalcineurinové inhibitory (takrolimus, cyklosporin) v rámci udržovací imunosuprese, je doporučena monitorace těchto léčiv. Vyšší hladiny takrolimu jsou způsobené především vyšší absorpcí z GIT (průjemy) a aktivitou IL-6 (inhibuje cytochrom P450, CYP3A4). Vyšší hladiny kalcineurinových inhibitorů jsou spojené s horším klinickým výstupem pacientů (vyšší riziko sekundárních infekcí, přímá toxicita kalcineurinu).^{235,236}

2 Praktická část

2.1 Nedostatečná odpověď k SARS-CoV-2 mRNA vakcinaci a vysoký výskyt závažné formy COVID-19 u příjemců transplantované ledviny během pandemie

Východisko

Vysoké procento pacientů po transplantaci ledviny s COVID-19 vyžaduje hospitalizaci a jejich mortalita se pohybuje mezi 10 a 30 %.¹⁹⁻²² Kromě chronické imunoprese může za nepříznivé výsledky vysoký podíl příjemců, kteří jsou vyššího věku nebo mají přidružené komorbidity.^{20-22,201} Vzhledem k omezeným terapeutickým možnostem je maximální úsilí zaměřeno na prevenci COVID-19.

Metodika

Design studie a výběr pacientů

Retrospektivní a prospektivní skupiny zahrnovaly dospělé příjemce transplantované ledviny z jednoho transplantačního centra (Fakultní nemocnice Karlovy univerzity v Plzni), kteří byli v tomto centru sledováni a léčeni. Do konce června 2021 byli retrospektivně analyzováni pacienti, kteří v lednu 2021 absolvovali kompletní vakcinaci (dvě dávky ve 4týdenním intervalu) BNT162b2 mRNA (Comirnaty, Pfizer/BioNTech, Mainz, Německo). Pacienti, kteří se nakazili COVID-19 před očkováním, byli vyloučeni. Dva týdny po obdržení druhé dávky byl pacient považován za plně očkovaného. Kontrolní skupinu tvořili neočkovaní pacienti bez předchozí diagnózy COVID-19, kteří byli retrospektivně hodnoceni během podzimní vlny COVID-19 od září 2020 do konce prosince 2020. Do prospektivní studie byli pak zařazeni pacienti bez anamnézy COVID-19, kteří byli v únoru 2021 očkováni BNT162b2 mRNA (dvě dávky ve 3týdenním intervalu). Všichni pacienti byli vyšetřeni pomocí PCR na přítomnost SARS-CoV-2 RNA z výtěrů z nosohltanu. Současně v době první dávky byly stanoveny hladiny SARS-CoV-2 IgG. Pacienti s pozitivním výsledkem PCR a/nebo SARS-CoV-2 IgG byli ze studie vyloučeni. Humorální (SARS-CoV-2 IgG) i buněčná imunitní odpověď byly hodnoceny 4 týdny po druhé dávce. Druhou skupinu prospektivní studie tvořili pacienti, kteří prodělali předchozí infekci COVID-19 2-6 měsíců před účastí ve studii a u nichž byla hodnocena humorální a buněčná odpověď. Studie byla schválena místní etickou komisí a byla provedena v souladu s Helsinskou a Istanbulskou deklarací. Od všech pacientů v prospektivní kohortě byl získán písemný informovaný souhlas.

Hodnocení SARS-CoV-2 humorální odpovědi

K detekci protilátek IgG proti receptorové vazebné doméně (RBD) v S1 podjednotce spike proteinu (IgG anti-S1-RBD) byl použit automatický chemiluminiscenční (CLIA) test ACCESS SARS-CoV-2 IgG II (katalogové

číslo výrobce C69057) (Beckman Coulter, Brea, CA). Podle pokynů výrobce byly koncentrace protilátek >10 arbitrárních jednotek na mililitr (AU/ml) považovány za potvrzení protilátkové odpovědi proti SARS-CoV-2.

Hodnocení specifické SARS-CoV-2 buněčné imunity

Kvantifikace buněk produkujících interferon gama (IFN- γ) a interleukin 2 (IL-2) byla provedena na rozmražených mononukleárních buňkách periferní krve (PBMC) v koncentracích 2×10^5 CD3+ T buněk na jamku pomocí modifikované dvoubarevné enzymové absorpční analýzy (ELISpot) (Mabtech, Švédsko). Za pozitivní byl považován výsledek $\geq 11-13$ buněk tvořících skvrny (spot forming cells, SFC) na 2×10^5 buněk pro různé antigenní stimulační.^{237,238}

Definice cílů studie a sledování

Primárním cílem byl v retrospektivních kohortách výskyt COVID-19 u očkovaných a neočkovaných pacientů. Sekundární cíle zahrnovaly analýzu tíže průběhu COVID-19 a mortality v souvislosti s onemocněním spolu s analýzou potenciálních faktorů, které predikují rozvoj COVID-19 po očkování. Průběh COVID-19 byl porovnáván mezi očkovanými a neočkovanými pacienty. Hlavními sledovanými parametry byly v prospektivní kohortě humorální a buněčná imunitní odpověď hodnocená 4 týdny po druhé vakcinační dávce. Humorální odpověď této kohorty byla porovnána se skupinou pacientů, kteří se z COVID-19 zotavili. Dalšími sledovanými parametry byla incidence COVID-19 po očkování a bezpečnost očkování hodnocená pomocí dotazníků a laboratorních parametrů. Období sledování bylo ukončeno 30. června 2021.

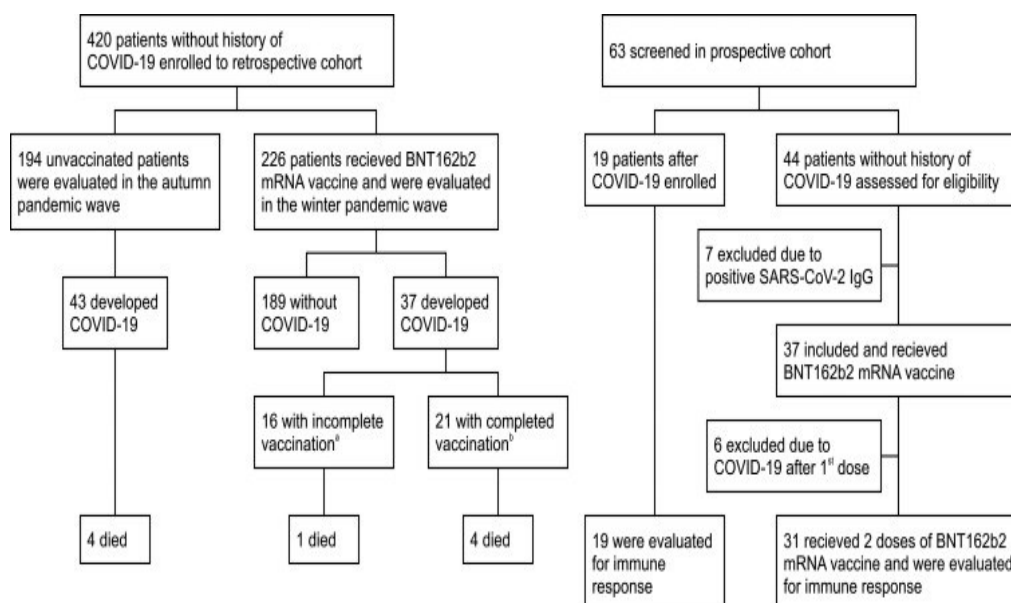
Statistická analýza

Kvantitativní parametrické údaje byly porovnávány pomocí Studentova t-testu nebo Mann-Whitney U-testu pro neparametrické rozdělení. Kvalitativní data byla analyzována pomocí chí-kvadrát (χ^2) nebo Fisherova testu. Hladiny SARS-CoV-2 IgG a počty SFC po antigenní stimulaci byly, vzhledem k neparametrickému rozdělení, před a po očkování porovnávány pomocí Wilcoxon signed-rank testu. Jako potenciální rizikové faktory pro COVID-19 po očkování byly hodnoceny kovariáty související s příjemcem, dárcem a transplantací. Nejprve byla provedena logistická regresní analýza. Kovariáty s hodnotou $P \leq .2$ byly zahrnuty do vícerozměrné dopředné krokové logistické regrese. Výsledky byly vyjádřeny jako poměry šancí (OR) a 95% intervaly spolehlivosti (CI). Statistické výpočty byly provedeny pomocí softwaru SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC). Statistická významnost byla stanovena na $p < .05$.

Výsledky

COVID-19 po vakcinaci

Retrospektivní soubor zahrnoval 420 pacientů (Obrázek 1). Od začátku ledna 2021 obdrželo mRNA vakcínu 226 pacientů. U 37 z nich (16 %) byl později diagnostikován COVID-19. Šestnáct pacientů, kteří se nakazili COVID-19, nebylo očkováno kompletně; 21 pacientů se nakazilo po ukončení očkování. Medián doby od první dávky do výskytu COVID-19 byl 45 dní s maximem 105 dní. Během podzimní pandemické vlny bylo vyhodnoceno 194 neočkovaných pacientů a u 43 (22 %) z nich byl diagnostikován COVID-19. Ve srovnání s neočkovanou skupinou měli vakcinovaní pacienti kratší dobu po transplantaci a častěji trpěli diabetem mellitem a kardiovaskulárním onemocněním. Obě skupiny byly srovnatelné z hlediska ostatních demografických charakteristik, včetně imunosupresivní terapie (Tabulka 1). Průběh COVID-19 byl srovnatelný mezi očkovanou a neočkovanou skupinou, přičemž obě skupiny vykazovaly podobnou potřebu hospitalizace (41 % vs. 40 %, $p = 1.000$). Rozdíl nebyl zaznamenán také v mortalitě. Ve vakcinované skupině došlo k úmrtí u 5 pacientů (14 %) a v neočkované skupině celkem ke 4 (9 %, $p = .726$). U pacientů s kompletní vakcinací jsme nepozorovali mírnější průběh COVID-19 ve srovnání s pacienty, kteří nedosáhli kompletní vakcinace. Ve srovnání s pacienty bez COVID-19 se u pacientů, kteří onemocněli COVID-19, tato infekce vyskytla ve výrazně kratší době po transplantaci. Současně byli tito pacienti po kratší dobu dependentní na RRT (renal replacement therapy), častěji užívali takrolimus a lymfodepleční protilátkovou terapii v recentních 6 měsících. Multivariační analýza však ukázala, že krátká doba od transplantace byla jediným nezávislým rizikovým faktorem pro nákazu COVID-19 po očkování. Přítomnost kardiovaskulárního onemocnění se ukázala jako protektivní.



Obrázek 1 - Flowchart studie

Tabulka 1 - Charakteristika retrospektivní kohorty podle vakcinačního statusu

	nevakcinovaní (n=19)	mRNA vakcinace (n=226)	hodnota P
Věk (roky)	58±13	58±11	.948
Pohlaví (muži)	130 (67)	143 (63)	.485
Doba po transplantaci (měsíce)	118±85	88±76	<.001
Předchozí transplantace	21 (11)	21 (9)	.720
Příčina end stage kidney			.054
Chronická glomerulonefritida	90 (46)	111 (49)	
Diabetická nefropatie	10 (5)	14 (6)	
Polycystická choroba ledvin	36 (19)	40 (18)	
Hypertenze/nefroskleróza	31 (16)	21 (9)	
Jiné	6 (16)	34 (18)	
Doba trvání RRT (měsíce)	17±17	19±21	.490
Typ dárce (zemřelí)	178 (92)	210 (93)	.791
Body mass index (kg/m ²)	29±5	29±5	.087
Diabetes	44 (23)	79 (35)	.008
Hypertenze	192 (99)	226 (100)	.413
Kardiovaskulární onemocnění	55 (28)	106 (47)	<.001
Chronické plicní onemocnění	22 (11)	26 (12)	.919
Odhadovaná GFR ^a (ml/min)	49±20	50±20	.993
Imunosuprese v době vakcinace			
Takrolimus	161 (83)	195 (86)	.424
Cyklosporin	26 (13)	25 (11)	.560
Mykofenolát mofetil/sodná sůl	170 (88)	200 (88)	.903
Sirolimus	5 (3)	7 (3)	.980
Depleční ALA do 6 měsíců	2 (1)	2 (1)	.726

Data jsou počty pacientů (procenta) nebo průměr ± SD.

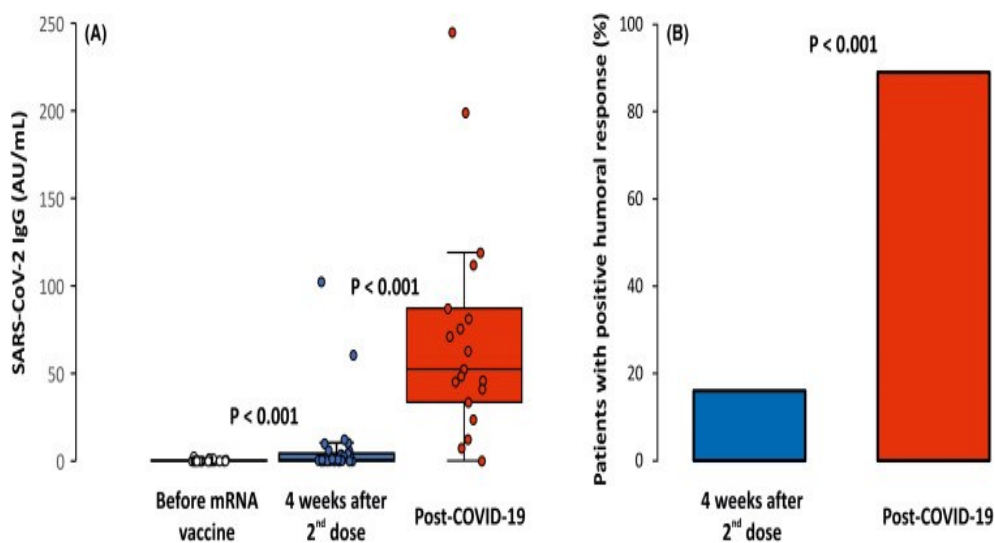
Zkratky: ALA, antilymphocyte antibody; COVID-19, coronavirus disease 2019; GFR, glomerular filtration rate; RRT, renal replacement therapy.

^aOdhadovaná GFR byla vypočtena podle vzorce CKD-EPI.

Specifická SARS-CoV-2 imunitní odpověď po vakcinaci a po COVID-19: prospektivní kohorta pacientů

Ze 44 pacientů bez anamnézy COVID-19 bylo vyloučeno 7 z nich pro pozitivitu SARS-CoV-2 IgG. Třicet sedm pacientů tak obdrželo mRNA vakcínu. U šesti pacientů byl po první dávce diagnostikován COVID-19, z nichž jeden pacient zemřel. Tito pacienti byli z analýzy vyloučeni (Obrázek 1). Třicet jedna pacientů obdrželo obě dávky mRNA vakcíny, a proto u nich byla následně provedena analýza humorální a buněčné imunity. Skupinu COVID-19 tvořilo (v období 2-6 měsíců po stanovení diagnózy) 19 pacientů. Všichni pacienti měli mírné nebo středně těžké onemocnění. Vakcinovaná a COVID-19 skupina se nelišily v základních demografických parametrech a v imunosupresivní léčbě. Pozorovali jsme významné, avšak velmi mírné navýšení hladin anti-RBD-S1 IgG po očkování ve srovnání s hladinami před vakcinací (0.4 ± 0.5 vs. 7.4 ± 20.8 AU/ml, $p < .001$). Pouze 5 pacientů po kompletní vakcinaci (16 %) dosáhlo pozitivní humorální odpovědi na rozdíl od drtivé většiny, tj. 17 pacientů (89 %, $p < .001$), kteří se z COVID-19 uzdravili. Hladiny IgG byly podstatně vyšší v COVID-19 skupině oproti mRNA vakcinované skupině (7.4 ± 20.8 vs. 71.8 ± 62.5 AU/ml, $p < .001$) (Obrázek 2). Po vakcinaci došlo ke zvýšení počtu SARS-CoV-2 specifických T-buněk hodnocených ELISpot technikou po stimulaci dvěma druhy antigenních poolů. Významné rozdíly byly však pozorovány pouze u buněk produkujících IL-2 (11 ± 30 vs. 15 ± 17 SFC na 2×10^5 PBMC s poolem peptidů SNMO a 10 ± 20 vs. 16 ± 17 SFC na 2×10^5 PBMC s poolem peptidů

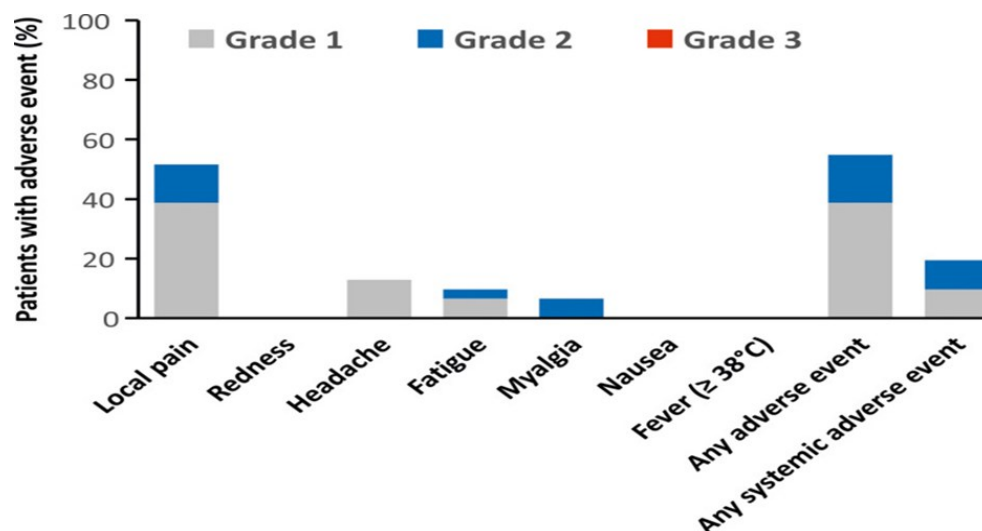
S1, $p < .001$). Procento pacientů s pozitivní buněčnou odpovědí se zvýšilo z 26-30 % před očkováním na 45-55 % po očkování. Pozitivní buněčné odpovědi s alespoň jedním druhem stimulace (IFN- γ nebo IL-2) bylo dosaženo u 22 pacientů (71 %) po vakcinaci ve srovnání se 14 (47 %, $p = .071$) před vakcinací. Všichni pacienti s humorální odpovědí vykazovali také pozitivní buněčnou odpověď. Analýza demografických parametrů a imunosupresivní léčby neprokázala žádný faktor, který by předpovídal odpověď na mRNA vakcínu. T-buňky specifické pro SARS-CoV-2 bylo možné vyhodnotit pouze u 11 pacientů, kteří se zotavili z COVID-19 se srovnatelnou odpovědí jako u pacientů po očkování.



Obrázek 2 - Protilátková odpověď po mRNA vakcinaci a COVID-19 Hladiny SARS-CoV-2 IgG jsou uvedeny v části (A) a procento pacientů s pozitivní odpovědí je definováno hodnotou ≥ 10 AU/ml (B). Minimální a maximální hodnoty s vyloučením odlehlých hodnot jsou znázorněny metličkami; medián a interkvartilové rozpětí jsou uvnitř rámečků. Pro porovnání hladin IgG před a po vakcinaci byl použit Wilcoxon signed-rank test; pro porovnání hladin IgG a pozitivní odpovědi po vakcinaci a po COVID-19 byl použit Mann-Whitney U-test a χ^2 test. COVID-19, koronavirové onemocnění 2019; SARS-CoV-2, koronavirus těžkého akutního respiračního syndromu 2.

Bezpečnost SARS-CoV-2 mRNA vakcíny

První i druhá dávka mRNA vakcíny BNT162b2 byly bezpečné a dobře tolerované. Nejčastěji hlášenou nežádoucí reakcí byla lokální bolest v místě vpichu (52 %), přičemž ve všech případech se jednalo pouze o mírné až středně závažné reakce (Obrázek 3). Systémové reakce se vyskytly pouze u 19 % pacientů. Funkce ledvin zůstala po vakcinaci stabilní a u žádného z pacientů nedošlo k rejekci štěpu.



Obrázek 3 - Lokální a systémové reakce hlášené po očkování mRNA BNT162b2
 Hodnoceno u pacientů bez COVID-19 (n = 31). Nebyly zaznamenány nežádoucí reakce 3. nebo 4. stupně a hospitalizace v souvislosti s očkováním. Kreatinin v séru zůstal stabilní 4 týdny po druhé dávce vakcíny ($157 \pm 97 \mu\text{mol/l}$) ve srovnání s hladinou před očkováním ($162 \pm 94 \mu\text{mol/l}$).

Diskuze

Tato studie ukázala, že navzdory dobrému bezpečnostnímu profilu je nedostatečná účinnost SARS-CoV-2 mRNA vakcíny BNT162b2 u pacientů po transplantaci ledviny velkým problémem. Až 80 % očkovaných pacientů nedosáhlo po dvou dávkách pozitivní humorální odpovědi, na rozdíl od 90 % pacientů, kteří prodělali infekci COVID-19. Současně byly hladiny SARS-CoV-2 IgG dramaticky vyšší po prodělaném COVID-19 oproti pacientům po očkování. Parametry buněčné imunity vykazovaly po očkování výrazné zvýšení a specifická SARS-CoV-2 imunita byla prokazatelná až u 71 % pacientů. Skutečná ochrana před COVID-19 byla však minimální. V epidemiologicky nepříznivých podmínkách se 16 % vakcinovaných pacientů nakazilo COVID-19 během následujících 3 měsíců, přičemž jsme evidovali vysoký podíl těžkých průběhů a vysokou úmrtnost. Průběh COVID-19 byl srovnatelný, včetně mortalitních dat, jako u neočkovaných příjemců transplantované ledviny během předchozí podzimní vlny pandemie. Pacienti s kompletním očkováním neměli mírnější příznaky COVID-19 oproti pacientům s nedokončeným očkováním.

Sledování pacientů probíhalo v době vrcholící pandemie, kdy byla v populaci nejvíce rozšířena varianta B.1.1.7 (alfa) SARS-CoV-2, kmen s vysokou transmisibilitou, což ovlivnilo vysoký výskyt COVID-19 v našem souboru.²³⁹ Zaznamenali jsme 37 infekcí u 226 očkovaných pacientů za 105 dní, což odpovídá sedmidenní incidenci 1091 nových případů na 100 000 obyvatel, což překonalo incidenci v obecné populaci za stejné období (528 případů na začátku studie s maximem 1050). Naše kontrolní skupina pacientů z podzimní vlny nebyla plně srovnatelná s kohortou očkovaných; pacienti měli dlouhou dobu od transplantace a všichni byli infikováni divokým typem (wild-type) SARS-CoV-2. Současně dodržování protiepidemických opatření může být u očkovaných pacientů nízké. Výsledky COVID-19 se u našich

pacientů jeví stejně nepříznivé jako u kohort příjemců transplantované ledviny před érou očkování.¹⁹⁻²¹ Ačkoli 14 % mortalita se blíží dolní hranici dříve publikovaných údajů, řada studií popisuje výsledky převážně u hospitalizovaných pacientů pro COVID-19.²⁰¹ Naše studie zahrnuje všechny případy COVID-19, včetně nehospitalizovaných pacientů, u kterých může být mortalita i nižší než 10 %.²⁰ V našem souboru byla nejsilnějším rizikovým faktorem pro vznik COVID-19 po vakcinaci krátká doba od transplantace. Tento výsledek je vysvětlitelný jednak vysokou mírou imunosuprese u pacientů krátce po transplantaci, ale také nutností častých hospitalizací v úvodu se zvýšeným epidemiologickým rizikem. Analýza imunosupresivních léků však neprokázala souvislost mezi jednotlivými preparáty a incidencí COVID-19. Důvod protektivního účinku kardiovaskulárních onemocnění není zřejmý. Lze spekulovat o tom, že pacienti bez kardiovaskulárního onemocnění jsou mobilní, mají sociální kontakty, a proto jsou vystaveni vyššímu riziku nákazy SARS-CoV-2.

V navazující prospektivní studii dosáhlo pozitivních hladin anti-RBD-S1 IgG 4 týdny po podání dvou dávek mRNA vakcíny BNT162b2 pouze 16 % pacientů. U příjemců po transplantaci solidních orgánů byla opakovaně evidována nedostatečná humorální odpověď k vakcinaci.²⁴⁻²⁶ Někteří autoři naopak popisují vysoké procento pacientů (až 54 %) schopných vytvořit signifikantní titr SARS-CoV-2 IgG.^{24,26} Naproti tomu jiná data uvádí přítomnost protilátkové odpovědi pouze u marginálního počtu (<10 %) očkovaných pacientů.^{25,208} Výsledky se mohou lišit v důsledku rozdílného složení pacientů a zejména intenzity imunosupresivní léčby. Všichni naši pacienti užívali mykofenolát mofetil (nebo sodnou sůl), který je prokázaným rizikovým faktorem insuficientní humorální odpovědi k vakcinaci.^{24,26} Ačkoli jsou popsány i další rizikové faktory, rozhodující je charakter a tíže imunosuprese, což nepřímo potvrzuje dobrá humorální odpověď u dialyzované populace.²⁰⁸ Buněčná imunitní odpověď byla po očkování naopak přítomna téměř u tří čtvrtin pacientů. Tento výsledek je srovnatelný s pacienty, kteří se zotavili z COVID-19. Nicméně jen velmi malý počet vyšetřených pacientů, kteří se zotavili z COVID-19, vylučuje relevantní srovnání. Po druhé dávce vakcíny došlo, po stimulaci antigenními pooly SARS-CoV-2, ke zvýšení počtu IFN- γ a IL-2 sekretujících buněk. Dle očekávání byla buněčná imunita přítomna již před očkováním u velkého počtu pacientů bez anamnézy COVID-19 a serologicky negativních.²⁴⁰ Tato kros-reaktivita T-buněčné populace je pravděpodobně indukována na základě předchozí expozice jiným koronavírům. Naše klinická data i data dalších autorů vedou k pochybnosti, zda úroveň buněčné imunity navozená mRNA vakcínou poskytuje kýžený stupeň protekce proti infekci SARS-CoV-2 u pacientů po transplantaci ledviny.^{58,206-208} Podrobná analýza SARS-CoV-2 specifické T buněčné odpovědi pak ukázala ve srovnání se zdravými pacienty nebo dialyzovanou kontrolou nejen nižší počet reaktivních buněk, ale také významné funkční abnormality, jako je porucha produkce efektorových cytokinů nebo buněčné aktivace.²⁰⁶⁻²⁰⁸

Humorální odpověď u pacientů, kteří se zotavili z COVID-19, byla silnější ve srovnání s pacienty, kteří byli očkováni. Protilátková odpověď byla přítomna prakticky u všech pacientů a titry specifických SARS-CoV-2 IgG

byly vysoké.²⁰⁵ Toto pozorování tak dobře koreluje v rámci post-COVID-19 imunity také s funkcí T buněk, která je u transplantovaných pacientů ve své prozánětlivé funkci srovnatelná s běžnou populací.²⁴¹ Analogicky k našim výsledkům s COVID-19 můžeme uvést současně robustnější imunitní odpověď na přirozenou infekci virem chřipky u pacientů po transplantaci ve srovnání s příjemci, kteří byli proti chřipce pouze vakcinováni. První sledovaná skupina vykazovala nejen velkou diverzitu humorální odpovědi, ale také několikanásobně vyšší imunitu CD4+ T buněk.²⁴² Porozumění superioritě imunitní reakce k přirozeně probíhající infekci u imunokompromitovaných pacientů vyžaduje další studium; lze však spekulovat o tom, že se jedná o ko-stimulaci vrozené imunity, která je navozená přirozenou infekcí nebo expozicí širokému spektru antigenů.²⁴²

Naše studie má své limity. Test PCR k průkazu SARS-CoV-2 infekce byl prováděn především u pacientů se suspektní symptomatologií nebo u pacientů, kteří byli v kontaktu s COVID-19 pozitivními jedinci. Pouze malá část PCR testů byla prováděna u pacientů jako screening během hospitalizace z jiného důvodu. Proto mohly být některé asymptomatické průběhy COVID-19 přehlédnuty. Na druhou stranu velmi vysoký výskyt COVID-19 u našich pacientů, který v té době převyšoval regionální výskyt, naznačuje, že počet nedagnostikovaných případů COVID-19 byl malý. Dalším limitací může být fakt, že počet pacientů, u nichž byla měřena imunitní odpověď po očkování, byl omezený. Vzhledem k relativně homogenní imunopresivní terapii nebylo možné určit roli jednotlivých imunopresivních léků v odpovědi na očkování. V této práci jsme užili standardní dvoudávkové vakcinační schéma, přičemž v době publikace figurovala v doporučení pro transplantované pacienty již třetí adjuvantní dávka SARS-CoV-2 vakcíny.

Pacienti po transplantaci ledviny, navzdory absolvování kompletní mRNA vakcinace BNT162b2, zůstávají ve vysokém riziku těžkého průběhu COVID-19 s vysokou mortalitou. Protilátková odpověď očkovaných pacientů je významně nižší ve srovnání s pacienty, kteří se z COVID-19 zotavili. Buněčná odpověď je detekovatelná u většiny pacientů, nicméně úroveň ochrany proti COVID-19 zůstává nejistá. Proto je třeba u této rizikové skupiny pacientů optimalizovat vakcinační strategii, která by měla potenciál zajistit kýženou seroprotekci.

2.2 Účinnost a bezpečnost jedné a dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín u pacientů po transplantaci ledviny: randomizovaná klinická studie

Východisko

Pacienti po transplantaci ledviny jsou ohroženi závažným průběhem COVID-19 s vysokou mírou mortality.¹⁹⁻²² Navzdory kompletnímu úvodnímu a adjuvantnímu SARS-CoV-2 vakcinačnímu schématu zůstává značný počet pacientů bez uspokojivé serologické odpovědi.²⁴⁻³³ Proto je třeba hledat nástroje vedoucí k optimalizaci vakcinační strategie.

Metodika

Design studie a výběr pacientů

Tato prospektivní randomizovaná studie zahrnovala pacienty po transplantaci ledviny, kteří byli sledováni v jednom transplantačním centru (Fakultní nemocnice Univerzity Karlovy v Plzni) a u kterých byla zjištěna nedostatečná humorální odpověď (SARS-CoV-2 IgG <10 AU/ml) k základnímu (2 dávky) očkovacímu schématu (leden-březen 2021) vakcínou mRNA BNT162b2 (Pfizer/BioNTech, Mainz, Německo). Všichni zařazení pacienti, kteří obdrželi mRNA vakcínu proti SARS-CoV-2 v září a říjnu 2021, byli prospektivně analyzováni do konce ledna 2022. Pacienti, u kterých byl dříve prokázán COVID-19, byli ze studie vyloučeni. V čase první posilující dávky byl u všech pacientů proveden screening pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) na přítomnost SARS-CoV-2 RNA z výtěrů z nosohltanu, současně byly stanoveny hladiny specifických SARS-CoV-2 IgG. Účastníci s pozitivními výsledky PCR (prahová hodnota cyklu ≤ 35) a/nebo SARS-CoV-2 IgG byli ze studie vyloučeni. Z analýzy byli rovněž vyloučeni pacienti, kteří se nakazili COVID-19 v období mezi jednou a dvěma booster dávkami. Po zařazení do studie prošli pacienti dvoustupňovým procesem randomizace, přičemž v každém kroku byly vytvořeny dvě podskupiny v poměru 1:1 s použitím náhodných bloků o velikosti 4. První krok randomizace určil, zda pacient dostane jednu nebo dvě posilující dávky, a druhý krok určil, která mRNA vakcína, buď mRNA-1273 (Moderna Biotech Spain, Madrid, Španělsko) nebo BNT162b2, bude použita (pro jednu nebo obě posilující dávky). Doba mezi první a druhou posilující dávkou byla stanovena na 28 dní. Jednotlivá dávka činila 100 mikrogramů mRNA-1273 a 30 mikrogramů BNT162b2. K utajení rozdělení do skupin byly použity zapečetěné, postupně očíslované obálky. Studie nebyla dále maskována. Imunosupresivní léčba zahrnovala u většiny pacientů inhibitor kalcineurinu (takrolimus nebo cyklosporin) v kombinaci s mykofenolátem mofetil (nebo sodnou solí) a steroidy. Studie byla schválena místní etickou komisí a byla provedena v souladu s Helsinskou a Istanbulskou deklarací. Od všech pacientů byl získán písemný informovaný souhlas.

Hodnocení SARS-CoV-2 humorální odpovědi

Vzorky séra byly analyzovány automatickým chemiluminiscenčním (CLIA) testem ACCESS SARS-CoV-2 IgG II pro detekci protilátek IgG proti vazebné doméně receptoru (RBD) S1 podjednotky spike proteinu (IgG anti-S1-RBD) (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Koncentrace protilátek ≥ 10 arbitrárních jednotek na mililitr (AU/ml) byla považována za pozitivní výsledek. Cut-off pro pozitivitu byl použit podle doporučení výrobce uvedeného v návodu k použití.²⁴³ Virus neutralizační test (VNT) byl proveden na sterilních jamkových destičkách. Kmen SARS-CoV-2 (B.1.617, Delta) byl extrahován z klinického vzorku a jako citlivá buněčná linie byly použity buňky CV-1. Minimální esenciální médium bylo pufováno 0,02 mmol/l TRIS-HCl pH 8,1 s přídatkem 7,5 % hovězího fetálního séra použitého jako univerzální ředidlo. Vzorky séra byly ředěny ve dvojnásobných ředěních, která po smíchání s virem vedla ke konečné koncentraci séra 1/10, 1/20 až 1/2560. Tato ředění byla smíchána s roztokem viru a inkubována přes noc při +4 °C. Následující den bylo do každé jamky přidáno 25 μ l buněčné suspenze CV-1. Destičky byly inkubovány další 3-4 dny při 37 °C a 5 % atmosféře CO₂. Do každé jamky bylo přidáno 25 μ l neutrálního červeného barviva a směs byla inkubována další den při teplotě 37 °C a 5 % CO₂. Neinfikované buňky byly obarveny neutrálním červeným barvivem, což umožnilo makroskopické odečtení. Výsledky VNT byly vyjádřeny ve formě titru, který představuje převrácenou hodnotu nejvyššího ředění vzorku neutralizujícího cytopatický účinek viru o více než 50 %. Titr byl vypočítán z objemu séra a viru v koncovém bodě mediánu infekční dávky tkáňové kultury. Pozitivita byla určena titrem virus neutralizačních protilátek ≥ 20 .²⁴⁴

Hodnocení specifické SARS-CoV-2 buněčné imunity

Kvantifikace buněk produkujících interferon gama (IFN- γ) a interleukin 2 (IL-2) byla provedena na rozmražených mononukleárních buňkách periferní krve (PBMC) v koncentracích 2 x 10⁵ CD3⁺ T buněk na jamku pomocí modifikované dvoubarevné enzymové absorpční analýzy (ELISpot) (Mabtech, Švédsko). Za pozitivní byl považován výsledek $\geq 11-13$ buněk tvořících skvrny (spot forming cells, SFC) na 2 x 10⁵ buněk pro různé antigenní stimulační.²²

Definice cílů studie a sledování

Protilátková odpověď byla hodnocena na vstupu do studie a čtyři týdny po poslední booster dávce. U pacientů randomizovaných ke dvěma posilujícím dávkám byla protilátková odpověď hodnocena také před podáním druhé dávky. Buněčná imunitní odpověď byla z logistických důvodů hodnocena pouze čtyři týdny po poslední posilovací dávce u 28 (7 v každé skupině) náhodně vybraných pacientů. Primárním cílem studie byl rozdíl v míře pozitivní humorální odpovědi (SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 AU/ml) mezi jednou a dvěma posilujícími dávkami jeden měsíc po ukončení vakcinačního schématu. Sekundární cíle pak zahrnovaly hodnocení positivity titru VNA, hodnocení hladin SARS-CoV-2 IgG a VNA, přímé srovnání mRNA-1273 a

BNT162b2 s ohledem na pozitivní humorální odpověď a hladiny protilátek; hodnocení buněčné imunity; incidenci COVID-19; hodnocení nežádoucích účinků (pomocí dotazníků a laboratorního sledování); monitoraci de-novo anti-HLA protilátek včetně dárcovsky specifických protilátek (DSA) vyšetřovaných technikou Luminex a monitoraci vývoje renální funkce během vakcinace. Všichni pacienti byli sledováni nejméně jeden měsíc po podání poslední posilující dávky (listopad-prosinec 2021). Za účelem sledování výskytu COVID-19 po ukončení vakcinace byl follow-up prodloužen do 31. ledna 2022.

Statistická analýza

Práce byla navržena jako studie superiority. K ověření 70 % pozitivní humorální odpovědi ve skupině se dvěma posilujícími dávkami bylo zapotřebí celkem 122 pacientů (síla = 0,80, alfa = 0,05). Kvantitativní údaje byly porovnány pomocí Studentova t-testu při parametrickém rozdělení nebo pomocí Mann-Whitneyho U-testu při neparametrickém rozdělení. Kvalitativní údaje byly analyzovány pomocí chí-kvadrát (χ^2) nebo Fisherova testu. Vzhledem k neparametrickému rozdělení byl k porovnání hladin SARS-CoV-2 IgG před a po očkování použit Wilcoxon signed-rank test. Statistické výpočty byly provedeny pomocí softwaru Statistica 8 (StatSoft, Německo). Hodnoty $p < .05$ byly považovány za statisticky významné.

Výsledky studie

Charakteristika pacientů

Celkem bylo do studie zařazeno 125 pacientů po transplantaci ledviny; 64 z nich dostalo jednu posilující dávku; 61 účastníků bylo vakcinováno dvěma booster dávkami (Obrázek 1). Z první skupiny bylo 31 pacientů randomizováno k podání mRNA-1273 a 33 pacientů k podání BNT162b2; z druhé skupiny bylo 33 pacientů očkováno mRNA-1273 a 28 pacientů dostalo BNT162b2. Dva pacienti byli ztraceni ze sledování (2 booster dávky; BNT162b2) a jeden pacient se nakazil COVID-19 v období mezi posilujícími dávkami (2 booster dávky; mRNA-1273), a proto byli z konečné analýzy vyloučeni. Finálně bylo analyzováno 122 pacientů. Skupiny byly srovnatelné v základních demografických parametrech (Tabulka 1). Doba od poslední vakcinace byla 215 ± 18 dní ve skupině s jednou posilující dávkou a 215 ± 16 dní ve skupině se dvěma posilujícími dávkami ($p = .834$). Udržovací imunosuprese se mezi skupinami nelišila, stejně tak výchozí hladina specifických protilátek IgG proti SARS-CoV-2. Současně nebyl pozorován vstupně významný rozdíl v počtu anti-HLA non-DSA a DSA positivity.

Tabulka 1 - Charakteristika studijní kohorty pacientů podle počtu posilujících dávek a typu mRNA vakcíny

	1 booster dávka (n=64)	2 booster dávky (n=58)	hodnota P	BNT162b2 (n=59)	mRNA-1273 (n=63)	hodnota P
Věk (roky)	59±11	60±11	.815	61±11	59±11	.419
Pohlaví (muži)	38 (59)	39 (67)	.369	39 (66)	38 (60)	.508
Doba po transplantaci (měsíce)	103±74	80±73	.085	83±64	98±81	.243
Předchozí transplantace	7 (11)	5 (9)	.668	7 (12)	5 (8)	.467
Příčina end stage kidney						
Chronická glomerulonefritida	26 (41)	31 (54)	.156	30 (51)	27 (43)	.377
Diabetická nefropatie	7 (11)	3 (5)	.246	2 (3)	8 (13)	.061
Polycystická choroba ledvin	7 (11)	8 (14)	.632	5 (9)	10 (16)	.347
Hypertenze/nefroskleróza	9 (14)	8 (14)	.966	11 (19)	6 (10)	.146
Jiné	15 (23)	8 (14)	.174	11 (19)	12 (19)	.955
Doba trvání RRT (měsíce)	18±18	20±19	.610	21±21	17±16	.162
Typ dárce (zemřelí)	59 (92)	53 (91)	.871	52 (88)	60 (95)	.153
Body mass index (kg/m ²)	31±6	29±5	.120	31±5	30±6	.380
Diabetes	25 (39)	32 (55)	.075	30 (51)	29 (46)	.595
Hypertenze	64 (100)	58 (100)	-	59 (100)	63 (100)	-
Kardiovaskulární onemocnění	31 (48)	28 (48)	.986	30 (51)	29 (46)	.595
Chronické plicní onemocnění	6 (9)	6 (10)	.857	3 (5)	9 (14)	.088
Odhadovaná GFR ^a (ml/min/1.73 m ²)	51±21	52±23	.672	53±20	50±23	.507
Proteinurie; PCR (g/mol)	45.2±79.3	30.2±61.7	.121	32.8±75.1	42.9±68.4	.375
Anti-HLA DSA ^b	5 (8)	7 (12)	.431	7 (12)	5 (8)	.467
Anti-HLA non-DSA ^b	16 (25)	21 (36)	.179	22 (37)	15 (24)	.106
Imunosuprese v době vakcinace						
Takrolimus	56 (88)	49 (85)	.631	51 (86)	54 (86)	.908
Kortikosteroidy ^c	59 (92)	54 (93)	.847	55 (93)	58 (92)	.807
Cyklosporin	4 (6)	7 (12)	.262	4 (7)	6 (10)	.581
Mykofenolát mofetil/sodná sůl	56 (88)	50 (86)	.833	52 (88)	60 (95)	.153
Depleční ALA do 6 měsíců	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	0 (0)	-
Hladina takrolimu (µg/l)	6.9±2.1	6.9±1.8	.189	7.0±2.1	6.7±1.8	.159
Hladina cyklosporinu (µg/l)	132.0±50.7	113.3±19.3	.472	144.0±34.2	98.2±16.6	.215
Dávka mykofenolátu mofetil/sodné soli (g/day)	1.3±0.5	1.2±0.5	.236	1.2±0.5	1.3±0.5	.187
Prevakcinační hladiny specifických SARS-CoV-2 IgG (AU/ml)	1.0±1.2	0.9±1.0	.323	1.0±1.2	0.9±1.0	.468
Doba od poslední SARS-CoV-2 vakcinace (days)	215±18	215±16	.834	217±17	213±17	.333

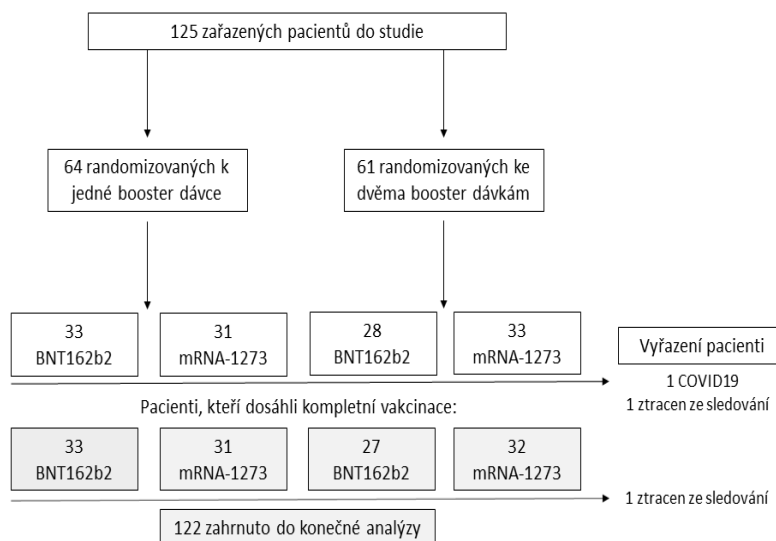
Data jsou počty pacientů (procenta) nebo průměr ± SD.

Zkratky: ALA, antilymphocyte antibody; DSA, donor-specific antibody; GFR, glomerular filtration rate; HLA, human leukocyte antigen; PCR, protein/creatinine ratio; RRT, renal replacement therapy.

^aOdhadovaná GFR byla vypočtena podle vzorce CKD-EPI.

^bHodnoceno technikou Luminex. Hodnota ≥ 500 MFI (mean fluorescent intensity) byla hodnocena jako pozitivní.

^cZe všech zařazených pacientů užívajících steroid jako součást udržovací imunosuprese (113), 109 užívalo prednison v dávce 5 mg denně a čtyři pacienti 2.5 mg denně.

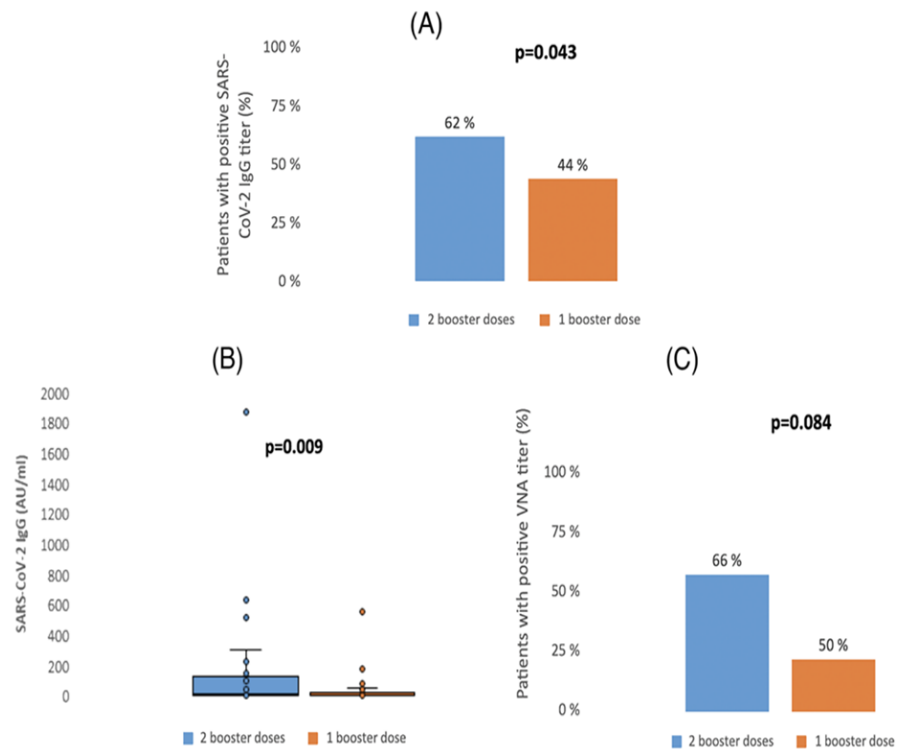


Obrázek 1 - Flowchart studie

Protilátková odpověď

Ve skupině se dvěma posilujícími dávkami bylo dosaženo významně vyšší míry serokonverze oproti skupině s jednou posilující dávkou. Pozitivní humorální odpovědi (≥ 10 AU/ml SARS-CoV-2 IgG) bylo dosaženo u 36 (62 %) pacientů, kteří obdrželi dvě posilující dávky, a u 28 (44 %) pacientů, kteří obdrželi jednu posilující dávku (OR, 2.10, 95 % CI, 1.02-4.34, $p=.043$) (Obrázek 2 a Tabulka 2). Příjemci očkování dvěma booster vakcínami ukázali významně vyšší hladiny protilátek ve srovnání s recipienty očkovanými pouze jednou posilující dávkou. Medián SARS-CoV-2 IgG byl 18,5 AU/ml ve skupině se dvěma a 4.3 AU/ml u pacientů s jednou posilující dávkou ($p=.009$) (obrázek 2 a tabulka 2). Podle očekávání každý z booster režimů indukoval významně vyšší titry SARS-CoV-2 IgG ve srovnání s výchozími hodnotami (18.5 vs. 0.6 AU/ml a 4.3 vs. 0.5 AU/ml, $p < .001$). Ze 33 pacientů, kteří byli po první posilující dávce seronegativní, byla u 11 osob (33 %) pozorována serokonverze čtyři týdny po druhé posilující vakcíně (medián SARS-COV-2 IgG, 18 AU/ml). Čtyři týdny od druhé posilující dávky byly hladiny protilátek významně vyšší u pacientů, kteří měli pozitivní serologickou odpověď již po první posilující dávce oproti těm, kteří byli seronegativní (medián SARS-CoV-2 IgG, 135 vs. 3.3 AU/ml, $p < .001$). Virus neutralizační protilátky byly detekovány ve významném titru (≥ 20) u 38 (66 %) pacientů, kteří obdrželi dvě posilující dávky, a u 32 (50 %) pacientů, kteří obdrželi jednu posilující dávku (OR, 1.90, 95 % CI 0.92-3.94, $p=.084$) (obrázek 2 a tabulka 2). Z 36 pacientů, kteří byli seropozitivní (SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 AU/ml) po druhé booster dávce, se u 2 (6 %) z nich neprokázala virus neutralizační aktivita na signifikantní úrovni. Dvě posilující vakcíny indukovaly významně vyšší titry VNA ve srovnání s jednou posilující dávkou. Medián VNA byl 160 u dvou dávek a 15 u jedné dávky ($p=.019$). Nepozorovali jsme významný rozdíl v míře pozitivní serokonverze a v

hladinách protilátek, včetně virus neutralizační aktivity, mezi mRNA-1273 a BNT162b2 ve skupině se dvěma a jednou booster dávkou (tabulka 2). Pacienti očkovaní mRNA-1273 však vykazovali numericky vyšší míru pozitivní serokonverze a měli tendenci tvořit vyšší hladiny protilátek v obou skupinách oproti BNT162b2.



Obrázek 2 – Protilátková odpověď po dvou a jedné booster dávce mRNA vakcíny Je znázorněno procento pacientů s pozitivním titrem IgG SARS-CoV-2 definovaným hodnotou ≥ 10 AU/ml (A), hladiny IgG proti podjednotce S1 hrotového proteinu SARS-CoV-2 (B) a procento pacientů s pozitivním titrem VNA definovaným hodnotou ≥ 20 (C). Minimální a maximální hodnoty s vyloučením odlehlých hodnot jsou znázorněny metličkami; medián a mezikvartilové rozpětí jsou uvnitř rámečků. Pro srovnání hladin IgG a pozitivní humorální odpovědi po očkování byl použit Mann-Whitney U-test a χ^2 . SARS-CoV-2, koronavirus těžkého akutního respiračního syndromu; VNA, virus neutralizující protilátky.

Tabulka 2 - Srovnání protilátkové odpovědi mezi jednou a dvěma posilujícími dávkami, a mezi mRNA-127 a BNT162b2

	2 booster dávky (n=58)	1 booster dávka (n=64)	hodnota P (OR; 95% CI)
Pozitivní titr SARS-CoV-2 IgG	36 (62)	28 (44)	.043 (2.10; 1.02-4.34)
Pozitivní titr VNA	38 (66)	32 (50)	.084 (1.90; 0.92-3.94)
Titr SARS-CoV-2 IgG (AU/ml)	18.5 (1.3-127)	4.3 (0.5-21)	.009
Titr VNA	160 (0-1280)	15 (0-640)	.019
	mRNA-1273	BNT162b2	hodnota P (OR; 95% CI)
Pozitivní titr SARS-CoV-2 IgG ve skupině s jednou booster dávkou	14 (45)	14 (42)	.825 (1.12; 0.42-3.00)
Pozitivní titr SARS-Cov-2 IgG ve skupině se dvěma booster dávkami	22 (69)	14 (54)	.245 (1.86; 0.64-5.52)
Pozitivní titr VNA ve skupině s jednou booster dávkou	16 (52)	16 (49)	.803 (1.13; 0.43-3.02)
Pozitivní titr VNA ve skupině se dvěma booster dávkami	22 (69)	16 (62)	.566 (1.38; 0.46-4.08)
Titr SARS-CoV-2 IgG ve skupině s jednou booster dávkou (AU/ml)	6.9 (0.2-23)	4.1 (0.6-15)	.281
Titr SARS-CoV-2 IgG ve skupině se dvěma booster dávkami (AU/ml)	32.5 (5.6-142)	13.0 (0.8-66)	.142
Titr VNA ve skupině s jednou booster dávkou	20.0 (0-640)	10.0 (0-640)	.386
Titr VNA ve skupině se dvěma booster dávkami	240.0 (0-1280)	80.0 (0-640)	.159

Data jsou počty pacientů (procenta) nebo medián (interkvartilové rozpětí).

Zkratky: SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus; VNA, virus neutralizing antibody.

Pozitivní titr SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 AU/ml byl hodnocen jako pozitivní.

Titr VNA je vyjádřen bezjednotkovým číslem. Titr VNA ≥ 20 byl hodnocen jako pozitivní.

SARS-CoV-2 buněčná imunita

U celkem 28 pacientů jsme provedli hodnocení buněčné imunity pomocí ELISpot techniky. Pozitivní odpovědi s alespoň jedním druhem stimulace (buňky vylučující IFN- γ nebo IL-2) bylo dosaženo u 18 (64 %) pacientů. Nebyl statisticky významný rozdíl v počtu SARS-CoV-2 specifických T-buněk vylučujících IFN- γ i IL-2 (SFC na 2×10^5 PBMC) mezi dvěma a jednou booster dávkou, zároveň mezi oběma typy (mRNA-1273 vs. BNT162b2) mRNA vakcín. Stejně tak nebyl pozorován rozdíl v míře pozitivní buněčné odpovědi (IFN- γ nebo IL-2) mezi dvěma a jednou posilující dávkou, ani mezi mRNA-1273 a BNT-162b2. Až 44 % pacientů s pozitivní buněčnou odpovědí po očkování netvořilo pozitivní protilátkové titry.

Bezpečnost SARS-CoV-2 mRNA vakcíny v booster schématu

Jedna i dvě posilující dávky SARS-CoV-2 mRNA vakcín (mRNA-1273 a BNT162b2) byly bezpečné a dobře tolerované. V celkovém výskytu lokálních a systémových nežádoucích účinků nebyl mezi skupinami významný rozdíl (Tabulka 3). Rozdíl byl pozorován pouze ve výskytu lokálního otoku mezi mRNA-1273 a BNT162b2 (29 % vs. 12 %, $p=.022$), lokální bolesti v místě vpichu (40 % vs. 58 %, $p=.045$) a výskytu myalgie mezi dvěma a jednou posilující dávkou (16 % vs. 5 %, $p=.045$). Jednalo se o mírné reakce s promptním ústupem. V analýze nebyly zaznamenány nežádoucí účinky 4. stupně (na stupnici 1-4), současně žádný z pacientů

nevyžadoval hospitalizaci v souvislosti s očkováním. Po ukončení vakcinace se u 2 ze 110 pacientů (2 %), kteří byli před zahájením vakcinace DSA negativní, objevily de novo dárcovsky specifické protilátky na významné úrovni (≥ 500 střední fluorescenční intenzity, MFI). Oba příjemci byli očkováni jedinou posilující dávkou. Nepozorovali jsme však rozdíl v tvorbě de novo anti-HLA non-DSA a DSA mezi dvěma a jednou posilující dávkou, ani mezi mRNA-1273 a BNT162b2. Hodnota sérového kreatininu byla, ve srovnání s prevakcinační hodnotou, po poslední dávce stabilní (142 ± 78 $\mu\text{mol/l}$ vs. 143 ± 63 $\mu\text{mol/l}$, $p=.386$). Během období sledování se žádný z pacientů nekomplikoval rejekcí štěpu.

Tabulka 3 – Lokální a systémové nežádoucí účinky hlášené po kompletní booster vakcinaci

	2 booster dávky (n=58)	1 booster dávka (n=64)	hodnota P	mRNA-1273 (n=63)	BNT162b2 (n=59)	hodnota P
Jakákoliv nežádoucí reakce	32 (55)	46 (72)	.055	43 (68)	35 (59)	.305
Jakákoliv systémová reakce	18 (31)	17 (27)	.586	20 (32)	15 (25)	.440
Teplota	4 (7)	2 (3)	.336	3 (5)	3 (5)	.934
Bolest hlavy	6 (10)	5 (8)	.626	5 (8)	7 (12)	.467
Únava	15 (26)	14 (22)	.605	17 (27)	22 (37)	.223
Bolest svalů	9 (16)	3 (5)	.045	6 (10)	9 (15)	.335
Bolest kloubů	5 (9)	5 (8)	.871	6 (10)	7 (12)	.675
Nevolnost	2 (4)	0 (0)	.134	2 (3)	0 (0)	.168
Zimnice	5 (9)	3 (5)	.381	4 (7)	6 (10)	.442
Jakýkoliv lokální symptom	27 (47)	40 (63)	.077	38 (60)	28 (48)	.154
Bolest v místě vpichu	23 (40)	37 (58)	.045	33 (52)	27 (46)	.465
Zarudnutí	12 (21)	15 (23)	.715	16 (25)	11 (19)	.369
Otok	11 (19)	14 (22)	.691	18 (29)	7 (12)	.022
Regionální lymfadenopatie	1 (2)	0 (0)	.292	1 (2)	0 (0)	.331
Závažný nežádoucí účinek	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	0 (0)	-

Incidence nežádoucích účinků reportovaných do 7 dnů po vakcinaci (závažné nežádoucí účinky do 28 dnů).

Data jsou počty nežádoucích účinků (procenta). Hodnota P byla vypočtena pomocí chí-kvadrát (χ^2) testu.

V souvislosti s vakcinací nebyla reportována žádná nežádoucí reakce čtvrtého stupně nebo potřeba hospitalizace.

COVID-19 po vakcinaci

Po dosažení kompletní vakcinace bylo u 13 (11 %) pacientů diagnostikováno onemocnění COVID-19. Šest pacientů bylo infikováno SARS-CoV-2 variantou Delta (B.1.617.2) a 5 pacientů variantou Omicron (B.1.1.529). Medián doby od podání jedné posilující dávky do nástupu symptomatologie byl 86 dní s maximem 131 dní. Nebyl rozdíl ve výskytu COVID-19 mezi pacienty s pozitivní protilátkovou odpovědí po očkování a bez ní (6 vs. 7, $p=.630$), podobně mezi dvěma a jednou booster dávkou (8 vs. 5, $p=.431$). Hospitalizace byla nutná pouze u 2 pacientů. V obou případech jsme sledovali fatální průběh. U těchto pacientů nebyla detekována pozitivní protilátková odpověď, včetně virus neutralizační aktivity.

Diskuze

V této prospektivní, randomizované studii jsme porovnávali imunogenicitu a bezpečnost jedné a dvou posilujících dávek SARS-COV-2 mRNA vakcín u pacientů po transplantaci ledviny, kteří vykazovali nedostatečnou protilátkovou odpověď na základní vakcinační schéma.

Pacienti očkováni dvěma posilujícími dávkami v sekvenčním podání ukázali významně vyšší míru serokonverze ve srovnání s pacienty, kteří byli očkováni jednou posilující dávkou. Pozorovali jsme významně vyšší titry protilátek ve skupině očkové dvěma posilujícími vakcínami. Jedna booster dávka indukovala pozitivní protilátkovou odpověď u 44 % pacientů. Tento výsledek je srovnatelný s četností serokonverze 33 % až 49 %, která byla zaznamenána v jiných studiích hodnotících humorální odpověď ke třetí vakcinaci u dříve seronegativních pacientů.²⁷⁻³⁰ Kho a spol. ve své práci ukázali pozitivní humorální odpověď po třetí dávce mRNA vakcíny u 63 % - 68 % pacientů po transplantaci ledviny.⁵⁹ Do zmiňované studie však bylo randomizováno až 27 % pacientů se signifikantní serokonverzí na vstupu. Posílení vakcinační odpovědi lze dosáhnout navýšením dávky. Tuto tezi potvrzuje u transplantovaných pacientů vakcinace proti chřipce.⁵⁷ Potenciál vyšší imunogenicity na dávce závislý ukázala také některá data u SARS-CoV-2 vakcín.^{217,218} Naproti tomu Kho a spol. nedávno prokázali, že simultánní podání dvojnásobné dávky mRNA-1273 (2× 100 mikrogramů) nezvýšilo míru serokonverze ve srovnání s jednou dávkou mRNA-1273 u dříve seronegativních pacientů po transplantaci ledviny.⁵⁹ Doba od posledního vakcinace byla srovnatelná s tou naší (medián 198 vs. 215 dní). Tento výsledkový kontrast lze vysvětlit sekvenčním podáním dvojnásobné dávky vakcíny.^{209,218} Signifikantní titer virus neutralizačních protilátek je pravděpodobně nejsilnějším ukazatelem protekce proti SARS-CoV-2.^{23,27,28,31,32,245} Proto jsme také u každého pacienta hodnotili neutralizační aktivitu proti variantě Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2. U pacientů očkových dvěma posilujícími dávkami byla pozorována numericky vyšší míra pozitivních titrů VNA ve srovnání s pacienty s jednou booster vakcínou. Tento rozdíl však nenabyl statistické významnosti. Konkrétně dva pacienti s pozitivními titry SARS-CoV-2 IgG nevytvořili signifikantní titer VNA po dokončené vakcinaci. Tato výsledná disparita může odpovídat „těsnosti“ korelace vyjádřené Spearmanovým koeficientem mezi VNT a kvantitativní serologickou metodou (SARS-CoV-2 IgG, Beckman Coulter).²⁴⁶⁻²⁴⁸ Po dvou posilujících dávkách dosáhli pacienti významně vyšších titrů VNA ve srovnání s jednou dávkou.

Na základě publikovaných výsledků prokazujících vyšší míru serokonverze u příjemců transplantované ledviny po očkování mRNA-1273 ve srovnání s BNT162b2, jsme hodnotili imunogenní potenciál obou typů mRNA vakcín.^{249,250} Neprokázali jsme, na rozdíl od uvedených studií, statisticky významný rozdíl mezi mRNA-1273 a BNT162b2 v obou hodnocených skupinách. Pacienti očkováni mRNA-1273 měli však numericky vyšší míru pozitivní humorální odpovědi, včetně virus neutralizační aktivity, a současně vyšší titry SARS-CoV-2 IgG a VNA v obou skupinách.

Ve srovnání se zdravými nebo dialyzovanými pacienty se vyznačuje SARS-CoV-2 specifická T-buněčná odpověď u pacientů po transplantaci ledviny nižším počtem reaktivních buněk a funkčními abnormalitami, jakými jsou např. porucha produkce efektorových cytokinů nebo porucha buněčné aktivity.^{22,208} Je dobře známo, že značná část transplantovaných pacientů, kteří měli k očkování nedostatečnou protilátkovou odpověď, byli schopni reagovat buněčnou imunitou.^{251,255} Potvrzujeme, že až 44 % seronegativních pacientů v naší studii bylo schopno vytvořit specifickou buněčnou imunitu. Neprokázali jsme statisticky významný rozdíl v robustnosti nebo četnosti pozitivní reakce buněčné imunity mezi jednotlivými skupinami. Výsledky byly však ovlivněny relativně malým počtem analyzovaných pacientů. Na základě našich i předchozích dat lze předpokládat, že úroveň buněčné imunity po vakcinaci nemusí odrážet stupeň ochrany proti COVID-19 u příjemců solidních orgánů.^{22,58,208,251,252}

Jedna i dvě posilující dávky SARS-CoV-2 mRNA vakcín ukázaly u pacientů po transplantaci ledviny dobrý bezpečnostní profil bez ohledu na typ použité vakcíny. SARS-CoV-2 vakcíny jsou pravděpodobně schopné u transplantovaných pacientů podněcovat tvorbu de novo anti-HLA/DSA.^{253,254} Jiná data však naznačují opak, a to včetně neměnné intenzity již existujících anti-HLA/DSA.^{255,256} V našem souboru jsme prokázali, že SARS-CoV-2 mRNA vakcíny mohou přispívat k tvorbě anti-HLA non-DSA a DSA, avšak bez klinických konsekvencí, jelikož u žádného z pacientů s de novo DSA pozitivitou nebyla zaznamenána rejekce štěpu. Ačkoli otázka tvorby de novo anti-HLA po SARS-CoV-2 vakcinaci zůstává kontroverzní, měla by být zvažována monitorace DSA po očkování.

Během sledování se u 11 % kompletně očkovaných pacientů objevila SARS-CoV-2 infekce. Absence rozdílu ve výskytu COVID-19 mezi pacienty s pozitivní a negativní protilátkovou odpovědí může být způsobena celkově malým počtem pacientů s COVID-19. Ve sledovaném období byl výskyt COVID-19 v našem regionu výrazně nižší ve srovnání se "zimní vlnou" na počátku roku 2021 (7denní výskyt na 100 000 obyvatel, 300 vs. 1050).²² Průběh COVID-19 byl u našich pacientů ve studii převážně mírný až středně těžký. Pouze dva pacienti se komplikovali těžkým průběhem s fatálním koncem. Oba měli nedostatečnou humorální odpověď k posilujícímu vakcinačnímu schématu. Tyto a již dříve publikované výsledky podporují význam adekvátní humorální odpovědi, včetně virus neutralizační schopnosti, u pacientů po transplantaci ledviny v otázce ochrany proti COVID-19 a těžkému průběhu.^{23,27,28,31,32,245}

Za hlavní přednost této studie považujeme její prospektivní, randomizovaný design s přímým srovnáním imunogenního potenciálu jedné a dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín (podaných s odstupem 28 dní) u příjemců transplantované ledviny, kteří byli seronegativní po předchozí základní vakcinaci a v době zahájení booster schématu. Současně jsme srovnali účinnost dvou typů mRNA vakcín (mRNA-1273 vs. BNT162b2). Ve snaze získat co nejpřesnější informace o stupni ochrany proti COVID-19 jsme paralelně k specifickým SARS-CoV-2 IgG měřili i neutralizační aktivitu.

K posouzení bezpečnosti vakcinace jsme monitorovali výskyt de novo DSA a vývoj funkce štěpu během vakcinace.

Naše práce má také své limity. Neutralizační aktivita byla hodnocena proti variantě Delta (B.1.617.2) SARS-CoV-2. Proto se nemůžeme objektivně vyjádřit ke schopnosti neutralizace aktuálně rozšířené varianty Omicron (B.1.1529) a jeho sub-variantám. Lze však očekávat znatelně nižší neutralizační aktivitu proti variantě Omicron ve srovnání s předchozími variantami SARS-CoV-2 (WT/B.1.617.2) v dříve doporučeném očkovacím schématu.²¹⁰⁻²¹² Vzhledem k malému počtu analyzovaných pacientů, absenci vstupních parametrů a vysoké variabilitě odečtů ELISpot techniky je třeba výsledky specifické SARS-CoV-2 buněčné imunity v naší studii interpretovat s opatrností. Tato studie neměla statistickou sílu prokázat významný rozdíl v klinických výsledcích, jako je snížení výskytu a závažnosti COVID-19 v závislosti na volbě vakcinačního schématu.

Závěrem lze říci, že sekvenční podání dvou posilujících dávek SARS-CoV-2 mRNA vakcín je bezpečné a významně zvyšuje protilátkovou odpověď u dříve seronegativních pacientů po transplantaci ledviny ve srovnání s jednou posilující dávkou. Na druhou stranu i po dvou booster dávkách zůstává značná část pacientů bez kýžené serokonverze. Proto je důležité tuto rizikovou skupinu pacientů monitorovat a použít nejúčinnější nástroje k navození imunitní odpovědi, především pak opakovaní očkování bivalentní SARS-CoV-2 vakcínou.^{59,213,214} Doporučujeme u pacientů po transplantaci ledviny zvážit non-simultánní podání dvojnásobné dávky SARS-CoV-2 vakcín k dosažení imunitní response.

2.3 Profylaxe valganciklovirem versus preemptivní přístup u pacientů po transplantaci ledviny: randomizovaná studie

Východisko

Cytomegalovirová (CMV) infekce patří mezi nejčastější oportunní infekce po transplantaci solidních orgánů. Významný pokrok v diagnostice a léčbě CMV onemocnění umožnil výrazně snížit mortalitu pacientů.⁹ Nevyřešenou otázkou však zůstává imunomodulační schopnost CMV spojená s celou řadou nepřímých účinků.^{5-9,12-15} Přestože je CMV infekce významným faktorem v patogenezi rejekce ledvinného štěpu, předchozí studie doposud nedaly pevné základy optimální strategii prevence CMV, která by zabránila nepřímému působení viru.

Metodika

Design studie a výběr pacientů

Jedná se o randomizovanou klinickou studii porovnávající profylaxi valganciklovirem proti preemptivnímu přístupu u dospělých příjemců transplantované ledviny s rizikem CMV infekce definovaným na základě serologických kombinací dárce a příjemce (D+R+, D+R-, D-R+). Pacienti byli rekrutováni v období od června 2013 do května 2018. Vylučovacími kritérii ze studie byla účast v jiné klinické studii, CMV serostatus D-R-, alergie na (val)ganciclovir, závažná leukopenie nebo trombocytopenie nebo neschopnost poskytnout informovaný souhlas. Studie byla schválena místní etickou komisí a byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací a Istanbulskou deklarací o obchodování s orgány a transplantační turistice. Před zařazením do studie byl získán od všech pacientů písemný informovaný souhlas. Studie byla zaregistrována v australském novozélandském registru klinických studií (ACTRN12613000554763) dne 16. května 2023. Způsobilí pacienti byli před transplantací randomizováni transplantačním lékařem v poměru 1:1 k profylaxi valganciklovirem nebo k preemptivní léčbě pomocí tabulky náhodných čísel s permutačními bloky po čtyřech. Randomizace byla stratifikována podle serostatusu D/R CMV. K utajení přidělení byly použity postupně očíslované zapečetěné obálky. Pacienti ve skupině s profylaxí dostávali valganciclovir (Valcyte, Hoffman-La Roche, Grenzach-Wyhlen, Německo) v dávce 900 mg denně po dobu 3 měsíců (nebo 6 měsíců v případě stavu D+R-) počínaje nejpozději 7. dnem po transplantaci. Pacienti v preemptivní skupině podstupovali každý týden PCR test k verifikaci CMV DNAemie z plné krve po dobu 4 měsíců po transplantaci a poté každý měsíc až do celkových 12 měsíců. PCR se prováděla také každý týden, pokud byla zjištěna CMV DNAemie, a v průběhu preemptivní léčby valganciklovirem. Při zjištění CMV DNAemie ≥ 1000 IU/ml byla zahájena léčba valganciklovirem v dávce 900 mg dvakrát denně během 7 dnů až do doby dvou konsekutivních negativních PCR testů s odstupem jednoho týdne. Recidivující CMV DNAemie byla léčena podobně jako počáteční epizoda. V obou skupinách byly dávky antivirotik redukovány s ohledem na renální funkci podle pokynů výrobců. V případě antirejekční lymfodepleční léčby

a/nebo léčby protilátkově zprostředkované rejekce, po ukončení plánované profylaxe nebo týdenního testování PCR, byl podán další měsíční cyklus profylaxe valganciklovirem, respektive bylo znovu zahájeno týdenní testování PCR po dobu 1 měsíce. Ve skupině s profylaxí jsme dodržovali stejný harmonogram PCR testování CMV DNAemie, včetně týdenního testování první 4 měsíce, asymptomatické epizody CMV replikace však nebyly léčeny.

Imunosuprese a opatření týkající se antimikrobiální profylaxe

Standardní imunosupresivní protokol u pacientů zahrnoval takrolimus, mykofenolát mofetil a kortikosteroidy. Imunologicky vysoce rizikovní pacienti (retransplantace, panel reaktivních protilátek ≥ 60 % a/nebo preformovaná DSA) dostávali indukci antithymocytárním globulinem (Thymoglobuline, Genzyme, Lyon, Francie). Pacienti po předchozí transplantaci byli během pobytu na čekací listině testováni na přítomnost protilátek proti HLA systému. Pacienti s preformovanými DSA podstoupili desenzibilizaci plazmaferetickou metodou a nízkou dávkou intravenózního imunoglobulinu zahájenou bezprostředně před transplantací. Desenzibilizace při transplantaci od HLA inkompatibilního nebo ABO inkompatibilního žijícího dárce zahrnovala terapii monoklonální protilátkou anti-CD20 (rituximab) a imunoabsorpci s použitím sloučenin stafylokokového proteinu A (Immunosorba, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Německo). U příjemců štěpů od vysoce marginálních dárců (odběr po oběhové smrti, 70 let a více a/nebo dárce s hypertenzí nebo diabetem a signifikantní nefrosklerózou v biopsii) byla podávána nízká dávka takrolimu s indukcí monoklonální protilátkou anti-IL2R (basiliximab). Pacienti užívali profylaxi trimethoprim-sulfamethoxazol (TMP-SMX) po dobu 4 měsíců a perorálním roztokem amfotericinu po dobu 1 měsíce po transplantaci. BKV DNAemie byla vyšetřována každý měsíc po dobu prvních 6 měsíců, následně v 9. a 12. měsíci po transplantaci, s preventivním snížením imunosuprese při signifikantní virové náloži (tj. 1000 kopií/ml).

Cíle studie

Primárním cílem studie byl výskyt akutní rejekce (grade rejekce \geq IA nebo protilátkami zprostředkovaná rejekce) ve 12 měsících od transplantace diagnostikované biopsií pomocí Banff klasifikace.²⁵⁷ Sekundární cíle zahrnovaly výskyt CMV DNAemie a CMV onemocnění, CMV ganciklovirové rezistence, hodnocení CMV-specifické T-buněčné imunity, výskyt subklinické rejekce (hodnocena protokolární biopsií ve 3 měsících), rozvoj dnDSA, hodnocení renální funkce a přežití funkce štěpu, výskyt dalších infekcí, neutropenie, kardiovaskulárních příhod, malignity, mortality, a dalších bezpečnostních údajů hodnocených na základě záznamu nežádoucích příhod a rutinních laboratorních parametrů. CMV DNAemie byla definována detekcí CMV DNA. CMV onemocnění je definováno jako symptomatická CMV DNAemie a zahrnuje jak CMV syndrom, tak tkáňově invazivní onemocnění.⁹ Všichni pacienti byli sledováni po dobu minimálně 12 měsíců nebo do úmrtí.

Detekce nukleové kyseliny pro průkaz viru

PCR metoda pro detekci CMV DNAemii byla provedena pomocí komerčně dostupného kitu (RealStar® CMV PCR kit 1.0, Altona Diagnostics, Hamburg, Německo) podle pokynů výrobce na přístroji QuantStudio5 (Applied Biosystems, Waltham, USA). DNA byla izolována z 200 µl plné krve pomocí komerčně dostupné soupravy (QuickGene DNA whole blood kit S [DB-S], Kurabo, Japonsko). Eluce byla provedena ve 100 µl pufru CDB, konečný objem DNA použitý při výpočtu CMV IU/ml byl 100 µl. Kvantifikace byla provedena pomocí kalibrační křivky vytvořené ze současně amplifikovaných kvantifikačních standardů (IU/µl DNA). Dolní mez detekce při vyšetřování byla 50 IU/ml plné krve. Kvantitativní PCR na BKPyV DNA v plazmě byla provedena pomocí komerčně dostupné soupravy BK Virus R-GENE® (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francie) na zařízení Rotor Gene Q podle návodu výrobce (Qiagen, Hilden, Německo).²⁵⁸ Detekční limit BKPyV DNA byl 50 kopií/ml. Diagnóza polyomavirové nefropatie (PVAN) byla založena na definitivní i presumptivní PVAN s vysokým stupněm BKV viremie ($\geq 10\ 000$ kopií/ml) a negativní biopsii. Biopticky prokázaná definitivní PVAN byla založena na cytopatických změnách potvrzených pozitivní imunochemickou analýzou SV40T a klasifikována podle nové klasifikace Banff Working Group.²⁵⁹

Analýza s rezistencí asociovaných mutací v genech UL54 a UL97

Genotypové testování bylo provedeno u vzorků s virovou náloží CMV ≥ 1000 IU/ml.²⁶⁰ Pro vyšetření rezistence na ganciklovir byla vybrána předem definovaná skupina, která zahrnovala pacienty s: 1) CMV DNAemii během profylaxe valganciklovirem nebo po ukončení profylaxe; 2) přetrvávající CMV DNAemii po nejméně 3 týdnech preemptivní léčby valganciklovirem; 3) recidivující CMV DNAemii po předchozí preemptivní léčbě valganciklovirem a 4) CMV onemocněním a přetrvávající DNAemii po nejméně 3 týdnech léčby (val)ganciklovirem. Analýza mutací spojených s rezistencí CMV byla provedena pomocí PCR a Sangerova sekvenování. Zkoumané oblasti genu UL54 zahrnovaly kodony 340-643 a 660-1010 a kodony genu UL97: 434-630. Izolovaná DNA (5-10 µl) byla přidána do reakční směsi sestávající z 12,5 µl HotStarTaq DNA polymerázy (Qiagen, Hilden, Německo), 10 pmol přímých a reverzních primerů a destilované vody (do 25 µl). Mutace CMV spojené s rezistencí byly identifikovány pomocí databáze analyzátoru rezistence k mutacím, který představuje webový vyhledávací program propojující sekvenci s databází, a obsahující všechny publikované UL97 (proteinkináza) a UL54 (DNA polymeráza) mutace a odpovídající citlivosti antivirotik (<https://www.informatik.uni-ulm.de/ni/mitarbeiter/HKestler/hcmv/>).²⁶¹

CMV specifická T-buněčná imunita

U pacientů (n=95) zařazených do října 2016 byla před transplantací a následně po 1, 3, 6 a 12 měsících měřena CMV T-specifická buněčná odpověď. Kvantifikace buněk produkujících interferon-gama (IFN- γ) a

interleukin-2 (IL-2) byla provedena na izolovaných mononukleárních buňkách periferní krve (PBMC) pomocí modifikované, dvoubarevné, enzymově vázané imunosorbční bodové analýzy (ELISpot) dle pokynů výrobce (Mabtech, Nacka Strand, Švédsko).²² PBMC byly získány pomocí centrifugace s hustotním gradientem a uchovávány v tekutém dusíku. Rozmražené PBMC v koncentraci 2×10^5 buněk na jamku byly pipetovány do etanolem ošetřené PVDF (polyvinyliden difluorid) 96jamkové mikrodestičky předem potažené primárními monoklonálními protilátkami specifickými pro lidský IFN- γ a IL-2 (Mabtech, Nacka Strand, Švédsko) a stimulovány antigeny; jako pozitivní a negativní kontrola byla použita monoklonální protilátka anti-CD3 (Mabtech, Nacka Strand, Švédsko) a samotné médium. Pro antigenní stimulaci byly použity dvě komerčně dostupné sady CMV peptidových poolů: PepMix HCMVA (pp65) a PepMix HCMVA (IE-1) (JPT, Berlín, Německo). Všechny stimulace byly provedeny ve dvou jamkách. Buněčné kultury byly přes noc kultivovány v inkubátoru s CO₂ a poté byly destičky promyty, řádně vysušeny a inkubovány s detekčními protilátkami a dvěma fluorescenčně značenými konjugáty. Fluorescenční skvrny byly spočítány pomocí automatické čtečky ELISpot vybavené filtry pro detekci IFN- γ a IL-2 (AID, Strassberg, Německo). Průměrný počet skvrn zjištěný v negativních kontrolách byl odečten od počtu skvrn ve stimulovaných jamkách v každé sérii. Výsledky byly vyjádřeny jako počet buněk tvořících skvrny (SFC) na 2×10^5 PBMC.

Hodnocení anti-HLA protilátek

HLA typizace dárce a příjemce zahrnovala HLA I. třídu (A, B) a II. třídu (DRB1, DQB1). Screening cirkulujících protilátek anti-HLA I. a II. třídy byl proveden ve vzorcích séra v době transplantace, ve 3 a 12 měsících po transplantaci nebo v případě klinické indikace. Stanovené byly pomocí jednoantigenových průtokových kuličkových testů na platformě Luminex (Luminex® 100/200™ System, USA) s použitím komerčně dostupných souprav (Lifecodes LSATM Class I; Lifecodes LSATM Class II; Immucor GTI Diagnostic, USA). Výsledky byly vyjádřeny jako průměrná intenzita fluorescence (MFI) pro každý HLA. Všechny kuličky vykazující normalizovanou MFI >1000 byly považovány za pozitivní.

Statistická analýza

Nulová hypotéza předpokládala, že četnost akutních rejekcí bude v obou dvou skupinách stejná. Nulová hypotézu bychom bývali zamítli, pokud by profylaxe valganciklovirem byla na hladině 0,05 lepší oproti preemptivní léčbě. Na základě našich předchozích studií a vzhledem k použití imunosupresivního režimu založeného na takrolimu u všech pacientů bylo odhadnuto, že k akutní rejekci dojde u 10 % pacientů ve skupině s profylaxí a u 25 % pacientů ve skupině s preemptivní léčbou.¹⁵ Velikost vzorku o 90 pacientech (45 v každé skupině) by tento rozdíl odhalila s 80 % silou a $\alpha = 0,05$. S přihlédnutím k vyraženým pacientům bylo tedy plánováno zařadit minimálně 92 pacientů. Vzhledem ke klinicky významnému trendu nižší míry akutní rejekce ve skupině s profylaktickou léčbou (13 % vs. 27 %; $P = 0,07$

podle log-rank testu) v průběžné analýze plánované studijní populace bylo rozhodnuto pokračovat v náboru pacientů. Za předpokladu stejného rozdílu v akutní rejekci by bylo zapotřebí nejméně 134 pacientů. Nakonec bylo plánováno zařadit 140 účastníků s předpokladem následného vyřazení. Kvantitativní údaje byly porovnány pomocí Mann-Whitney U-testu nebo případně Studentova t-testu. Kategoriální proměnné byly porovnávány pomocí χ^2 nebo Fisherova přesného testu. Incidence akutní rejekce, CMV DNAemie a CMV onemocnění, BKV viremie a míra přežití pacientů a štěpů byly vypočteny pomocí Kaplan-Meierových křivek, pro srovnání byl použit log-rank test. Pro výpočet poměru rizik (HR) a 95 % intervalu spolehlivosti (CI) pro akutní rejekci a další proměnné ve skupině s profylaxí ve srovnání s preemptivní skupinou byla provedena univariantní Coxova regrese. Ke stanovení optimální negativní prediktivní hodnoty různých testů CMV specifické imunity pro vznik významné (>1000 IU/ml) CMV DNAemie byly použity ROC křivky (receiver-operating characteristics curves). Statistické výpočty byly provedeny pomocí softwaru SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Hodnoty $P < 0.05$ byly považovány za statisticky významné.

Výsledky

Charakteristika pacientů

Celkem bylo screenováno 153 pacientů a následně 146 pacientů randomizováno; transplantace nebyla provedena u 6 pacientů. Studijní populace se záměrem léčby následně čítala 140 pacientů (valganciklovirová profylaxe, $n=70$; preemptivní léčba, $n=70$) (Obrázek 1). Skupiny byly v základních demografických parametrech podobné (Tabulka 1). Ze 140 randomizovaných pacientů bylo 19 (14 %) ohroženo primární CMV infekcí. Indukční léčbu podstoupilo 66 (47 %) pacientů. Udržovací imunoprese se mezi skupinami nelišila.

Tabulka 1 - Základní charakteristika studijní populace

Charakteristika	Profylaxe valganciklovirem (n=70)	Preemptivní terapie (n=70)	Hodnota P
Dárce			
Věk (roky)	52±11	50±12	0.257
Pohlaví (muži)	50 (71)	46 (66)	0.446
Příčina onemocnění ledvin			0.404
Chronická glomerulonefritida	35 (50)	32 (46)	
Nefroskleróza	9 (13)	12 (17)	
Polycystická choroba ledvin	10 (14)	12 (17)	
Diabetická nefropatie	5 (7)	3 (4)	
Ostatní	11 (16)	11 (16)	
Předchozí transplantace	5 (7)	8 (11)	0.382
Preemptivní transplantace	3 (8)	4 (12)	0.494
HLA A, B, DR, DQ mis-match (n)	4.2±1.6	4.3±1.5	0.747
Pretransplantační PRA >20%	8 (11)	4 (6)	0.227
Preformované DSA ^a	10 (14)	13 (19)	0.494
CMV serostatus			0.382
D+R-	9 (13)	10 (14)	
D+R+	56 (80)	52 (74)	
D-R+	5 (7)	8 (11)	
Dárce			
Věk (roky)	50±16	49±15	0.571
Zemřelí dárce	66 (94)	66 (94)	1.000
Dárce po nezvratné zástavě oběhu	5 (7)	8 (11)	0.382
Živý dárce ^b	4 (6)	4 (6)	
Dárce s rozšířenými kritérii ^c	29 (41)	29 (41)	1.000
Doba studené ischemie (h)	17.2±5.4	17.6±6.3	0.742
Základní imunosuprese			
Takrolimus+ MMF + kortikoidy	70 (100)	70 (100)	
Indukce thymoglobulinem	9 (13)	10 (14)	0.973
Indukce basiliximabem	23 (33)	24 (34)	0.858
Desenzitizace před transplantací ^d	4 (6)	5 (7)	0.730

Data jsou počty pacientů (procenta) nebo ± SD.

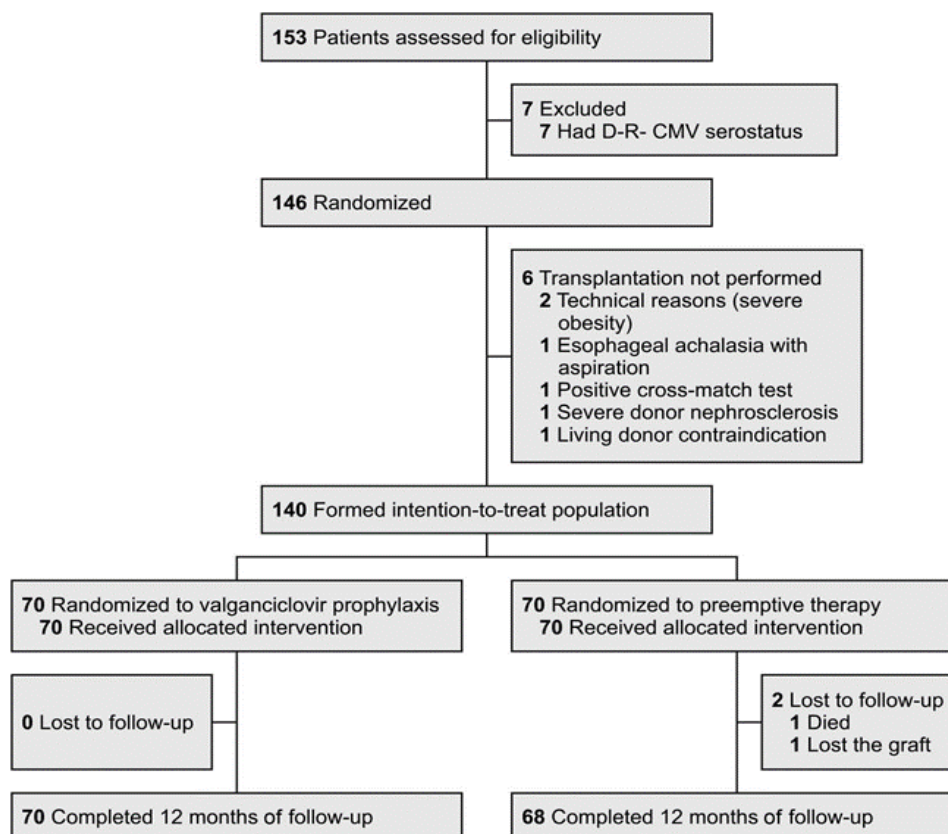
Zkratky: CMV, cytomegalovirus; D, dárce; DSA, dárcovsky-specifické anti-HLA protilátky; HLA, lidský leukocytární antigen; PRA, panel reaktivních protilátek; R, příjemce.

^aPři transplantaci testováno metodou Luminex; zahrnuty slabě pozitivní výsledky (MFI >500).

^bZahrnuje 2 AB0 inkompatibilní transplantace v profylaktické skupině s valganciklovirem a 1 HLA + AB0 inkompatibilní transplantaci v preemptivní skupině.

^cPodle UNOS kritérií.

^dProfylaxe valganciklovirem: plasmaferéza + low-dose IVIG u 3, imunoabsorbce + rituximab u 1; Preemptivní terapie: plasmaferéza + low-dose IVIG u 4, imunoabsorbce + rituximab u 1.

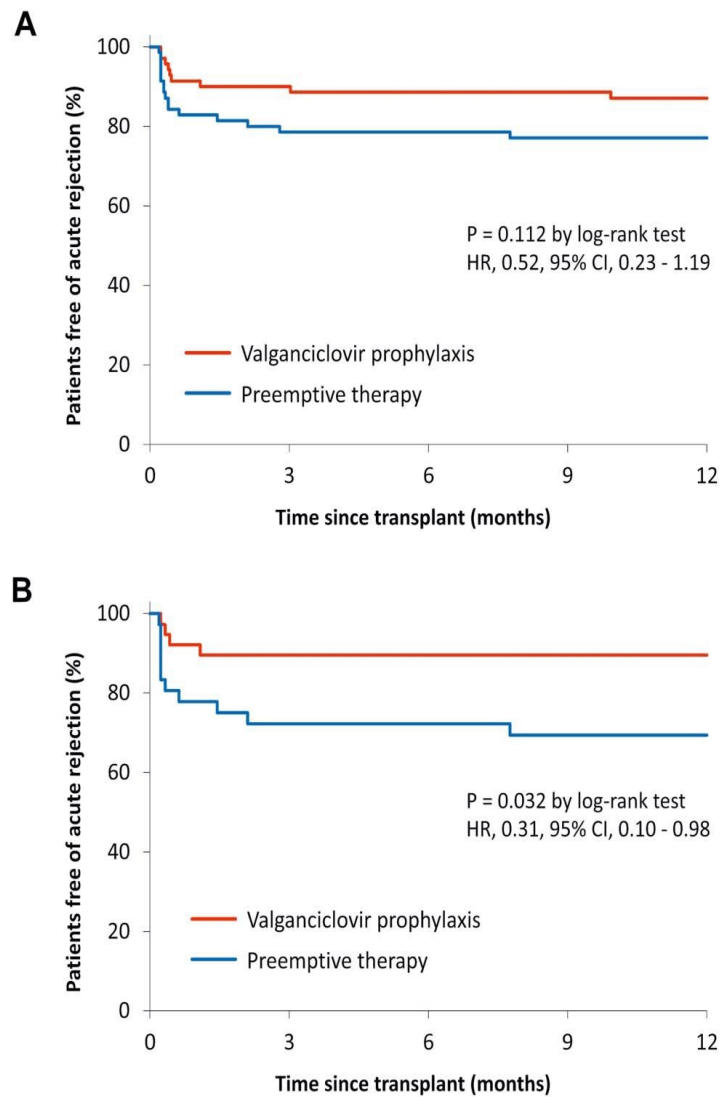


Obrázek 1 - Flowchart studie

Výskyt rejekce a dnDSA

Ačkoli počet epizod byl vyšší ve skupině s preemptivní léčbou, výskyt akutní rejekce ve 12 měsících po transplantaci se mezi skupinami významně nelišil (13 %, 9/70 vs. 23 %, 16/70, $p=0.112$ [HR, 0.52, 95 % CI, 0.23-1.19]) (Obrázek 2A). Na rozdíl od pacientů s indukční léčbou thymoglobulinem nebo basiliximabem, u nichž nebyly pozorovány významné rozdíly, byla profylaxe valganciklovirem u pacientů bez indukční léčby spojena s významným poklesem výskytu akutní rejekce (11 % vs. 31 %, $p=0.032$ [HR, 0.31, 95 % CI, 0.10-0.98]) (Obrázek 2B, Tabulka 2). Incidence akutní rejekce byla vyšší v podskupině pacientů s CMV DNAemií oproti těm, u nichž nebyla prokázána replikace CMV (24 % vs. 9 %, $p=0.022$). Protokolární biopsie ve 3 měsících byla provedena u 134 (96 %) pacientů. Subklinická rejekce včetně hraničních změn (borderline nález dle Banff klasifikace) byla méně častá u pacientů léčených profylaxí ve srovnání s preemptivní skupinou (13 % vs. 29 %, $p=0.027$); podobný trend byl pozorován ve výskytu rejekce stupně alespoň IA (1 % vs. 8 %, $p=0.088$). Současně bylo Banff skóre intersticiálního zánětu a tubulitidy nižší ve skupině s valganciklovirem ($p=0.007$). Skupiny se nelišily v chronickém histologickém poškození, přičemž typický byl vysoký výskyt vaskulární nefrosklerózy v důsledku vysokého počtu transplantací od zemřelých dárců s rozšířenými kritérii. U pacientů bez preformovaných DSA byl vývoj dnDSA v obou skupinách srovnatelný s kumulativní incidencí 12 % vs. 5 % ($p=0.364$); jejich přítomnost však byla často pouze přechodná. De novo DSA přetrvávaly ve 12. měsíci u 7 % vs. 4 % pacientů ($p=0.723$)

(Tabulka 2). Funkce ledvin a proteinurie byly v obou skupinách srovnatelné. Stejně tak nebyly pozorovány rozdíly v přežití štěpů a pacientů.



Obrázek 2 - Kumulativní výskyt akutní rejekce Kaplan-Meierovy křivky přežití bez rejekce u (A) celé studované populace a (B) pacientů bez indukční léčby. CI, confidence interval; HR, hazard ratio.

Tabulka 2 - Incidence a charakteristiky akutní rejekce a de novo dárcovsky-specifických protilátek

Charakteristiky	Profylaxe valganciklovirem (n=70)	Preemptivní terapie (n=70)	Hodnota P
Pacienti s biopsií pro příčinu	35 (50)	40 (57)	0.397
Akutní rejekce (grade ≥IA)	9 (13)	16 (23)	0.112 ^a
Bez indukční terapie	4 (11)	11 (31)	0.032 ^b
Tymoglobulin	1 (11)	2 (20)	0.577
Basiliximab	4 (17)	3 (13)	0.668
Klasifikace dle Banff 2019			
Grade IA	3 (4)	9 (13)	
Grade IB	1 (1)	0 (0)	
Grade IIA	3 (4)	4 (6)	
Grade IIB	0 (0)	1 (1)	
Grade III	1 (1)	0 (0)	
Aktivní protilátkami-zprostředkovaná rejekce	2 (3)	3 (5)	
Akutní rejekce (včetně borderline)	15 (22)	23 (33)	0.117
Depleční ALA pro rejekci	8 (11)	7 (10)	0.785
Pacienti bez preformovaných DSA	60	57	
De novo DSA (kumulativní incidence)	7 (12)	3 (5)	0.364
Třída I	2 (3)	2 (4)	0.648
Třída II	5 (8)	2 (4) ^c	0.464
Vrcholová hodnota MFI	2628 (1781–7275)	1822 (1331–7202)	1.000
De novo DSA ve 3 měsících	6 (10)	1 (2)	0.136
De novo DSA ve 12 měsících	4 (7)	2 (4)	0.723

Data jsou počty pacientů (procenta) nebo medián a interkvartilové rozpětí.

Zkratky: ALA, anti-lymfocytární protilátky; CI, interval spolehlivosti; DSA, dárcovsky-specifické protilátky HR, poměr rizik; MFI, střední intenzita fluorescence.

^aHR, 0.52; 95 % CI, 0.23 – 1.19.

^bHR, 0.31; 95 % CI, 0.10 – 0.98.

^cDe novo DSA v I. a II. třídě byly detekovány u jednoho pacienta.

CMV nemoc a CMV DNAemie

Celkově se CMV onemocnění nevyskytovalo často; v obou skupinách byly diagnostikovány s CMV nemocí pouze 3 pacienti (4 % vs. 4 %, $p=0.974$ [HR, 0.97, 95 % CI, 0.20–4.82]). Ve skupině s profylaxí bylo CMV onemocnění diagnostikováno zpravidla v pozdním stádiu (> 3 měsíce po transplantaci). Stejně tak se i v preemptivní skupině vyskytly 2 epizody pozdního nástupu CMV onemocnění během období, kdy byla monitorace PCR prováděna v jednoměsíčních intervalech. Odpověď na (val)ganciklovir byla ve všech případech dobrá a u žádného pacienta nedošlo k recidivě CMV onemocnění.

CMV DNAemie byla zjištěna u 31 (44 %) a 52 (75 %, $p < 0.001$ [HR, 0.32, 95 % CI, 0.21–0.51]) pacientů ve skupině s profylaxí a preemptivní léčbou. Výskyt CMV DNAemie byl významně nižší jak ve skupině D+R- (33 % vs. 90 %, $p=0.002$), tak u pacientů R+ (46 % vs. 73 %, $p < 0.001$). Medián doby do vzniku CMV DNAemie byl delší ve skupině s valganciklovirovou profylaxí oproti skupině s preemptivní léčbou (193 vs. 32 dní, $p < 0.001$). Proto byla také pozdní CMV DNAemie zjištěna častěji ve skupině s profylaxí (36 % vs. 9 %, $p < 0.001$); rozdíl se však stal nesignifikantním při započítání recidivujících epizod ($p=0.082$) (Tabulka 3). Profylaxe valganciklovirem vedla k redukci výskytu CMV DNAemie s významnou (≥ 2000 IU/ml) virovou náloží (21 % vs. 49 %, $p < 0.001$) a celkové doby trvání CMV DNAemie (25 vs. 42 dní, $p=0.030$) během prvního roku po transplantaci. Recidivující CMV DNAemie byla častá, zejména pak u pacientů s preemptivní léčbou (42 % vs. 77 %, $p < 0.002$).

Na základě předem definovaných kritérií bylo genotypové testování provedeno u 19 (45 vzorků) a 29 (73 vzorků) pacientů ve skupině s profylaxí a ve skupině s preemptivní léčbou. V uvedeném vzorku pacientů nebyla zjištěna jediná mutace spojená s rezistencí na ganciklovir. Všechny epizody CMV DNAemie vyžadující preemptivní léčbu byly valganciklovirem úspěšně léčeny, což vedlo k odpovídající clearance viru.

Tabulka 3 - Klinické a virologické charakteristiky CMV onemocnění a CMV DNAemie

Charakteristiky	Profylaxe valganciklovirem (n=70)	Preemptivní terapie (n=70)	Hodnota P
CMV onemocnění ^a	3 (4)	3 (4)	0.974 ^b
D+R-	1 (11) ^c	2 (20)	0.653
R+	2 (3)	1 (2)	0.597
CMV onemocnění s pozdním nástupem ^d	3 (100)	2 (67)	—
Doba do začátku (d)	191 (179–262)	227 (109–327)	0.986
Doba do negativního PCR po léčbě valganciklovirem (d)	22 (12–39)	18 (18–20)	0.609
Rekurentní CMV onemocnění	0 (0)	0 (0)	—
CMV DNAemie	31 (44)	52 (75)	<0.001 ^e
D+R-	3 (33)	9 (90)	0.002 ^f
R+	28 (46)	43 (73)	<0.001 ^g
CMV DNAemie ≥2000 IU/ml	15 (21)	34 (49)	<0.001
D+R-	2 (22)	9 (90)	<0.001
R+	13 (21)	25 (42)	0.004
CMV DNAemie s pozdním nástupem (1. epizoda)	25 (36)	26 (9)	<0.001
CMV DNAemie s pozdním nástupem (včetně rekurencí)	29 (41)	36 (53)	0.082
Doba do první epizody (dny)	193 (141–264)	32 (23–52)	<0.001
Vrcholová virová nálož (IU/ml)	1400 (350–11,350)	4250 (1200–19,500)	0.117
D+R-	4100 (2100–965,800)	40,100 (19,800–52,450)	0.355
R+	1350 (300–11,050)	2800 (950–10,800)	0.323
Doba trvání CMV DNAemie (dny)	25 (9–52)	42 (21–75)	0.030
Rekurence CMV DNAemie	13 (42)	40 (77)	0.002

Data jsou počty pacientů (procenta) nebo medián a interkvartilové rozpětí.

Zkratky: CMV, cytomegalovirus; D, dárce; P, příjemce; IU, mezinárodní jednotky; HR, poměr rizik; CI, interval spolehlivosti.

^aProfylaxe valganciklovirem: CMV syndrom u 2 a CMV kolitida u 1; Preemptivní terapie: CMV syndrom u 1 a CMV kolitida u 2.

^bHR, 0.97; 95 % CI, 0.20 – 4.82.

^cD+R- pacient nedodržující protokol studie s vysazením profylaxe valganciklovirem ve 3 místo 6 měsíců dle protokolu.

^dJediný případ časného nástupu CMV onemocnění v preemptivní skupině zahrnoval 1 pacienta s rychlým rozvojem příznaků kolitidy 2 dny po pozitivním PCR testu.

^eHR, 0.31; 95 % CI, 0.21 – 0.51.

^fHR, 0.15; 95 % CI, 0.04 – 0.59.

^gHR, 0.36; 95 % CI, 0.22 – 0.59.

Logistika prevence CMV, Compliance, a expozice Valgancikloviru

Profylaxe valganciklovirem byla podávána v průměru 104 ± 29 dní; 3 (4 %) pacienti, kteří byli léčeni lymfodeplečními protilátkami, dostávali další měsíční profylaktickou kúru. K porušení protokolu došlo pouze u 1 pacienta s D+R-, který byl léčený profylaxí pouze 3 měsíce místo původně plánovaných 6 měsíců. Ve skupině s preemptivní léčbou byla shoda s protokolem CMV sledování vysoká, dle protokolu bylo provedeno 1815/1825 (99.5 %) PCR testů. Alespoň 1 PCR test nebyl dle původního plánu proveden u 7/70 (10 %) pacientů; u žádného z nich se však CMV onemocnění nerozvinulo. Celkem 38 (54 %) pacientů vyžadovalo preemptivní podání valgancikloviru, což odpovídá počtu 73 % pacientů se zjištěnou CMV DNAemií. Medián doby od zjištění signifikantní CMV DNAemie přesahující threshold 1000 IU/ml do zahájení preemptivní léčby byl 1.5 dne. Většina (29/38 76 %) pacientů vyžadovala další kurz preemptivní léčby valganciklovirem z důvodu recidivující CMV DNAemie. Celkově bylo nutné podat v průměru 2.6 ± 1.4 kurzu na pacienta, přičemž tento počet byl významně vyšší ve skupině D+R- (3.9 ± 1.5 vs. 2.3 ± 1.2 , $p=0.012$). Přestože bylo u významné části pacientů nutné podat více cyklů preemptivní léčby valganciklovirem, celková doba expozice valgancikloviru v prevenci CMV byla významně vyšší ve skupině s profylaxí, a to jak v důsledku delšího trvání léčby (104 ± 29 vs. 33 ± 42 dní, $p < 0.001$), tak celkové kumulativní dávky

(70.3 ± 26.4 vs. 50.1 ± 65.8 gramů, $p < 0.001$). Výjimku tvořila podskupina pacientů D+R-, která dostala srovnatelnou kumulativní dávku.

BK polyomavirus a ostatní infekce

Obě skupiny se nelišily ve výskytu BKV viremie (20 % vs. 20 %, $p=0.955$) a PVAN (6 % vs. 6 %, $p=1.000$). Výskyt ostatních virových, bakteriálních a plísňových infekcí byl rovněž srovnatelný, s výjimkou vyššího výskytu pneumonie ve skupině s preemptivní léčbou (1 % vs. 10 %, $p=0.029$). U sedmi pacientů se však jednalo o časnou pooperační pneumonii diagnostikovanou během prvního týdne po transplantaci.

Nežádoucí účinky

Pacienti ve skupině s valganciklovirovou profylaxí měli častěji neutropenii (41 % vs. 23 %, $p=0.019$); podobný výsledek byl zaznamenán ve výskytu leukopenie. Nebyly však pozorovány významné rozdíly ve výskytu závažné neutropenie, včetně nutnosti použití růstového faktoru (G-CSF). Souhrn vybraných nežádoucích účinků je uveden v tabulce č. 4. Kvůli myelotoxicitě musely být dávky valgancikloviru sníženy nebo dočasně přerušeny (medián 10 dní) u 30 % pacientů s profylaxí oproti žádnému pacientu v preemptivní terapii ($p < 0.001$). Nicméně u 5 z 38 pacientů v preemptivní skupině musel být mykofenolát mofetil dočasně vysazen a/nebo musel být podán růstový faktor (G-CSF), aby bylo možné zachovat valganciklovir v plné dávce.

Tabulka 4 - Souhrn nežádoucích událostí

Charakteristiky	Profylaxe valganciklovirem (n=70)	Preemptivní terapie (n=70)	Hodnota P
Leukopenie ^a	30 (43)	20 (29)	0.078
Neutropenie ^a	29 (41)	16 (23)	0.019
Těžká neutropenie ^a	9 (13)	10 (14)	0.805
Užití granulocyty-stimulujícího faktoru (G-CSF)	9 (13)	7 (10)	0.595
Trombocytopenie ^a	11 (16)	8 (11)	0.459
Anémie ^a	6 (9)	12 (17)	0.130
Halucinace/zmatenost	4 (6)	5 (7)	0.730
Bolest hlavy	2 (3)	3 (4)	0.649
Třes	10 (14)	17 (24)	0.134
Nespoavost	9 (13)	8 (11)	0.796
Nevolnost	20 (29)	22 (31)	0.712
Průjem	28 (40)	29 (41)	0.863
Nově vzniklý diabetes nebo IGT ^b	18 (29)	17 (27)	0.799
Hyperlipidémie	59 (84)	53 (76)	0.205
Zvýšení jaterních enzyme	14 (20)	22 (31)	0.122
Cardiovaskulární příhoda	15 (21)	17 (24)	0.687
Malignita ^c	1 (1)	3 (4)	0.310
Redukce či přerušení studijního léku	21 (30)	0 (0) ^d	<0.001
Redukce	10 (14)	0 (0)	0.014
Přerušení	16 (23) ^e	0 (0)	0.001

Data jsou počty pacientů (procenta).

Zkratky: IGT, porušená glukózová tolerance.

^aLeukopenie byla definována počtem bílých krvinek <3.0 buněk/ml, neutropenie absolutním počtem neutrofilů <1.5 buněk/ml s těžkou neutropenií <0.5 buněk/ml, trombocytopenie <100.000 buněk/ml, anémie hodnotou hemoglobin <80 g/l.

^bU pacientů bez přítomnosti diabetu mellitu před transplantací.

^cZahrnující nemelanomové kožní nádory.

^dHodnoceno u 38 pacientů, kteří podstoupili alespoň jednu preemptivní léčbu valganciklovirem.

^eDůvody přerušení léčby valganciklovirem: v 15 případech myelotoxicita a v 1 non-compliance.

CMV specifická T-buněčná imunita

Pretransplantačně hodnocené pp65-specifické IFN γ produkující buňky (mezní hodnota 198 SFC/2 \times 105 PBMC) a obojí pp65 i IE-1- specifické IL-2 produkující buňky (mezní hodnota 22 SFC/2 \times 105 PBMC) předpovídaly rozvoj CMV DNAemie (> 1000 IU/ml) se senzitivitou a specificitou v rozmezí 75-94 %, respektive 35-57 %. CMV specifická T buněčná odpověď po transplantaci u pacientů na valganciklovirové profylaxi a preemptivní léčbě byla srovnatelná jak ve skupině R+, tak ve skupině D+R-; počet testovaných pacientů D+R- byl však malý.

Diskuze

V naší randomizované, klinické studii s pacienty po transplantaci ledviny vedla profylaxe valganciklovirem ve srovnání s preemptivní léčbou k nesignifikantnímu snížení výskytu akutní rejekce. U pacientů s imunosupresivním režimem založeným na takrolimu bez indukční léčby však bylo snížení incidence rejekce signifikantní, a to s klinicky relevantním rozdílem 20 %. Ve skupině s profylaxí byl navíc nižší výskyt subklinické rejekce. Ačkoli byly obě strategie účinné v redukci výskytu CMV

onemocnění, preemptivní léčba byla spojena s vyšším výskytem nejen CMV DNAemie, ale také CMV DNAemie s vyšší virovou náloží. U poloviny pacientů bylo nutné podat preemptivně valganciklovir, přičemž většina z nich potřebovala více cyklů z důvodu recidivující CMV DNAemie. Na druhé straně byla profylaxe spojena s vyšším výskytem neutropenie, která vedla k dočasnému přerušeni léčby valganciklovirem téměř u každého čtvrtého pacienta.

K nejzávažnějším nepřímým účinkům CMV patří zvýšené riziko rejekce štěpu.^{6,9} Jsou dobře popsány mechanismy s CMV asociované rejekce, včetně stimulace lokální inflamace v alograftu s aktivací NF-κB na pozadí intragraftové CMV infekce. Další teorií je účast heterologní imunity a expanze natural killer cells (NK buňky), které jsou hnacím motorem „missing self-induced microvascular inflammation“ ve štěpu bez ohledu na přítomnost DSA.^{262,263} Nižší výskyt akutní rejekce a subklinické rejekce u pacientů léčených profylaxí je také částečně způsoben nižším výskytem CMV DNAemie. Avšak pouze přibližně polovině epizod rejekce štěpu předcházela CMV DNAemie a rozdíly patrné v prvních 2 týdnech po transplantaci nelze přičítat CMV replikaci. Dalším možným faktorem, který je třeba vzít v úvahu, je vliv (val)gancikloviru na funkci T-buněk s aditivním imunopresivním účinkem.²⁶⁴ Toto vysvětlení podporuje také dřívější studie, která prokázala snížení výskytu akutní rejekce u profylaxe valganciklovirem ve srovnání s valaciclovirem, navzdory srovnatelnému výskytu CMV DNAemie v obou skupinách.¹¹ Naše studie dokumentovala srovnatelný výskyt akutní rejekce u pacientů s indukční léčbou, což naznačuje jen minimální účinek volby strategie prevence CMV při užití velmi silné imunoprese. Ve srovnání s preemptivní léčbou vedla antivirová profylaxe v dřívější studii s imunopresí založenou převážně na cyklosporinu k nižšímu výskytu rejekce.¹⁵ Naše práce je první studií, která prokázala nižší výskyt rejekce v rámci aktuálně preferovaného protokolu založeného na takrolimu/kyselině mykofenolové. Také jsme poprvé ukázali benefitní účinek (val)ganciklovirové profylaxe na výskyt subklinické rejekce. Někteří autoři naopak neprokázali signifikantní rozdíl mezi profylaxí a preemptivní terapií v četnosti rejekcí, ačkoli v některých studiích byla incidence numericky nižší v profylaktickém režimu.^{14,265} Ve srovnání s naší studií se však dříve zahrnuté populace pacientů lišily nejen imunopresivní terapií, ale také menším podílem vysoce rizikových dárců s rozšířenými kritérii. Užití perorálního gancikloviru v profylaxi může vést k nižší expozici ve srovnání s režimem s plně dávkovaným valganciklovirem, také ale pravděpodobně k méně výraznému modulačnímu vlivu funkce T-buněk.²⁶⁵ Recentní multicentrická studie prokázala podobný výskyt rejekce u pacientů po transplantaci jater.²⁶⁶ Je třeba poznamenat, že snížení bylo pozorováno pouze u akutní rejekce zprostředkované T-buňkami, nikoli u protilátkami zprostředkované rejekce. Tento nálezn má klinický význam, protože i T-buňkami zprostředkovaná rejekce, včetně subklinické rejekce, je spojena s řadou nepříznivých důsledků, jako je přítomnost trvalé inflamace, progresí fibrózy, rozvojem dnDSA a zvýšeným rizikem ztráty štěpu.²⁶⁷⁻²⁶⁹

V této i v dalších studiích se ukázalo, že obě strategie jsou vysoce účinné v prevenci vzniku CMV onemocnění.¹⁵ V případě preemptivní léčby je

předpokladem týdenní sledování CMV DNAemie s okamžitým zahájením léčby u pacientů, kteří dosáhnou threshold virové nálože. Velmi důležitá je pak především vysoká compliance k preemptivnímu protokolu, které v naší studii bylo dosaženo. Při méně intenzivním sledování může preemptivní přístup zcela selhat.^{14,265} Zejména ve skupině s preemptivní léčbou jsme pozorovali vyšší výskyt rekurentní CMV DNAemie, než jaký byl popisován dříve.²⁷⁰ Toto zjištění je pravděpodobně také ovlivněno častou monitorací CMV DNAemie pomocí vysoce citlivé PCR metodiky. V souladu s dřívějšími studii nebyl v žádné ze skupin identifikován pacient s ganciklovir-rezistentní CMV infekcí, a to i přes systematické genotypové testování.^{271,272} Naš soubor však zahrnoval pouze malý počet pacientů v riziku vzniku ganciklovirové rezistence.²⁷³ Preemptivní léčbu valganciklovirem bylo nutné opakovat u většiny pacientů z důvodu rekurence CMV DNAemie, což činí logistiku preemptivního přístupu nepochybně složitější a komplikovanější. Potřeba opakovat preemptivní valganciklovir byla také částečně způsobena relativně nízkou prahovou hodnotou virové nálože (1000 IU/ml) v naší studii ve srovnání s předchozími studii.^{15,272} Nízká prahová hodnota však byla zvolena s cílem zvýšit bezpečnost pacientů s ohledem na známou korelaci mezi virovou náloží a CMV onemocněním a rizikem nepřímých účinků CMV.^{274,275} Vzhledem k rychlé virové kinetice byla incidence CMV DNAemie s vyššími hodnotami virové nálože ve skupině s preemptivní terapií ještě výraznější. Nelze spolehlivě určit, zda veškeré epizody asymptomatické CMV DNAemie dosahující prahových hodnot skutečně vyžadovaly terapii. Proto se v současnosti navrhuje zahrnout vyšetření CMV-specifické T-buněčné imunity do algoritmu týkajícího se preemptivního přístupu.²⁷⁶

Navzdory opakovanému podání preemptivního valgancikloviru byla celková expozice valgancikloviru výrazně nižší u pacientů léčených preemptivní léčbou s přibližně třikrát kratší dobou trvání léčby a 30 % redukcí kumulativní dávky. Nižší expozice valgancikloviru je spojena s nižšími finančními náklady a s nižší toxicitou léku.¹⁷ Naše studie dokumentovala vyšší výskyt leukopenie a neutropenie ve skupině s profylaxí; valganciklovir musel být dočasně vysazen u 23 % pacientů. Nebyl však zjištěn rozdíl ve výskytu závažné neutropenie nebo nutnosti použití růstového faktoru (G-CSF). Celkově byl v naší studii bezpečnostní profil profylaxe valganciklovirem příznivý. Bezpečnost profylaxe můžeme posílit vyhodnocením T-buněčné CMV-specifické imunity, která může být následně „navigátorem“ k časnému vysazení valgancikloviru.²⁷⁷

Kromě vyššího výskytu pneumonie v preemptivní skupině, který byl však pozorován v časném pooperačním období, a tak pravděpodobně nesouvisí s prevencí CMV, nebyly mezi oběma skupinami zjištěny rozdíly ve výskytu ostatních infekčních komplikací. Shodný byl také výskyt BKV viremie a polyomavirové nefropatie (BKPyVAN). Ačkoli naše předchozí studie dokumentovala zvýšené riziko BKPyVAN u valganciklovirové profylaxe asociované s možnou alterací funkce T-buněk, jakožto kritickým faktorem kontroly replikace BKV.²⁵⁸ Na druhou stranu více než polovina pacientů ve skupině s preemptivní léčbou byla rovněž léčena valganciklovirem a vyšší výskyt akutní rejeckce a následné antirejekční léčby vedl ke kumulaci

imunoprese, která měla potenciál ovlivnit výskyt BKV viremie. Je třeba dodat, že nárůst BKV viremie byl v minulosti pozorován pouze u pacientů, kteří dostávali profylaxi valganciklovirem oproti profylaxi valaciclovirem, nikoliv však v souvislosti s preemptivní léčbou.¹¹ Aby bylo možné vyvodit směřodonné závěry, je třeba provést další studie srovnávající profylaktický přístup s valganciklovirem ve srovnání s jinými antiviroty neovlivňujícími funkci T buněk, jako je např. maribavir.²⁷⁸

Podobně jako v předchozích studiích byla pretransplantační úroveň CMV-specifické T-buněčné imunity prediktivní pro rozvoj CMV DNAemie.^{276,279} Stupeň CMV imunity po transplantaci byla v obou skupinách srovnatelná, což je překvapivé pozorování zejména u D+R- příjemců. V případě preemptivního přístupu bylo opakovaně prokázáno, že u pacientů po transplantaci jater dochází k rychlejšímu rozvoji CMV-specifické T-buněčné odpovědi v důsledku předchozích epizod CMV DNAemie.^{16,266} V naší studii bylo však možné provést ELISpot pouze u malého počtu D+R- pacientů, což znemožňuje vyvozovat relevantní závěry.

Tato studie s sebou nesla několik limitací. Za prvé, z logistických důvodů, vzhledem k povaze intervencí ve skupině s preemptivní terapií, nebyla studie zaslepená. Nicméně hlavní výsledky, tj. rejekce a CMV DNAemie, byly definovány na základě bioptického nálezu nebo PCR testu a patologové i lékaři hodnotící tyto výsledky byli zaslepeni vůči přidělení léčby. Single-center design studie navíc znemožňuje zobecnění našich výsledků na jinou populaci pacientů. Toto se týká především D+R- pacientů, jejichž počet byl ve studii malý. Vliv na akutní rejekci nebo prevenci CMV se může u jiných imunopresivních protokolů lišit, a to nejen obecně, při použití indukční léčby, ale také u režimů zahrnujících m-TOR inhibitory, které jsou spojeny s nižším rizikem CMV infekce.²⁸⁰ V neposlední řadě nelze opomenout skutečnost, že naše transplantační centrum je schopno zajistit intenzivní sledování CMV a compliance pacientů, což jsou faktory rozhodující o úspěchu preemptivní léčby. Roční sledování a časná protokolární biopsie neumožňují odhalit subklinickou rejekci v pozdějším potransplantačním období a jsou nedostatečné k posouzení skutečného účinku pozdní CMV DNAemie. Tato situace je pro univerzální profylaxi charakteristická. Proto mohou krátkodobé výsledky preemptivní přístupu znevýhodnit, jak tomu bylo např. v předchozím srovnání s profylaxí valaciclovirem.¹³ Dlouhodobé sledování včetně protokolární biopsie ve 3 letech by mělo odpovědět na otázku, zda snížení výskytu akutní rejekce v časném potransplantačním období u pacientů, kteří jsou léčeni valganciklovirovou profylaxí, má potenciál pozitivně ovlivnit chronické histopatologické změny a funkci štepů v dlouhodobém horizontu.

Závěrem lze říci, že ve srovnání s preemptivní léčbou nevedla profylaxe valganciklovirem u pacientů po transplantaci ledviny k významně nižšímu výskytu akutní rejekce. Profylaxe je spojena s nižším rizikem subklinické rejekce ve 3. měsíci po transplantaci a s redukcí incidence CMV DNAemie. V případě intenzivního sledování CMV a udržení vysoké míry compliance k protokolu je preemptivní terapie srovnatelně účinná v prevenci rozvoje CMV onemocnění při nižší kumulativní expozici valgancikloviru a nižší

incidenci neutropenie. Aby bylo možné oba protokoly definitivně porovnat, je potřeba provést výzkum zaměřený na dlouhodobé sledování.

3 Reference

- 1) Prakash J, Ghosh B, Singh S, et al. Causes of death in renal transplant recipients with functioning allograft. *Indian J Nephrol.* 2012 Jul;22(4):264-8.
- 2) Fishman JA, Issa NC. Infection in organ transplantation: risk factors and evolving patterns of infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2010 Jun;24(2):273-83.
- 3) Fishman JA. Infection in Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 2017 Apr;17(4):856-879.
- 4) Kotton CN, Fishman JA. Viral infection in the renal transplant recipient. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Jun;16(6):1758-74.
- 5) Razonable RR, Humar A. AST Infectious Diseases Community of Practice. Cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013 Mar;13 Suppl 4:93-106.
- 6) Reischig T, Jindra P, Svecová, et al. The impact of cytomegalovirus disease and asymptomatic infection on acute renal allograft rejection. *J Clin Virol.* 2006 Jun;36(2):146-51.
- 7) L'Huillier AG, Ferreira VH, Ku T, et al. Improving our mechanistic understanding of the indirect effects of CMV infection in transplant recipients. *Am J Transplant.* 2019 Sep;19(9):2495-2504.
- 8) Courivaud C, Bamoulid J, Chalopin JM, Gaiffe E, Tiberghien P, Saas P, Ducloux D. Cytomegalovirus exposure and cardiovascular disease in kidney transplant recipients. *J Infect Dis.* 2013 May 15;207(10):1569-75.
- 9) Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The Transplantation Society International CMV Consensus Group. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation.* 2018 Jun;102(6):900-931.
- 10) Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, Blumberg EA, Punch JD, Limaye AP. The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2010;10(5):1228-1237.
- 11) Reischig T, Kacer M, Jindra P, Hes O, Lysak D, Bouda M. Randomized trial of valganciclovir versus valacyclovir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus in renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015;10(2):294-304.
- 12) Reischig T, Kacer M, Hrubá P, Hermanova H, Hes O, Lysak D. Less renal allograft fibrosis with valganciclovir prophylaxis for cytomegalovirus compared to high-dose valacyclovir: a parallel group, open-label, randomized controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):573.
- 13) Reischig T, Hribova P, Jindra P, Hes O, Bouda M, Treska V. Long-term outcomes of pre-emptive valganciclovir compared with valacyclovir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(9):1588-1597.
- 14) Witzke O, Nitschke M, Bartels M, Wolters H, Wolf G, Reinke P. Valganciclovir prophylaxis versus preemptive therapy in cytomegalovirus-positive renal allograft recipients: long-term results after 7 years of a randomized clinical trial. *Transplantation.* 2018;102(5):876-882.
- 15) Reischig T, Jindra P, Hes O, Svecova M, Klaboch J, Treska V. Valacyclovir prophylaxis versus preemptive valganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8(1):69-77.
- 16) Limaye AP, Green ML, Edmison BC, Stevens-Ayers T, Chatterton-Kirchmeier S, Geballe AP. Prospective assessment of cytomegalovirus immunity in high-risk donor-seropositive/recipient-seronegative liver transplant recipients receiving either preemptive therapy or antiviral prophylaxis. *J Infect Dis.* 2019;220(5):752-760.
- 17) Florescu DF, Qiu F, Schmidt CM, Kalil AC. A direct and indirect comparison meta-analysis on the efficacy of cytomegalovirus preventive strategies in solid organ transplant. *Clin Infect Dis.* 2014;58(6): 785-803.
- 18) Dube GK, Morris HK, Crew RJ, et al. Febrile neutropenia after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2021; 21(10):3436-3443.
- 19) Danziger-Isakov L, Blumberg EA, Manuel O, Sester M. Impact of COVID-19 in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2021;21(3):925-937.

- 20) Softeland JM, Friman G, von Zur-Muhlen B, et al. COVID-19 in solid organ transplant recipients: a national cohort study from Sweden. *Am J Transplant.* 2021;21(8):2762–2773.
- 21) Villanego F, Mazuecos A, Perez-Flores IM, et al. Predictors of severe COVID-19 in kidney transplant recipients in the different epidemic waves: analysis of the Spanish Registry. *Am J Transplant.* 2021;21(7):2573–2582.
- 22) Reischig T, Kacer M, Vlas T, et al. Insufficient response to mRNA SARS-CoV-2 vaccine and high incidence of severe COVID-19 in kidney transplant recipients during pandemic. *Am J Transplant.* 2022;22(3):801-812.
- 23) Kemlin D, Gemander N, Depickère S, et al. Humoral and cellular immune correlates of protection against COVID-19 in kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2023 Feb 10: S1600-6135(23)00300-3.
- 24) Rozen-Zvi B, Yahav D, Agur T, Zingerman B, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 mRNA vaccine among kidney transplant recipients: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(8): 1173.e1-1173.e4.
- 25) Rincon-Arevalo H, Choi M, Stefanski AL, et al. Impaired humoral immunity to SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients and dialysis patients. *Sci Immunol.* 2021;6(60): eabj1031.
- 26) Grupper A, Rabinowich L, Schwartz D, et al. Reduced humoral response to mRNA SARS-CoV-2 BNT162b2 vaccine in kidney transplant recipients without prior exposure to the virus. *Am J Transplant.* 2021;21(8):2719-2726.
- 27) Kamar N., Abravanel F., Marion O. Three doses of an mRNA Covid-19 vaccine in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med.* 2021;385: 661–662.
- 28) Werbel W.A., Boyarsky B.J., Ou M.T. Safety and immunogenicity of a third dose of SARS-CoV-2 vaccine in solid organ transplant recipients: a case series. *Ann Intern Med.* 2021;174: 1330–1332.
- 29) Benotmane I, Gautier G, Perrin P, et al. Antibody Response After a Third Dose of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine in Kidney Transplant Recipients With Minimal Serologic Response to 2 Doses. *JAMA.* 2021;326(11):1063–5.
- 30) Reindl-Schwaighofer R, Heinzl A, Mayrdorfer M, et al. Comparison of SARS-CoV-2 Antibody Response 4 Weeks After Homologous vs Heterologous Third Vaccine Dose in Kidney Transplant Recipients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med.* 2022;182(2):165-171.
- 31) Kamar N, Abravanel F, Marion O, et al. Assessment of 4 Doses of SARS-CoV-2 Messenger RNA-Based Vaccine in Recipients of a Solid Organ Transplant. *JAMA Netw Open.* 2021 Nov 1;4(11): e2136030.
- 32) Midtvedt K, Vaage JT, Heldal K, et al. Fourth dose of the SARS-CoV-2 vaccine in kidney transplant recipients with previously impaired humoral antibody response. *Am J Transplant.* 2022;10.1111/ajt.17091.
- 33) Cristelli MP, Nakamura MR, Viana LA, et al. The Fourth Dose of CoronaVac Vaccine Results in a Small Increase of Seroconversion and Antibody Values Among Kidney Transplant Recipients. *Transplantation.* 2022 Sep 1;106(9): e420-e421.
- 34) Kamath NS, John GT, Neelakantan N, etl. Acute graft pyelonephritis following renal transplantation. *Transplant infectious disease: an official journal of the Transplantation Society.* 2006;8(3):140-7.
- 35) Fishman JA, Grossi PA. Donor-derived infection-the challenge for transplant safety. *Nat Rev Nephrol.* 2014 Nov;10(11):663-72.
- 36) Chong PP, Razonable RR. Diagnostic and management strategies for donor-derived infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2013 Jun;27(2):253-70.
- 37) Kalil AC, Syed A, Rupp ME, et al. Is bacteremic sepsis associated with higher mortality in transplant recipients than in nontransplant patients? A matched case-control propensity-adjusted study. *Clin Infect Dis.* 2015 Jan 15;60(2):216-22.
- 38) Screening of donor and recipient prior to solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2004 Nov;4 Suppl 10(Suppl 10):10-20.
- 39) Ison MG, Grossi P. Donor-Derived Infections in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation.* 2013;13(s4):22-30.
- 40) Jones JM, Kracalik I, Levi ME, et al. Assessing Solid Organ Donors and Monitoring Transplant Recipients for Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus, and

- Hepatitis C Virus Infection - U.S. Public Health Service Guideline, 2020. MMWR Recomm Rep. 2020 Jun 26;69(4):1-16.
- 41) Yilmaz VT, Ulger BV, Aliosmanoglu İ, et al. Assessment of Long-Term Outcomes in Hbs Ag-Negative Renal Transplant Recipients Transplanted from Hbs Ag-Positive Donors. *Ann Transplant.* 2015 Jul 9;20: 390-6.
 - 42) Jiang H, Wu J, Zhang X, et al. Kidney transplantation from hepatitis B surface antigen positive donors into hepatitis B surface antibody positive recipients: a prospective nonrandomized controlled study from a single center. *Am J Transplant.* 2009 Aug;9(8):1853-8.
 - 43) Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg(-), HBcAb(+), HBIgM(-) organ donors. *Transplantation.* 1995 Jan 27;59(2):230-4. PMID: 7839446.
 - 44) Natov SN, Lau JY, Ruthazer R, et al. Hepatitis C virus genotype does not affect patient survival among renal transplant candidates. The New England Organ Bank Hepatitis C Study Group. *Kidney Int.* 1999 Aug;56(2):700-6.
 - 45) Brennan DC, Daller JA, Lake KD, et al. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *The New England journal of medicine.* 2006;355(19):1967-77.
 - 46) Kalil AC, Florescu MC, Grant W, Miles C, Morris M, Stevens BR, et al. Risk of serious opportunistic infections after solid organ transplantation: interleukin-2 receptor antagonists versus polyclonal antibodies. A meta-analysis. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 2014;12(7):881-96.
 - 47) Khosroshahi HT, Mogaddam AN, Shoja MM. Efficacy of high-dose trimethoprim-sulfamethoxazol prophylaxis on early urinary tract infection after renal transplantation. *Transplant Proc.* 2006 Sep;38(7):2062-4.
 - 48) Peleg AY, Husain S, Qureshi ZA, et al. Risk factors, clinical characteristics, and outcome of Nocardia infection in organ transplant recipients: a matched case-control study. *Clin Infect Dis.* 2007 May 15;44(10):1307-14.
 - 49) Ljungman, P. 2001. Prophylaxis against herpesvirus infections in transplant recipients. *Drugs* 61:187-196.
 - 50) Arthurs SK, Eid AJ, Pedersen RA, Kremers WK, Cosio FG, Patel R, et al. Delayed-onset primary cytomegalovirus disease and the risk of allograft failure and mortality after kidney transplantation. *Clin Infect Dis.* 2008;46(6):840-6. Epub 2008/02/12.
 - 51) Krueger KM, Ison MG, Ghossein C. Practical Guide to Vaccination in All Stages of CKD, Including Patients Treated by Dialysis or Kidney Transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2020 Mar;75(3):417-425.
 - 52) Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. Infectious Diseases Society of America. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis.* 2014 Feb;58(3): e44-100.
 - 53) Danziger-Isakov L, Kumar D; AST ID Community of Practice. Vaccination of solid organ transplant candidates and recipients: Guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clin Transplant.* 2019 Sep;33(9): e13563.
 - 54) Viklicky O, Rysava R, Tesar V, et al. Očkování u nemocných s chronickým onemocněním ledvin a po transplantaci. Doporučený postup české nefrologické společnosti. *Aktuality v nefrologii.* 2020;26(4): 116-12.
 - 55) Lee JKH, Lam GKL, Yin JK, et al. High-dose influenza vaccine in older adults by age and seasonal characteristics: Systematic review and meta-analysis update. *Vaccine X.* 2023 Jun 5;14: 100327.
 - 56) McGrath LJ, Layton JB, Krueger WS, et al. High-dose influenza vaccine use among patients receiving hemodialysis in the United States, 2010-2013. *Vaccine.* 2018 Oct 1;36(41):6087-6094.
 - 57) Mombelli M, Rettby N, Perreau M, et al. Immunogenicity and safety of double versus standard dose of the seasonal influenza vaccine in solid-organ transplant recipients: A randomized controlled trial. *Vaccine.* 2018 Oct 1;36(41):6163-6169.
 - 58) Drenko P, Kacer M, Kielberger L, et al. Safety and efficacy of one and two booster doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccines in kidney transplant recipients: A randomized clinical trial. *Transpl Infect Dis.* 2023 Oct;25(5): e14150.

- 59) Kho MML, Messchendorp AL, Frölke SC, et al. Alternative strategies to increase the immunogenicity of COVID-19 vaccines in kidney transplant recipients not responding to two or three doses of an mRNA vaccine (RECOVAC): a randomised clinical trial. *Lancet Infect Dis.* 2022 Oct 27; S1473-3099(22)00650-8.
- 60) Dauber JH, Paradis IL, Dummer JS. Infectious complications in pulmonary allograft recipients. *Clin Chest Med.* 1990 Jun;11(2):291-308. PMID: 2189664.
- 61) Kramer MR, Stoehr C, Lewiston NJ, et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis for *Pneumocystis carinii* infections in heart-lung and lung transplantation--how effective and for how long? *Transplantation.* 1992 Mar;53(3):586-9.
- 62) Fishman JA. Prevention of infection caused by *Pneumocystis carinii* in transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001 Oct 15;33(8):1397-405.
- 63) Hanto DW. Classification of Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative diseases: implications for understanding their pathogenesis and developing rational treatment strategies. *Annu Rev Med.* 1995;46: 381-94.
- 64) Patton DF, Wilkowski CW, Hanson CA, et al. Epstein-Barr virus-determined clonality in posttransplant lymphoproliferative disease. *Transplantation.* 1990 Jun;49(6):1080-4.
- 65) Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, et al. Belatacept Study Group. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2005 Aug 25;353(8):770-81.
- 66) Hollyer I, Ison MG. The challenge of urinary tract infections in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2018 Apr;20(2): e12828.
- 67) Ariza-Heredia EJ, Beam EN, Lesnick TG, et al. Urinary tract infections in kidney transplant recipients: role of gender, urologic abnormalities, and antimicrobial prophylaxis. *Ann Transplant.* 2013 May 6;18: 195-204.
- 68) Valera B, Gentil MA, Cabello V, et al. Epidemiology of urinary infections in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2006 Oct;38(8):2414-5.
- 69) Sallée M, Rafat C, Zahar JR, et al. Cyst infections in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Jul;4(7):1183-9.
- 70) Goldman JD, Julian K. Urinary tract infections in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019 Sep;33(9): e13507.
- 71) Singh R, Bemelman FJ, Hodiament CJ, et al. The impact of trimethoprim-sulfamethoxazole as *Pneumocystis jiroveci* pneumonia prophylaxis on the occurrence of asymptomatic bacteriuria and urinary tract infections among renal allograft recipients: a retrospective before-after study. *BMC Infect Dis.* 2016 Feb 25;16: 90.
- 72) Green H, Rahamimov R, Gafter U, et al. Antibiotic prophylaxis for urinary tract infections in renal transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Transpl Infect Dis.* 2011 Oct;13(5):441-7.
- 73) Wilson CH, Rix DA, Manas DM. Routine intraoperative ureteric stenting for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jun 17;(6):CD004925.
- 74) Arencibia N, Agüera ML, Rodelo C, et al. Short-Term Outcome of Untreated Versus Treated Asymptomatic Bacteriuria in Renal Transplant Patients. *Transplant Proc.* 2016 Nov;48(9):2941-2943.
- 75) Ramsey PG, Rubin RH, Tolckoff-Rubin NE, et al. The renal transplant patient with fever and pulmonary infiltrates: etiology, clinical manifestations, and management. *Medicine (Baltimore).* 1980 May;59(3):206-22.
- 76) Rosenow EC 3rd. Diffuse pulmonary infiltrates in the immunocompromised host. *Clin Chest Med.* 1990 Mar;11(1):55-64. PMID: 2182278.
- 77) Florescu DF, Kalil AC, Qiu F, et al. What is the impact of hypogammaglobulinemia on the rate of infections and survival in solid organ transplantation? A meta-analysis. *Am J Transplant.* 2013 Oct;13(10):2601-10.

- 78) Di Pasquale MF, Sotgiu G, Gramegna A, et al. GLIMP Investigators. Prevalence and Etiology of Community-acquired Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clin Infect Dis*. 2019 Apr 24;68(9):1482-1493.
- 79) American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Feb 15;171(4):388-416.
- 80) Prina E, Ranzani OT, Polverino E, et al. Risk factors associated with potentially antibiotic-resistant pathogens in community-acquired pneumonia. *Ann Am Thorac Soc*. 2015 Feb;12(2):153-60.
- 81) Shah SA, Tsapepas DS, Kubin CJ, et al. Risk factors associated with *Clostridium difficile* infection after kidney and pancreas transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2013; 15: 502-509.
- 82) Neofytos D, Kobayashi K, Alonso CD, et al. Epidemiology, risk factors, and outcomes of *Clostridium difficile* infection in kidney transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2013; 15: 134-141.
- 83) Johnson S, Lavergne V, Skinner AM, et al. Clinical Practice Guideline by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA): 2021 Focused Update Guidelines on Management of *Clostridioides difficile* Infection in Adults. *Clin Infect Dis*. 2021 Sep 7;73(5): e1029-e1044.
- 84) Gerding DN, Kelly CP, Rahav G, et al. Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection in Patients at Increased Risk for Recurrence. *Clin Infect Dis*. 2018 Aug 16;67(5):649-656.
- 85) van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013 Jan 31;368(5):407-15.
- 86) Gerrard JG. *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-negative immunocompromised adults. *Med J Aust*. 1995 Mar 6;162(5):233-5.
- 87) Radisic M, Lattes R, Chapman JF, et al. Risk factors for *Pneumocystis carinii* pneumonia in kidney transplant recipients: a case-control study. *Transpl Infect Dis*. 2003 Jun;5(2):84-93.
- 88) Fishman JA. *Pneumocystis jirovecii*. *Semin Respir Crit Care Med*. 2020 Feb;41(1):141-157.
- 89) Ognibene FP, Shelhamer JH, Hoffman GS, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia: a major complication of immunosuppressive therapy in patients with Wegener's granulomatosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Mar;151(3 Pt 1):795-9.
- 90) Sparkes T, Lemonovich TL; AST Infectious Diseases Community of Practice. Interactions between anti-infective agents and immunosuppressants-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019 Sep;33(9): e13510.
- 91) Ghadimi M, Mohammadpour Z, Dashti-Khavidaki S, et al. m-TOR inhibitors and risk of *Pneumocystis pneumonia* after solid organ transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019 Nov;75(11):1471-1480.
- 92) Martin-Garrido I, Carmona EM, Specks U, et al. *Pneumocystis pneumonia* in patients treated with rituximab. *Chest*. 2013 Jul;144(1):258-265.
- 93) Barreto JN, Ice LL, Thompson CA, et al. Low incidence of *pneumocystis pneumonia* utilizing PCR-based diagnosis in patients with B-cell lymphoma receiving rituximab-containing combination chemotherapy. *Am J Hematol*. 2016 Nov;91(11):1113-1117.
- 94) Thomas CF Jr, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *N Engl J Med*. 2004 Jun 10;350(24):2487-98.
- 95) Wilson JW, Limper AH, Grys TE, et al. *Pneumocystis jirovecii* testing by real-time polymerase chain reaction and direct examination among immunocompetent and immunosuppressed patient groups and correlation to disease specificity. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011 Feb;69(2):145-52.
- 96) Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, et al. American Thoracic Society Fungal Working Group. An official American Thoracic Society statement: Treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Jan 1;183(1):96-128.

- 97) Limper AH, Offord KP, Smith TF, et al. Pneumocystis carinii pneumonia. Differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis.* 1989 Nov;140(5):1204-9.
- 98) Wieruszewski PM, Barreto JN, Frazee E, et al. Early Corticosteroids for Pneumocystis Pneumonia in Adults Without HIV Are Not Associated With Better Outcome. *Chest.* 2018 Sep;154(3):636-644.
- 99) Delclaux C, Zahar JR, Amraoui G, et al. Corticosteroids as adjunctive therapy for severe Pneumocystis carinii pneumonia in non-human immunodeficiency virus-infected patients: retrospective study of 31 patients. *Clin Infect Dis.* 1999 Sep;29(3):670-2.
- 100) Pareja JG, Garland R, Koziel H. Use of adjunctive corticosteroids in severe adult non-HIV Pneumocystis carinii pneumonia. *Chest.* 1998 May;113(5):1215-24.
- 101) Hartmann A, Sagedal S, Hjelmessaeth J. The natural course of cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2006 Jul 27;82(2 Suppl): S15-7.
- 102) Reischig T, Vlas T, Kacer M, et al. A Randomized Trial of Valganciclovir Prophylaxis Versus Preemptive Therapy in Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2023 May 1;34(5):920-934.
- 103) Zhang LF, Wang YT, Tian JH, et al. Preemptive versus prophylactic protocol to prevent cytomegalovirus infection after renal transplantation: a meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *Transpl Infect Dis.* 2011 Dec;13(6):622-32.
- 104) Sester M, Leboeuf C, Schmidt T, Hirsch HH. The "ABC" of Virus-Specific T Cell Immunity in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 2016;16(6):1697-1706.
- 105) 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(7):1793-1805.
- 106) Kumar D, Chernenko S, Moussa G, et al. Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9(5):1214-1222.
- 107) Mena-Romo JD, Perez Romero P, Martin-Gandul C, et al. CMV-specific T-cell immunity in solid organ transplant recipients at low risk of CMV infection. Chronology and applicability in preemptive therapy. *The Journal of infection.* 2017;75(4):336-345.
- 108) 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(6):817-824.
- 109) Razonable RR, Humar A; AST Infectious Diseases Community of Practice. Cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013 Mar;13 Suppl 4:93-106.
- 110) Asberg A, Humar A, Rollag H, et al. VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007 Sep;7(9):2106-13.
- 111) Matthews T, Boehme R. Antiviral activity and mechanism of action of ganciclovir. *Rev Infect Dis.* 1988 Jul-Aug;10 Suppl 3:S490-4.
- 112) Fisher CE, Knudsen JL, Lease ED, et al. Risk Factors and Outcomes of Ganciclovir-Resistant Cytomegalovirus Infection in Solid Organ Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 2017 Jul 1;65(1):57-63.
- 113) Papanicolaou GA, Silveira FP, Langston AA, et al. Maribavir for Refractory or Resistant Cytomegalovirus Infections in Hematopoietic-cell or Solid-organ Transplant Recipients: A Randomized, Dose-ranging, Double-blind, Phase 2 Study. *Clin Infect Dis.* 2019 Apr 8;68(8):1255-1264.
- 114) Avery RK, Alain S, Alexander BD, et al. SOLSTICE Trial Investigators. Maribavir for Refractory Cytomegalovirus Infections With or Without Resistance Post-Transplant: Results From a Phase 3 Randomized Clinical Trial. *Clin Infect Dis.* 2022 Sep 10;75(4):690-701.

- 115) Limaye AP, Budde K, Humar A, et al. Letemovir vs Valganciclovir for Prophylaxis of Cytomegalovirus in High-Risk Kidney Transplant Recipients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023 Jul 3;330(1):33-42.
- 116) Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog*. 2009 Mar;5(3): e1000363.
- 117) Manzano Sánchez D, Jimeno García L, Manzano Sánchez D, et al. Renal Function Impairment in Kidney Transplantation: Importance of Early BK Virus Detection. *Transplant Proc*. 2019 Mar;51(2):350-352.
- 118) Madden K, Janitell C, Sower D, et al. Prediction of BK viremia by urine viral load in renal transplant patients: An analysis of BK viral load results in paired urine and plasma samples. *Transpl Infect Dis*. 2018 Oct;20(5): e12952.
- 119) Hirsch HH, Randhawa PS; AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019 Sep;33(9): e13528.
- 120) Reischig T, Kacer M, Hes O, et al. Viral load and duration of BK polyomavirus viraemia determine renal graft fibrosis progression: histologic evaluation of late protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Nov 1;34(11):1970-1978.
- 121) Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009 Nov;9 Suppl 3: S1-155.
- 122) Nicleleit V, Hirsch HH, Zeiler M, et al. BK-virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant*. 2000 Mar;15(3):324-32.
- 123) Kable K, Davies CD, O'connell PJ, et al. Clearance of BK Virus Nephropathy by Combination Antiviral Therapy With Intravenous Immunoglobulin. *Transplant Direct*. 2017 Mar 10;3(4): e142.
- 124) Kuypers DR, Vandooren AK, Lerut E, et al. Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005 Aug;5(8): 1997-2004.
- 125) Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant*. 2010 Dec;10(12):2615-23.
- 126) Cockfield SM, Preiksaitis JK, Jewell LD, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder in renal allograft recipients. Clinical experience and risk factor analysis in a single center. *Transplantation*. 1993 Jul;56(1):88-96.
- 127) Caillard S, Lelong C, Pessione F, et al. French PTLTD Working Group. Post-transplant lymphoproliferative disorders occurring after renal transplantation in adults: report of 230 cases from the French Registry. *Am J Transplant*. 2006 Nov;6(11):2735-42.
- 128) Petit B, Le Meur Y, Jaccard A, et al. M. Influence of host-recipient origin on clinical aspects of posttransplantation lymphoproliferative disorders in kidney transplantation. *Transplantation*. 2002 Jan 27;73(2):265-71.
- 129) Penn I, Porat G. Central nervous system lymphomas in organ allograft recipients. *Transplantation*. 1995 Jan 27;59(2):240-4. PMID: 7839447.
- 130) Wagner HJ, Wessel M, Jabs W, et al. Patients at risk for development of posttransplant lymphoproliferative disorder: plasma versus peripheral blood mononuclear cells as material for quantification of Epstein-Barr viral load by using real-time quantitative polymerase chain reaction. *Transplantation*. 2001 Sep 27;72(6):1012-9.
- 131) AlDabbagh MA, Gitman MR, Kumar D, et al. The Role of Antiviral Prophylaxis for the Prevention of Epstein-Barr Virus-Associated Posttransplant Lymphoproliferative Disease in Solid Organ Transplant Recipients: A Systematic Review. *Am J Transplant*. 2017 Mar;17(3):770-781.
- 132) Parker A, Bowles K, Bradley JA, et al. Haemato-oncology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology and British Transplantation Society. Management of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ

- transplant recipients-BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol.* 2010 Jun;149(5):693-705.
- 133) EBPG Expert Group on Renal Transplantation. European best practice guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. IV.6.1. Cancer risk after renal transplantation. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): prevention and treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17 Suppl 4:31-3, 35-6.
 - 134) Straathof KC, Savoldo B, Heslop HE, et al. Immunotherapy for post-transplant lymphoproliferative disease. *Br J Haematol.* 2002 Sep;118(3):728-40.
 - 135) Parfrey PS, Forbes RD, Hutchinson TA, et al. The clinical and pathological course of hepatitis B liver disease in renal transplant recipients. *Transplantation.* 1984 May;37(5):461-6.
 - 136) Abrão JM, Carvalho MF, Garcia PD, et al. Safety of kidney transplantation using anti-HBc-positive donors. *Transplant Proc.* 2014 Dec;46(10):3408-11.
 - 137) Te H, Doucette K. Viral hepatitis: Guidelines by the American Society of Transplantation Infectious Disease Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019 Sep;33(9): e13514.
 - 138) Wang XD, Liu JP, Song TR, et al. Kidney Transplantation From Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg)-Positive Living Donors to HBsAg-Negative Recipients: Clinical Outcomes at a High-Volume Center in China. *Clin Infect Dis.* 2021 Mar 15;72(6):1016-1023.
 - 139) Masutani K, Omoto K, Okumi M, et al. Japan Academic Consortium of Kidney Transplantation (JACK) Investigators. Incidence of Hepatitis B Viral Reactivation After Kidney Transplantation With Low-Dose Rituximab Administration. *Transplantation.* 2018 Jan;102(1):140-145.
 - 140) Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology.* 2018 Apr;67(4):1560-1599.
 - 141) KDIGO 2018 clinical practice guideline for the prevention, diagnosis, evaluation, and treatment of hepatitis C virus in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2018;8.
 - 142) Baid-Agrawal S, Pascual M, Moradpour D, et al. Hepatitis C virus infection and kidney transplantation in 2014: what's new? *Am J Transplant.* 2014 Oct;14(10):2206-20.
 - 143) Liu CH, Liang CC, Huang KW, et al. Transient elastography to assess hepatic fibrosis in hemodialysis chronic hepatitis C patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 May;6(5):1057-65.
 - 144) Durand CM, Bowring MG, Brown DM, et al. Direct-Acting Antiviral Prophylaxis in Kidney Transplantation From Hepatitis C Virus-Infected Donors to Noninfected Recipients: An Open-Label Nonrandomized Trial. *Ann Intern Med.* 2018 Apr 17;168(8):533-540.
 - 145) Feng Z, Zhang J, Tan W, et al. Efficacy and Safety of Direct-Acting Antivirals in Kidney Transplantation From HCV-Viremic Donors to Negative Recipients: A Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2022 May 18; 9: 802686.
 - 146) Axelrod DA, Schnitzler MA, Alhamad T, et al. The impact of direct-acting antiviral agents on liver and kidney transplant costs and outcomes. *Am J Transplant.* 2018 Oct;18(10):2473-2482.
 - 147) Schaubel DE, Tran AH, Abt PL, et al. Five-Year Allograft Survival for Recipients of Kidney Transplants From Hepatitis C Virus Infected vs Uninfected Deceased Donors in the Direct-Acting Antiviral Therapy Era. *JAMA.* 2022 Sep 20;328(11):1102-1104.
 - 148) Sawinski D, Patel N, Appolo B, et al. Use of HCV+ Donors Does Not Affect HCV Clearance With Directly Acting Antiviral Therapy But Shortens the Wait Time to Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2017 May;101(5):968-973.
 - 149) Kamar N, Marion O, Rostaing L, Cointault O, Ribes D, Lavayssière L, Esposito L, Del Bello A, Métivier S, et al. Efficacy and Safety of Sofosbuvir-Based Antiviral Therapy to Treat Hepatitis C Virus Infection After Kidney Transplantation. *Am J Transplant.* 2016 May;16(5):1474-9.

- 150) Colombo M, Aghemo A, Liu H, et al. Treatment With Ledipasvir-Sofosbuvir for 12 or 24 Weeks in Kidney Transplant Recipients With Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1 or 4 Infection: A Randomized Trial. *Ann Intern Med.* 2017 Jan 17;166(2):109-117.
- 151) Zhang H, Liu Q, Hu S, et al. Utilization of HCV Viremic Kidneys with Genotyping/Subtyping-Free Sofosbuvir/Velpatasvir Treatment Strategy: Experience from China. *Biomed Res Int.* 2022 Jul 30; 2022: 3758744.
- 152) Murray CJ, Atkinson C, Bhalla K, et al. Burden of Disease Collaborators. The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors. *JAMA.* 2013 Aug 14;310(6):591-608.
- 153) Cruzado JM, Carrera M, Torras J, et al. Hepatitis C virus infection and de novo glomerular lesions in renal allografts. *Am J Transplant.* 2001 Jul;1(2):171-8. PMID: 12099366.
- 154) Hammoud H, Haem J, Laurent B, et al. Glomerular disease during HCV infection in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11 Suppl 4:54-5.
- 155) Schillinger JA, Xu F, Sternberg MR, et al. National seroprevalence and trends in herpes simplex virus type 1 in the United States, 1976–1994. *Sex Transm Dis.* 2004; 31: 753-760.
- 156) Greenberg MS, Friedman H, Cohen SG, Oh SH, et al. A comparative study of herpes simplex infections in renal transplant and leukemic patients. *J Infect Dis.* 1987; 156: 280-287.
- 157) Goodman JL. Possible transmission of herpes simplex virus by organ transplantation. *Transplantation.* 1989; 47: 609-613.
- 158) Seale L, Jones CJ, Kathpalia S, et al. Prevention of herpesvirus infections in renal allograft recipients by low-dose oral acyclovir. *JAMA.* 1985 Dec 27;254(24):3435-8. PMID: 2999455.
- 159) Kusne S, Schwartz M, Breinig MK, et al. Herpes simplex virus hepatitis after solid organ transplantation in adults. *J Infect Dis.* 1991; 163: 1001-1007.
- 160) Singh N, Dummer JS, Kusne S, et al. Infections with cytomegalovirus and other herpesviruses in 121 liver transplant recipients: transmission by donated organ and the effect of OKT3 antibodies. *J Infect Dis.* 1988 Jul;158(1):124-31.
- 161) Buell C, Koo J. Long-term safety of mycophenolate mofetil and cyclosporine. A review. *J Drugs Dermatol.* 2008; 7: 741-748.
- 162) Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis.* 1995 Apr;171(4):857-63.
- 163) Chou S, Gallagher JG, Merigan TC. Controlled clinical trial of intravenous acyclovir in heart-transplant patients with mucocutaneous herpes simplex infections. *Lancet.* 1981 Jun 27;1(8235):1392-4.
- 164) Cohen JL. Clinical practice: Herpes zoster. *N Engl J Med.* 2013;369(3):255-263.
- 165) Pergam SA, Forsberg CW, Boeckh MJ, et al. Herpes zoster incidence in a multicenter cohort of solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2011;13(1):15–23.
- 166) Rommelaere M, Marechal C, Yombi JC, et al. Disseminated varicella zoster virus infection in adult renal transplant recipients: outcome and risk factors. *Transplant Proc.* 2012;44(9):2814–2817.
- 167) Manuel O, Kumar D, Singer LG, et al. Incidence and clinical characteristics of herpes zoster after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2008;27(1):11–16.
- 168) Pavlopoulou ID, Pouloupoulou S, Melexopoulou C, et al. Incidence and risk factors of herpes zoster among adult renal transplant recipients receiving universal antiviral prophylaxis. *BMC Infect Dis.* 2015 Jul 24; 15: 285.
- 169) Ko GB, Kim T, Kim SH, et al. Increased incidence of herpes zoster in the setting of cytomegalovirus preemptive therapy after kidney transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2013;15(4):416–423.
- 170) Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis.* 2014;58(3):309–318.

- 171) Yamanishi, K., T. Okuno, K. Shiraki, et al. 1988. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* i:1065-1067.
- 172) Yamanishi, K. 2001. Human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7, p. 2785-2802. *In* D. M. Knipe et al. (ed.), *Fields virology*, 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.
- 173) Singh, N., and D. R. Carrigan. 1996. Human herpesvirus-6 in transplantation: an emerging pathogen. *Ann. Intern. Med.* 124:1065-1071.
- 174) Ratnamohan VM, Chapman J, Howse H, et al. Cytomegalovirus and human herpesvirus 6 both cause viral disease after renal transplantation. *Transplantation.* 1998 Oct 15;66(7):877-82.
- 175) Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. *Curr Opin Infect Dis.* 2019 Dec;32(6):584-590.
- 176) Humar A, Malkan G, Moussa G, et al. Human herpesvirus-6 is associated with cytomegalovirus reactivation in liver transplant recipients. *J Infect Dis.* 2000 Apr;181(4):1450-3.
- 177) Harnett GB, Farr TJ, Pietroboni GR, et al. Frequent shedding of human herpesvirus 6 in saliva. *J Med Virol.* 1990 Feb;30(2):128-30.
- 178) Galarraga MC, Gomez E, de Oña M, et al. Influence of ganciclovir prophylaxis on cytomegalovirus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7 viremia in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005 Jun;37(5):2124-6.
- 179) Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, et al. Infectious Diseases Society of America. The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008 Aug 1;47(3):303-27.
- 180) Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020 Feb 20;382(8):727-733.
- 181) Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8.
- 182) <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (Accessed on June 07, 2021).
- 183) Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, et al. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Intern Med.* 2021 Jan;174(1):69-79.
- 184) Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020 Mar 19;382(12):1177-1179.
- 185) Jones TC, Biele G, Mühlemann B, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science.* 2021 Jul 9;373(6551):eabi5273.
- 186) Fontana LM, Villamagna AH, Sikka MK, et al. Understanding viral shedding of severe acute respiratory coronavirus virus 2 (SARS-CoV-2): Review of current literature. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021 Jun;42(6):659-668.
- 187) Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clin Infect Dis.* 2020 Dec 17;71(10):2663-2666.
- 188) Agrawal U, Bedston S, McCowan C, et al. Severe COVID-19 outcomes after full vaccination of primary schedule and initial boosters: pooled analysis of national prospective cohort studies of 30 million individuals in England, Northern Ireland, Scotland, and Wales. *Lancet.* 2022 Oct 15;400(10360):1305-1320.
- 189) Wu Y, Kang L, Guo Z, et al. Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open.* 2022 Aug 1;5(8): e2228008.
- 190) Menni C, Valdes AM, Polidori L, et al. Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. *Lancet.* 2022 Apr 23;399(10335):1618-1624.
- 191) Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020 Feb 15;395(10223):507-51.

- 192) ACR Recommendations for the use of Chest Radiography and Computed Tomography (CT) for Suspected COVID-19 Infection <https://www.acr.org/Advocacy-and-Economics/ACR-Position-Statements/Recommendations-for-Chest-Radiography-and-CT-for-Suspected-COVID19-Infection> (Accessed on April 01, 2020).
- 193) Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Mar 17;323(11):1061-1069.
- 194) Drenko P, Reischig T. Doporučení pro léčbu COVID-19 u pacientů po transplantaci ledviny. Ryšavá R, Vyklický, O a kol., Vybrané doporučené postupy v nefrologii Praha: Maxdorf. 2022, Jessenius. ISBN 978-80-7345-729-7.
- 195) Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020 Jul; 191: 145-147.
- 196) Matsumoto K, Prowle JR. COVID-19-associated AKI. *Curr Opin Crit Care*. 2022 Dec 1;28(6):630-63.
- 197) Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, et al. Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021 Mar 24;3(3):CD013705.
- 198) Fang FC, Naccache SN, Greninger AL. The Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019- Frequently Asked Questions. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec 31;71(11):2996-3001.
- 199) Pray IW, Ford L, Cole D, et al. CDC COVID-19 Surge Laboratory Group. Performance of an Antigen-Based Test for Asymptomatic and Symptomatic SARS-CoV-2 Testing at Two University Campuses - Wisconsin, September-October 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Jan 1;69(5152):1642-1647.
- 200) Prince-Guerra JL, Almendares O, Nolen LD, et al. Evaluation of Abbott BinaxNOW Rapid Antigen Test for SARS-CoV-2 Infection at Two Community-Based Testing Sites - Pima County, Arizona, November 3-17, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Jan 22;70(3):100-105.
- 201) Chavarot N, Gueguen J, Bonnet G, et al. COVID-19 severity in kidney transplant recipients is similar to nontransplant patients with similar comorbidities. *Am J Transplant*. 2021;21(3):1285-1294.
- 202) Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383(27):2603-2615.
- 203) Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(5):403-416.
- 204) Glenn DA, Hegde A, Kotzen E, et al. Systematic review of safety and efficacy of COVID-19 vaccines in patients with kidney disease. *Kidney Int Rep*. 2021;6(5):1407-1410.
- 205) Havlin J, Svorcova M, Dvorackova E, et al. Immunogenicity of BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine and SARS-CoV-2 infection in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2021;40(8):754-758
- 206) Cucchiari D, Egri N, Bodro M, et al. Cellular and humoral response after mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2021;21(8):2727-2739.
- 207) Dolff S, Zhou B, Korth J, et al. Evidence of cell-mediated immune response in kidney transplants with a negative mRNA vaccine antibody response. *Kidney Int*. 2021;100(2):479-480.
- 208) Sattler A, Schrezenmeier E, Weber UA, et al. Impaired humoral and cellular immunity after SARS-CoV-2 BNT162b2 (tozinameran) prime-boost vaccination in kidney transplant recipients. *J Clin Invest*. 2021;131(14): e150175.
- 209) Bruminhent J, Setthaudom C, Phornkittikorn P, et al. An additional dose of viral vector COVID-19 vaccine and mRNA COVID-19 vaccine in kidney transplant recipients: A randomized controlled trial (CVIM 4 study). *Am J Transplant*. 2022 Nov;22(11):2651-2660.
- 210) Kumar D, Hu Q, Samson R, Ferreira VH, et al. Neutralization against Omicron variant in transplant recipients after three doses of mRNA vaccine. *Am J Transplant*. 2022;22(8):2089-2093.

- 211) Karaba AH, Johnston TS, Aytenfisu TY, et al. A Fourth Dose of COVID-19 Vaccine Does Not Induce Neutralization of the Omicron Variant Among Solid Organ Transplant Recipients With Suboptimal Vaccine Response. *Transplantation*. 2022;106(7):1440-1444.
- 212) Benning L, Morath C, Bartenschlager M, et al. Neutralizing antibody response against the B.1.617.2 (delta) and the B.1.1.529 (omicron) variants after a third mRNA SARS-CoV-2 vaccine dose in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2022 Jul;22(7):1873-1883.
- 213) Chalkias S, Harper C, Vrbicky K, et al. A Bivalent Omicron-Containing Booster Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2022 Oct 6;387(14):1279-1291.
- 214) Anft M, Skrzypczyk S, Frahnert M, et al. Immunogenicity of Bivalent Omicron BA.4/5 Adapted Vaccine in Hemodialysis Patients. *Kidney Int Rep*. 2023 Apr;8(4):939-941.
- 215) Arbel R, Peretz A, Sergienko R, et al. Effectiveness of a bivalent mRNA vaccine booster dose to prevent severe COVID-19 outcomes: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2023 Aug;23(8):914-921.
- 216) Mimura W, Ishiguro C, Terada-Hirashima J, et al. Bivalent Vaccine Effectiveness Among Adults Aged ≥ 65 Years During the BA.5-Predominant Period in Japan: The VENUS Study. *Open Forum Infect Dis*. 2023 Oct 17;10(10): ofad475.
- 217) Walsh EE, Frenck RW Jr, Falsey AR, et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *N Engl J Med*. 2020 Dec 17;383(25):2439-2450.
- 218) Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020 Nov 12;383(20):1920-1931.
- 219) Levin MJ, Ustianowski A, De Wit S, et al. Intramuscular AZD7442 (Tixagevimab-Cilgavimab) for Prevention of Covid-19. *N Engl J Med*. 2022 Jun 9;386(23):2188-2200.
- 220) Bruel, T., Hadjadj, J., Maes, P. et al. Serum neutralization of SARS-CoV-2 Omicron sublineages BA.1 and BA.2 in patients receiving monoclonal antibodies. *Nat Med* 28, 1297–1302 (2022).
- 221) NIH COVID-19 Treatment Guidelines. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapeutic-management/>. (Accessed May 17, 2021)
- 222) Australian guidelines for the clinical care of people with COVID-19. <https://app.magicapp.org/#/guideline/L4Q5An/section/LOOPkj>. (Accessed May 17, 2021)
- 223) Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 – Final Report. *N Engl J Med*. 2020;383: 1813–26.
- 224) Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 2020; 395: 1569–78.
- 225) Spinner CD, Gottlieb RL, Criner GJ, et al. Effect of Remdesivir vs Standard Care on Clinical Status at 11 Days in Patients with Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *Jama* 2020; 324:1048–57.
- 226) Gottlieb RL, Vaca CE, Paredes R, et al. GS-US-540-9012 (PINETREE) Investigators. Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *N Engl J Med*. 2022 Jan 27;386(4):305-315.
- 227) Jayk Bernal A, Gomes da Silva MM, Musungaie DB, et al. MOVE-OUT Study Group. Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients. *N Engl J Med*. 2022 Feb 10;386(6):509-520.
- 228) Butler CC, Hobbs FDR, Gbinigie OA, et al. PANORAMIC Trial Collaborative Group. Molnupiravir plus usual care versus usual care alone as early treatment for adults with COVID-19 at increased risk of adverse outcomes (PANORAMIC): an open-label, platform-adaptive randomised controlled trial. *Lancet*. 2023 Jan 28;401(10373):281-293.
- 229) Lewnard JA, McLaughlin JM, Malden D, et al. Effectiveness of nirmatrelvir-ritonavir in preventing hospital admissions and deaths in people with COVID-19: a cohort study in a large US health-care system. *Lancet Infect Dis*. 2023 Jul;23(7):806-815.

- 230) Hammond J, Leister-Tebbe H, Gardner A, et al. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med*. 2022 Apr 14;386(15):1397-1408.
- 231) Horby P, Lim WS, Emberson JR, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021 Feb 25;384(8):693-704.
- 232) Lawler PR, Goligher EC, Berger JS, et al. ATTACC Investigators; ACTIV-4a Investigators; REMAP-CAP Investigators. Therapeutic anticoagulation with heparin in noncritically ill patients with COVID-19. *N Engl J Med*. 2021;385(9):790-802.
- 233) Goligher EC, Bradbury CA, McVerry BJ, et al. REMAP-CAP Investigators; ACTIV-4a Investigators; ATTACC Investigators. Therapeutic anticoagulation with heparin in critically ill patients with COVID-19. *N Engl J Med*. 2021;385(9):777-789.
- 234) Labbé V, Contou D, Heming N, et al. ANTICOVID Investigators. Effects of standard-dose prophylactic, high-dose prophylactic, and therapeutic anticoagulation in patients with hypoxemic COVID-19 pneumonia: the ANTICOVID randomized clinical trial. *JAMA Internal Medicine*. Published March 22, 2023.
- 235) Salerno DM, Kovac D, Corbo H, et al. SARS-CoV-2 infection increases tacrolimus concentrations in solid-organ transplant recipients. *Clin Transplant*. 2021; 35: e14193.
- 236) Karruli A, Spiezia S, Boccia F, et al. Effect of immunosuppression maintenance in solid organ transplant recipients with COVID-19: Systematic review and meta-analysis. *Transpl Infect Dis*. 2021: e13595.
- 237) Korber N, Behrends U, Hapfelmeier A, Protzer U, Bauer T. Validation of an IFN γ /IL2 FluoroSpot assay for clinical trial monitoring. *J Transl Med*. 2016;14(1):175.
- 238) Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, et al. Broad and strong memory CD4(+) and CD8(+) T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020;21(11):1336–1345.
- 239) Corey L, Beyrer C, Cohen MS, Michael NL, Bedford T, Rolland M. SARS-CoV-2 variants in patients with immunosuppression. *N Engl J Med*. 2021;385(6):562–566.
- 240) Cassaniti I, Percivalle E, Bergami F, et al. SARS-CoV-2 specific T-cell immunity in COVID-19 convalescent patients and unexposed controls measured by ex vivo ELISpot assay. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(7):1029–1034.
- 241) Fava A, Donadeu L, Sabe N, et al. SARS-CoV-2-specific serological and functional T cell immune responses during acute and early COVID-19 convalescence in solid organ transplant patients. *Am J Transplant*. 2021;21(8):2749–2761.
- 242) Hirzel C, Chruscinski A, Ferreira VH, et al. Natural influenza infection produces a greater diversity of humoral responses than vaccination in immunosuppressed transplant recipients. *Am J Transplant*. 2021;21(8):2709–2718.
- 243) FDA: Access SARS-CoV-2 IgG II (C69057), Instructions For Use, 2021, <https://www.fda.gov/media/146901/download>. Accessed 02/08/2023.
- 244) Valcourt E.J., Manguiat K., Robinson A., et al. Evaluation of a Commercially-Available Surrogate Virus Neutralization Test for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2021; 99:115294.
- 245) Goldblatt D, Alter G, Crotty S, Plotkin SA. Correlates of protection against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease. *Immunol Rev*. 2022 Sep;310(1):6-26.
- 246) Šimánek V, Pecen L, Krátká Z, et al. Five Commercial Immunoassays for SARS-CoV-2 Antibody Determination and Their Comparison and Correlation with the Virus Neutralization Test. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Mar 25;11(4):593.
- 247) Valdivia A, Torres I, Latorre V, et al. Inference of SARS-CoV-2 spike-binding neutralizing antibody titers in sera from hospitalized COVID-19 patients by using commercial enzyme and chemiluminescent immunoassays. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 Mar;40(3):485-494.
- 248) Szabó Z, Szabó T, Bodó K, et al. Comparison of virus neutralization activity and results of 10 different anti-SARS-CoV-2 serological tests in COVID-19 recovered plasma donors. *Pract Lab Med*. 2021 May; 25: e00222.

- 249) Mitchell J, Connolly CM, Chiang TP, et al. Comparison of SARS-CoV-2 Antibody Response After 2 Dose mRNA-1273 vs BNT162b2 Vaccines in Incrementally Immunosuppressed Patients. *JAMA Netw Open*. 2022;5(5): e2211897.
- 250) Haller MC, Kaiser RA, Langthaler S, et al. Comparison of mRNA-1273 and BNT162b2 SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Immunogenicity in Kidney Transplant Recipients. *Transpl Int*. 2022 Jan 4;35: 10026.
- 251) Schmidt T, Klemis V, Schub D, et al. Cellular immunity predominates over humoral immunity after homologous and heterologous mRNA and vector-based COVID-19 vaccine regimens in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2021 Dec;21(12):3990-4002.
- 252) Fernández-Ruiz M, Almendro-Vázquez P, Carretero O, et al. Discordance Between SARS-CoV-2 specific Cell-mediated and Antibody Responses Elicited by mRNA-1273 Vaccine in Kidney and Liver Transplant Recipients. *Transplant Direct*. 2021 Nov 17;7(12): e794.
- 253) Abu-Khader A, Wang W, Berka M, Galaszkiwicz I, Khan F, Berka N. SARS Cov-2 vaccination induces de novo donor-specific HLA antibodies in a renal transplant patient on waiting list: A case report. *HLA*. 2022 Jan;99(1):25-30.
- 254) Cassaniti I, Gregorini M, Bergami F, et al. Effect of a Third Dose of SARS-CoV-2 mRNA BNT162b2 Vaccine on Humoral and Cellular Responses and Serum Anti-HLA Antibodies in Kidney Transplant Recipients. *Vaccines (Basel)*. 2022 Jun 9;10(6):921.
- 255) Wijtvliet VPWM, Verheyden S, Depreter B, et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccination is not associated with the induction of anti-HLA or non-HLA antibodies. *Transpl Immunol*. 2022 Oct;74: 101670.
- 256) Russo G, Lai Q, Poli L, et al. SARS-COV-2 vaccination with BNT162B2 in renal transplant patients: Risk factors for impaired response and immunological implications. *Clin. Transplant*. 2022 Jan;36(1): e14495.
- 257) Loupy A, Haas M, Roufosse C, et al. The Banff 2019 Kidney Meeting Report (I): updates on and clarification of criteria for T cell- and antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2020; 20(9):2318–2331.
- 258) Reischig T, Kacer M, Hes O, et al. Cytomegalovirus prevention strategies and the risk of BK polyomavirus viremia and nephropathy. *Am J Transplant*. 2019; 19(9):2457–2467.
- 259) Nicleleit V, Singh HK, Dadhania D, et al. The 2018 Banff Working Group classification of definitive polyomavirus nephropathy: a multicenter validation study in the modern era. *Am J Transplant*. 2021; 21(2):669–680.
- 260) Chemaly RF, Chou S, Einsele H, Griffiths P, Avery R, Razonable RR. Definitions of resistant and refractory cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2019; 68(8):1420–1426.
- 261) Chevillotte M, von Einem J, Meier BM, Lin FM, Kestler HA, Mertens T. A new tool linking human cytomegalovirus drug resistance mutations to resistance phenotype. *Antivir Res*. 2010;85(2): 318–327.
- 262) Bachelet T, Couzi L, Pitard V, et al. Cytomegalovirus-responsive gammadelta T cells: novel effector cells in antibody-mediated kidney allograft microcirculation lesions. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(11):2471–2482.
- 263) Callemeyn J, Senev A, Coemans M, et al. Missing self-induced microvascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *J Am Soc Nephrol*. 2021;32(8):2070–2082.
- 264) Reischig T, Prucha M, Sedlackova L, et al. Valganciclovir prophylaxis against cytomegalovirus impairs lymphocyte proliferation and activation in renal transplant recipients. *Antivir Ther*. 2011;16(8):1227–1235.
- 265) Kliem V, Fricke L, Wollbrink T, et al. 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(5):975-983.
- 266) Singh N, Limaye AP. Preemptive therapy vs antiviral prophylaxis in cytomegalovirus-seronegative liver transplant recipients with seropositive donors-reply. *JAMA*. 2020; 324(11):1108–1109.

- 267) Rampersad C, Balshaw R, Gibson IW, et al. The negative impact of T cell-mediated rejection on renal allograft survival in the modern era. *Am J Transplant.* 2022;22(3):761–771.
- 268) El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, et al. Kidney allograft survival after acute rejection, the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant.* 2013;13(9):2334–2341.
- 269) Garcia-Carro C, Dorje C, Asberg A, et al. Inflammation in early kidney allograft surveillance biopsies with and without associated tubulointerstitial chronic damage as a predictor of fibrosis progression and development of de novo donor specific antibodies. *Transplantation.* 2017;101(6):1410–1415.
- 270) Kumar D, Mian M, Singer L, et al. An interventional study using cell-mediated immunity to personalize therapy for cytomegalovirus infection after transplantation. *Am J Transplant.* 2017;17(9): 2468–2473.
- 271) Boivin G, Goyette N, Farhan M, et al. Incidence of cytomegalovirus UL97 and UL54 amino acid substitutions detected after 100 or 200 days of valganciclovir prophylaxis. *J Clin Virol.* 2012;53(3): 208–213.
- 272) Khoury JA, Storch GA, Bohl DL, et al. Prophylactic versus preemptive oral valganciclovir for the management of cytomegalovirus infection in adult renal transplant recipients. *Am J Transplant.* 2006;6(9):2134–2143.
- 273) Fisher CE, Knudsen JL, Lease ED, et al. Risk factors and outcomes of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2017;65(1): 57–63.
- 274) Reischig T, Kacer M, Hruba P, et al. The impact of viral load and time to onset of cytomegalovirus replication on longterm graft survival after kidney transplantation. *Antivir Ther.* 2017; 22(6):503–513.
- 275) Natori Y, Alghamdi A, Tazari M, et al. Use of viral load as a surrogate marker in clinical studies of cytomegalovirus in solid organ transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2018;66(4):617–631.
- 276) Jarque M, Crespo E, Melilli E, et al. Cellular immunity to predict the risk of cytomegalovirus infection in kidney transplantation: a prospective, interventional, multicenter clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(9):2375–2385.
- 277) Paez-Vega A, Gutierrez-Gutierrez B, Aguera ML, et al. Immunoguided discontinuation of prophylaxis for cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients treated with antithymocyte globulin: a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2022;74(5):757–765.
- 278) Stachel D, Stevens-Ayers T, Boeckh M. In vitro studies of the impact of maribavir on CMV-specific cellular immune responses. *J Clin Virol.* 2016;75: 53–59.
- 279) Kumar D, Chin-Hong P, Kayler L, et al. A prospective multicenter observational study of cell-mediated immunity as a predictor for cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2019;19(9):2505–2516.
- 280) Kaminski H, Marseres G, Yared N, et al. mTOR inhibitors prevent CMV infection through the restoration of functional antibody and CD4 T cells in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2022; 33(1):121–137.