

Słowo wstępne

Wirus Cytomegalii należy do najczęstszych patogenów infekcyjnych u biorców przeszczepów narządowych i komórek krwiotwórczych. Poprzez wywierane efekty bezpośrednie i pośrednie, wirus ma niekorzystny wpływ na przeżycie biorców i przeszczepionych narządów. Infekcja CMV wymaga profilaktyki, szybkiej diagnostyki, monitorowania i leczenia. Niniejsze opracowanie oparte jest na wynikach randomizowanych prób klinicznych, badań obserwacyjnych oraz opublikowanych wytycznych międzynarodowych grup ekspertów.

Autorzy

Prof. dr hab.med. Alicja Dębska-Ślizień

Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny

Dr hab. n.med. Dominika Dęborska-Materkowska

Klinika Transplantologii, Immunologii, Nefrologii i Chorób
Wewnętrznych Warszawski Uniwersytet Medyczny

Prof. dr hab. med. Magdalena Durlik

Klinika Transplantologii, Immunologii, Nefrologii i Chorób
Wewnętrznych Warszawski Uniwersytet Medyczny

Prof. dr hab. med. Ryszard Grenda

Klinika Nefrologii, Transplantacji Nerek i Nadciśnienia Tętniczego
Instytut-Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie

Zalecenia ogólne u biorców przeszczepów narządowych

1. Zakażenie wirusem Cytomegalii (CMV) stanowi istotny problem u chorych po przeszczepieniu narządu, ze względu na ryzyko wywołania choroby oraz pośredni wpływ na przeżycie pacjentów i czynność przeszczepu.
2. W celu oceny ryzyka zakażenia CMV należy wykonać badanie serologiczne na obecność przeciwciał przeciw wirusowi CMV (IgG) u dawcy i biorcy w momencie transplantacji. Pozwala to na ustalenie zasad profilaktyki po przeszczepieniu.
3. Zapobieganie infekcji CMV jest najczęściej farmakologiczne z zastosowaniem gancyklowiru iv lub wałgancyklowiru.
4. Profilaktyka uniwersalna polega na włączeniu leczenia przeciwwirusowego wszystkim biorcom z grupy ryzyka od momentu transplantacji (do 10 dnia), a profilaktyka wybiórcza czyli leczenie wyprzedzające (*preemptive therapy*), polega na monitorowaniu wiremii i włączeniu leczenia w momencie stwierdzenia replikacji wirusa CMV. Obie metody są skuteczne w zapobieganiu chorobie CMV.
5. Do zalecanych metod diagnostyki replikacji CMV należy ilościowy PCR CMV DNA w płynach ustrojowych lub antygenemia pp65 w leukocytach krwi obwodowej, wykrywają one aktywne zakażenie przed pojawieniem się objawów klinicznych, a czas wykonania badania nie przekracza 24 godzin. Metody serologiczne nie znajdują obecnie zastosowania w rozpoznawaniu i monitorowaniu infekcji CMV u biorcy.
6. Choroba CMV (zespół cytomegaliczny lub postacie narządowe) wymaga bezwzględnego leczenia. Lekiem z wyboru jest gancyklowir podawany iv, w łagodnym przebiegu może być stosowany doustny wałgancyklowir. Należy monitorować wiremię CMV raz w tygodniu i leczyć do zahamowania replikacji potwierdzonej dwoma ujemnymi wynikami. Leczenie wspomagające obejmuje redukcję immunosupresji, podanie immunoglobuliny anty-CMV, czynnika wzrostu granulocytów oraz terapię nadkażeń bakteryjnych i grzybiczych. W przypadku oporności na gancyklowir należy zastosować maribawir lub foskarnet ewentualnie cidofovir.

SPIS TREŚCI

Słowo wstępne	1
Zalecenia ogólne u biorców przeszczepów narządowych	2
1. Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV) u biorców przeszczepów narządowych	4
2. Epidemiologia i patogenez	4
3. Przebieg kliniczny	6
4. Rozpoznanie	7
5. Leki przeciwwirusowe	9
6. Leczenie CMV	10
7. Profilaktyka CMV	14
8. Monitorowanie immunologiczne	21
9. Efekty pośrednie CMV	23
Piśmiennictwo	27

1. Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV) u biorców przeszczepów narządowych

Zakażenia wirusowe odgrywają szczególną rolę w transplantologii, gdyż obok efektów bezpośrednich w postaci zespołów objawów klinicznych, pośrednio wpływają na przeżycie biorców i ich przeszczepów zwiększając ryzyko zakażeń oportunistycznych, biorąc udział w onkogenezie oraz w patogenezie procesu ostrego odrzucania przeszczepu oraz przewlekłej dysfunkcji przeszczepu. Jednym z najważniejszych patogenów infekcyjnym u biorców przeszczepów narządowych jest wirus cytomegalii.

2. Epidemiologia i patogeneza

Wirus CMV (HHV5) należy do rodziny Herpesviridae, podrodziny betaherpesvirinae. Pierwotne zakażenie ma miejsce w dzieciństwie, w formie latentnej wirus pozostaje w bardzo wielu komórkach: w monocytach, makrofagach, neutrofilach, fibroblastach, komórkach nerwowych, nabłonkowych i śródbłonkowych, około 80% dorosłych wykazuje przeciwciała przeciw CMV w klasie IgG (seropozytywność). Czynniki martwicy nowotworów (TNF) wyzwalany w reakcji immunologiczno-zapalnej w odpowiedzi na alloantygeny przeszczepu odgrywa rolę w reaktywacji zakażenia CMV. TNF α łącząc się ze swoim receptorem zlokalizowanym na zakażonych komórkach aktywuje jądrowe czynniki transkrypcyjne za pośrednictwem kinazy białkowej C i jądrowego czynnika kappa B (NF κ B), które mają funkcję promotora dla genu natychmiastowego wczesnego (gen IE), co rozpoczyna replikację CMV. W fazie natychmiastowej wczesnej trwającej pierwsze 4 godziny odbywa się synteza białek regulujących pobudzenie pozostałych genów wirusa, następnie w fazie wczesnej (E) wytwarzane są białka wirusa (polimeraza DNA, helikaza, prymaza), a w fazie późnej (L) ma miejsce synteza białek strukturalnych wirusa, „złożenie” całego wirionu i jego uwolnienie. Czas pełnego cyklu wirusa wynosi około 96 godzin.

Odpowiedź immunologiczna na zakażenie CMV obejmuje:

- Odpowiedź wrodzoną poprzez Toll receptory, komórki NK i receptory KIR.
- Odpowiedź humoralną- przeciwciała powstają około 4 tygodnie po pierwotnej infekcji, mogą mieć znaczenie w ograniczaniu rozprzestrzeniania się zakażenia i łagodzeniu ciężkości przebiegu.

– W kontroli replikacji wirusa w organizmie gospodarza kluczową rolę odgrywa odpowiedź typu komórkowego. Swoiste dla CMV limfocyty CD4+ i CD8+ są konieczne do sprawnej eliminacji zakażenia (między 4 a 6 tygodniem po ekspozycji na antygen). W przebiegu pierwotnej infekcji u biorców przeszczepu, najwcześniej wykrywane są specyficzne dla wirusa limfocyty T CD8+, które kontrolują replikację w ostrym okresie infekcji (stymulacja syntezy IFN- γ i TNF- α). Limfocyty T CD4+ specyficzne dla wirusowych antygenów decydują o długotrwałej ochronie. Pacjenci naiwni w odniesieniu do CMV swoistej pamięci immunologicznej prezentują wysokie ryzyko choroby CMV.

Leki immunosupresyjne hamując naturalną odpowiedź na zakażenie wirusowe, jakim jest reakcja komórkowa poprzez cytotoksyczny limfocyt T, sprzyjają namnażaniu się wirusa.

Źródłem zakażenia wirusem CMV u biorcy może być przeszczepiony narząd lub produkty krwi zawierające leukocyty z latentnym wirusem, ale najczęściej ma miejsce reaktywacja utajonego CMV biorcy lub superinfekcja szczepem dawcy.

Przez zakażenie CMV rozumiemy replikację wirusa, uwalnianie jego cząstek i wytwarzanie odpowiedzi immunologicznej na antygeny wirusa. Pierwotna infekcja CMV u biorcy przeszczepu to zakażenie seronegatywnego biorcy wirusem CMV nabytym od seropozytywnego dawcy. Wtórna infekcja CMV - to reaktywacja CMV u seropozytywnego biorcy lub nadkażenie innym szczepem CMV (np. od dawcy) u seropozytywnego biorcy.

Czynniki ryzyka zakażenia CMV po transplantacji obejmują:

- stan serologiczny dawca(D)/biorca(B). Biorcy seronegatywni (B-) otrzymujący narząd od seropozytywnego dawcy (D+) mają zwiększone ryzyko zakażenia i choroby CMV, nawet w przypadku stosowania profilaktyki;
- ładunek wirusa i wirulencję;
- polimorfizm genetyczny w zakresie wrodzonej i nabytej odporności: *Toll-like receptor-4* (TLR -4), TLR 2, CCR 5, IL-10, MPC-1, niedobór białka wiążącego mannozę;
- brak CMV specyficznych CD4+ i CD8+ limfocytów T;
- intensywność immunosupresji, a zwłaszcza zastosowanie leków powodujących deplecję limfocytów T (ATG/Thymoglobulina);
- niezgodność w układzie HLA D/B (6 niezgodnych antygenów HLA);
- stosowanie profilaktyki anti-CMV, która zmniejsza częstość i opóźnia początek zakażenia i choroby CMV;
- współtowarzyszące infekcje, stany zapalne, występowanie procesu odrzucania wyzwalające prozapalne cytokiny, zwłaszcza TNF- α ;
- rodzaj przeszczepianego narządu – biorcy płuca, jelita cienkiego i trzustki cechują się najwyższym ryzykiem, a nerki i wątroby najniższym;
- wiek biorcy przeszczepu – dzieci są bardziej narażone na pierwotne zakażenie CMV, mają słabiej wykształcone mechanizmy odporności komórkowej, częściej występują u nich epizody odrzucania.

Z leków immunosupresyjnych najsilniejszy wpływ na reaktywację CMV mają przeciwciała poliklonalne (ATG, Thymoglobulina), słabszy: azatiopryna i kwas mykofenolowy (MPA). Natomiast glikokortykosteroidy, cyklosporyna A, takrolimus, bazyliksymab nie wpływają na reaktywację formy latentnej CMV ale nasilają replikację wirusa. Inhibitory mTOR (syrolimus, ewerolimus) korzystnie oddziałują na redukcję częstości zakażenia CMV, gdyż hamują wirusową kinazę mTOR niezbędną do syntezy białek późnej fazy cyklu replikacyjnego CMV.

Zakażenie rozwija się najczęściej od drugiego do czwartego miesiąca po przeszczepieniu, jeśli pacjent nie otrzymuje profilaktyki anty-CMV (u **60-90% biorców stwierdza się replikację CMV**) lub jako późna infekcja po zakończeniu profilaktyki.

Częstość występowania choroby CMV zależy od statusu serologicznego dawcy i biorcy, rodzaju przeszczepionego narządu i stosowania profilaktyki.

Częstość choroby CMV według prowadzonych w ostatnich latach badań klinicznych w dobie profilaktyki anty-CMV u seronegatywnych biorców/ seropozytywnych dawców wynosi

- u biorców nerki – 25%
- u biorców wątroby – 13%
- u biorców serca – 10%
- u biorców płuc – 14%

A u biorców seropozytywnych odpowiednio 7%, 3%, 17%, 6%.

Obecnie śmiertelność z powodu choroby CMV wynosi u biorców przeszczepów narządowych około 6%.

3. Przebieg kliniczny zakażenia

Infekcja CMV może przebiegać bezobjawowo lub jako zespół objawów klinicznych, który nazywamy chorobą CMV, o różnym nasileniu do ciężkich, zagrażających życiu postaci włącznie. Objawy kliniczne najczęściej występują od 2-go do 4-go miesiąca po transplantacji u biorców nie otrzymujących profilaktyki lub po jej zakończeniu.

Choroba CMV przyjmuje postać wiremiczną, czyli zespołu CMV (gorączka, bóle mięśni, stawów, osłabienie, leukopenia i/lub trombocytopenia) lub inwazyjną obejmującą różne układy i narządy jak:

- zapalenie błony śluzowej przewodu pokarmowego (przełyk, żołądek, jelito cienkie, jelito grube) – stany podgorączkowe, dysfagia, nudności, wymioty, bóle brzucha, biegunka, krwawienie, perforacja;
- zapalenie wątroby – najczęstsza postać u biorców przeszczepu wątroby - umiarkowany wzrost aktywności GGTP, ALP po 2-4 dniach ALT, AST, niewielki wzrost stężenia bilirubiny;

- zapalenie trzustki;
- śródmiąższowe zapalenie płuc – gorączka, duszność, suchy kaszel, hipoksemia, w rtg zmiany śródmiąższowe;
- zapalenie mięśnia sercowego;
- zapalenie pęcherza moczowego;
- zapalenie mózgu;
- zapalenie siatkówki (postać późna po upływie 6 miesięcy po transplantacji).

Narządy przeszczepione są bardziej wrażliwe na działanie CMV niż własne, dlatego często obserwuje się zapalenie przeszczepionej wątroby, płuca, serca, trzustki.

Klinicznie najczęściej występuje zespół CMV. Ostatnio równie często opisywana jest postać brzuszna choroby, jej objawy kliniczne są podobne do schorzeń przewodu pokarmowego o innej etiologii występujących we wczesnym okresie po transplantacji, jak zakażenia bakteryjne (zwłaszcza *Clostridium difficile*), działania uboczne leków immunosupresyjnych lub antybiotyków, choroba wrzodowa; stąd konieczna jest wnikliwa diagnostyka różnicowa aby nie doprowadzić do opóźnienia rozpoczęcia terapii przeciwwirusowej. Najgroźniejszy przebieg ma śródmiąższowe zapalenie płuc.

4. Rozpoznanie

Aktywne zakażenie CMV rozpoznajemy na podstawie objawów klinicznych oraz obecności CMV w płynach ustrojowych lub tkance wykrytej metodami biologii molekularnej (CMV DNA), testów antygenowych lub hodowli.

Diagnostyka laboratoryjna

Metody serologiczne wykrywania przeciwciał anti-CMV: ELISA IgG i IgM. Obecność przeciwciał w klasie IgG świadczy o przebytej w przeszłości infekcji CMV, w klasie IgM o aktualnej lub niedawno przebytej infekcji CMV. Przeciwciała w klasie IgM pojawiają się później niż wiremia, a u pacjentów z wysoką immunosupresją mogą powstawać w niewielkich ilościach (niskie miano) lub w ogóle nie powstawać. Metody serologiczne służą obecnie do oceny zakażenia u dawcy i biorcy w momencie transplantacji lub do udokumentowania serokonwersji, natomiast nie znajdują zastosowania w rozpoznawaniu i monitorowaniu infekcji u biorcy;

Diagnostyka i monitorowanie zakażenia CMV po transplantacji oparta jest na metodzie wykrywania CMV DNA lub antygeny pp65 (czas wykonania 24 godziny):

- genom wirusa (CMV DNA): ilościowa amplifikacja kwasów nukleinowych (QNAT – *quantitative nucleic acid amplification testing*) oparta na

technologii PCR we krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym i innym materiale tkankowym. Polecane są metody ilościowe ze względu na korelację ładunku wirusa z przebiegiem klinicznym. W porównaniu z oznaczaniem w surowicy, testy we krwi pełnej są bardziej czułe, (ładunek wirusa jest większy we krwi pełnej). Jednak oba rodzaje próbek są akceptowane, natomiast nie należy zmieniać metody pobrania próbki. Od 2010 roku dostępny jest standard WHO (5×10^6 IU/ml), powinien on być używany do kalibracji testów laboratoryjnych i komercyjnych. Standaryzacja pozwala na porównywanie wyników a także ustalenie wartości progowych wirerii o znaczeniu klinicznym. Ponieważ CMV w formie latentnej obecny jest w wielu jądrzastych komórkach organizmu, istnieje ryzyko detekcji nieaktywnego, niereplikującego wirusa CMV. Test dyskryminujący aktywne zakażenie od latencji nie istnieje, laboratoria powinny opracowywać własne strategie (*cutt off*).

- antygenemia pp 65 w leukocyty krwi obwodowej: metoda fluoroscencyjna, półilościowa. Dobra korelacja kliniczna. Trudności standaryzacji metody zmniejszają możliwości porównania wyników różnych laboratoriów. Czułość testu dla choroby CMV - 100%, dla bezobjawowego zakażenia - 60-70%. W postaciach narządowych lub neutropenii ($<1000/\text{mm}^3$) wyniki mogą być fałszywie ujemne.

Preferowaną metodą przez zespół Ekspertów TTS jest ilościowe oznaczanie CMV DNA, najlepiej z kalibracją według standardu WHO. Ładunek wirusa powinien być podany w IU/ml (często nadal podawane są liczby kopii).

Inne metody diagnostyki CMV nie znajdują szerszego zastosowania klinicznego:

- standardowe kultury komórkowe (czas wykonania 2-4 tygodnie): krew, tkanki, moczu, płyn mózgowo-rdzeniowy, płuczyny z oskrzeli. Wysoka swoistość, niska czułość;
- badanie histopatologiczne: wtręty wirusowe lub antygeny wirusowe wykrywane metodą immunohistochemii lub hybrydyzacji *in situ* w tkance są zalecaną metodą diagnostyki inwazji narządowej, w praktyce jednak rzadko stosowane;
- mikroskop elektronowy (wiriony);

Postępowanie w zakażeniu CMV opiera się obecnie przede wszystkim na oznaczaniu wirerii. Monitorowanie ładunku wirusa CMV służy do prognozowania rozwoju choroby CMV, decyduje o rozpoczęciu leczenia wyprzedzającego, czasie trwania leczenia przeciwwirusowego, określa ryzyko nawrotu lub rozwoju oporności.

5. Leki przeciwwirusowe

Do środków przeciwwirusowych stosowanych w leczeniu i profilaktyce choroby CMV należą:

- a) gancyklowir – analog nukleozydowy, hamuje wirusową polimerazę DNA (UL54), hamuje replikację wszystkich wirusów grupy Herpes: CMV, EBV, HSV, VZV, HHV6, HHV7. Dostępny jest jedynie w postaci dożylniej,
- b) walgancyklowir – postać tylko doustna. Prekursor gancyklowiru, ulega hydrolizie do gancyklowiru, hamuje wirusową polimerazę DNA (UL54). Walgancyklowir jest stosowany w leczeniu retinitis CMV u chorych z AIDS i w profilaktyce choroby CMV u pacjentów po przeszczepieniu narządów litych. Jest on także stosowany w leczeniu łagodnych postaci CMV;

Główne działania niepożądane gancyklowiru i walgancyklowiru to mielosupresja.

- c) foscarnet (iv) – analog pirofosforanowy hamuje polimerazę DNA wirusa, stosowany w leczeniu CMV przy przeciwwskazaniach lub braku skuteczności gancyklowiru, cechuje się dużą nefrotoksycznością i neurotoksycznością;
- d) cidofovir – analog nukleotydowy, hamuje wirusową polimerazę, może być stosowany w leczeniu CMV ale doświadczenie kliniczne jest niewielkie. Wady to nefrotoksyczność, zalety - szerokie spektrum przeciwwirusowe i długi okres półtrwania. Lek jest podawany raz na 1-2 tygodnie;
- e) walcycyklowir, pochodna acykowiru stosowany w dużych dawkach u biorców nerki jest efektywny w profilaktyce, nie jest skuteczny w leczeniu choroby CMV.
- f) hiperimmunoglobulina anty-CMV (CMVIG), poliwalentne immunoglobuliny (IVIG). Przeprowadzona przez Bonaros i wsp. meta-analiza 11 badań randomizowanych z zastosowaniem CMVIG w profilaktyce u biorców przeszczepów narządowych wykazała dobroczynny efekt CMVIG na przeżycie pacjentów, redukcję częstości choroby CMV i śmiertelności z powodu CMV. CMVIG nie miała istotnego wpływu na występowanie zakażenia CMV. Natomiast skuteczność lecznicza CMVIG w monoterapii lub w skojarzeniu z gancyklowirem jest kontrowersyjna. Główne ograniczenie immunoglobulin to wysokie koszty. Biorcy wątroby, płuca, serca, trzustki dużego ryzyka mogą wymagać skojarzonej profilaktyki CMVIG i leku przeciwwirusowego.

- g) maribawir

Maribawir został dopuszczony przez EMA w 2022 roku. Maribawir jest wskazany w leczeniu zakażenia CMV i/lub choroby niereagującej (z opornością lub bez, wynikającą z obecności mutacji) na jedną lub więcej wcześniejszych terapii, w tym gancyklowiru, walgancyklowiru, cidofoviru lub foscarnetu u dorosłych pacjentów, którzy przeszli przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych lub przeszczepienie narządu litego.

Maribawir działa na trzech etapach replikacji; poprzez hamowanie kinazy białkowej UL97 i jej naturalnych substratów, co skutkuje zablokowaniem możliwości fosforylacji białek i w konsekwencji hamowaniem replikacji DNA CMV oraz hamuje enkapsydację i wyjście kapsydów wirusowych z jąder zakażonych komórek.

h) letermowir

Letermowir hamuje kompleks terminazy DNA CMV, który jest niezbędny do rozdzielania i łączenia DNA potomnych wirusów. Letermowir wpływa na powstawanie genomów o właściwej długości jednostek i zaburza dojrzewanie wirionów, nie hamuje replikacji innych wirusów Herpes, należy stosować go z acyklowirem. Letermowir (LMV) działa na późnym etapie cyklu replikacji CMV i nie hamuje replikacji DNA CMV jako takiej. Dlatego ilościowe testy amplifikacji kwasów nukleinowych mogą prowadzić do przeszacowania wirerii u pacjentów leczonych LMV i niedoszacowania skuteczności leczenia.

Lermowir jest wskazany w zapobieganiu reaktywacji cytomegalowirusa i rozwojowi choroby u dorosłych, seropozytywnych względem CMV pacjentów (R+), którzy byli poddani zabiegowi allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych.

i) leflunomid

Leflunomid wykazuje aktywność przeciwwirusową, nie przeprowadzono jednak żadnych randomizowanych badań klinicznych z jego zastosowaniem.

j) Inną metodą leczenia lub profilaktyki jest infuzja limfocytów T specyficznych dla wirusa (VST), co pozwala na bezpośrednie odtworzenie odporności komórkowej specyficznej dla CMV.

6. Leczenie CMV

U biorców wszystkich narządów lekiem z wyboru w terapii choroby CMV jest analog nuklozydowy - gancyklowir. U dorosłych biorców z ciężką postacią choroby CMV zaleca się dożylne leczenie gancyklowirem. U dorosłych biorców z chorobą CMV o łagodnym przebiegu można stosować terapię dożylną gancyklowirem lub leczenie doustnym walgancyklowirem.

W leczeniu choroby CMV dawka gancyklowiru wynosi 5 mg/kg mc iv dwa razy na dobę, walgancyklowiru 900 mg dwa razy na dobę (przy prawidłowej funkcji nerek). Czas leczenia nie powinien być krótszy niż 2 tygodnie. Należy monitorować ilościowo replikację wirusa (QNAT lub pp65) raz w tygodniu i leczyć do zahamowania replikacji CMV potwierdzonej dwoma ujemnymi

wynikami. W postaci żołądkowo-jelitowej pacjenci mogą wymagać dłuższego leczenia, niż wskazuje wiremia. Przedłużonej terapii zazwyczaj wymagają także pacjenci wyjściowo CMV IgG (-), z wysokim ładunkiem wirusa, silną immunosupresją, biorcy narządów klatki piersiowej. U biorców wysokiego ryzyka (pierwotne zakażenie) zalecana jest profilaktyka wtórna walgancyklowirem przez okres 1-3 miesięcy (w zależności od ryzyka nawrotu). U chorych niskiego ryzyka wskazane jest monitorowanie wirerii w kierunku nawrotu. W przypadku powolnej odpowiedzi na leczenie gancyklowirem skuteczne mogą być wysokie dawki leku 7.5 mg-10 mg/kg mc iv dwa razy na dobę (przy prawidłowej funkcji nerek). W ciężkich postaciach choroby CMV lub w głębokiej hipogammaglobulinemii można podać z gancyklowirem ludzką hiperimmunoglobulinę anti-CMV lub poliwalentne immunoglobuliny zawierające wysokie miano przeciwciał anti-CMV. W przypadku działań niepożądanych (leukopenia) należy unikać redukcji dawki gancyklowiru, wskazane jest zmniejszenie dawek MMF, MPS, azatiopryny, inhibitorów mTOR, sulfometoksazolu/trimetoprimu. W ciężkiej leukopenii (neutropenia $< 1000 \text{ mm}^3$) można podać czynnik wzrostu granulocytów (G-CSF). Również w przypadku leukopenii/trombocytopenii nie należy obawiać się włączenia terapii gancyklowirem, jest ona spowodowana zazwyczaj supresją szpiku przez CMV i leczenie nie powinno jej pogłębiać, a wręcz przeciwnie, hamowanie replikacji CMV przynosi poprawę parametrów hematologicznych. Często suboptymalna dawka gancyklowiru jest przyczyną nieskutecznego hamowania replikacji wirusa CMV. Obowiązuje leczenie nadkażeń bakteryjnych, grzybiczych. W chorobie CMV wskazana jest redukcja immunosupresji, postępowanie jest indywidualizowane w zależności od ciężkości przebiegu, wielkości wirerii, wystąpienia leukopenii, oporności na terapię. W pierwszej kolejności należy odstawić leki antyproliferacyjne, następnie zredukować inhibitor kalcyneuryny. W nawrocie CMV gancyklowir jest równie skuteczny jak w pierwszym rzucie. Czynniki ryzyka nawrotu są: pierwotna infekcja, wysoki wyjściowy ładunek wirusa, powolny klirens wirerii, postać wielonarządowa choroby CMV, leczenie odrzucania podczas terapii choroby CMV. W sytuacji nawrotu należy rozważyć profilaktykę wtórną.

Leczenie przypadków opornych

Przez oporność w oparciu o aktualną definicję utworzoną przez ekspertów na potrzeby badań klinicznych należy rozumieć infekcję CMV nie reagującą (z lub bez oporności wirusologicznej) na jedną lub więcej wcześniejszych terapii, w tym na gancyklowir, walgancyklowir, foscarnet lub cydofowir, niepowodzenie w osiągnięciu zmniejszenia poziomu CMV DNA $> 1 \log_{10}$ w krwi pełnej lub osoczu po 14-dniowej lub dłuższej terapii lub udokumentowaną mutację CMV związaną z opornością na gancyklowir, walgancyklowir, foscarnet lub cydofowir. Częstość występowania oporności CMV w populacji SOT zależy od rodzaju przeszczepionego narządu, schematów postępowania w ośrodkach. Występowanie oporności po terapii GCV

u pacjentów z SOT jest ogólnie niskie (<5%), w niektórych publikacjach waha się od 5% do 12% i do 18% u biorców płuc oraz do 31% u biorców jelita i biorców przeszczepów wielonarządowych. Wskaźniki oporności genetycznej były mierzone rutynowo tylko w kilku dużych badaniach klinicznych (IMPACT- 2%, VICTOR-3%).

Oporność na gancyklowir może być efektem mutacji CMV w locus UL97 kinazy białkowej warunkującej fosforylację leku do aktywnej jego postaci. Do aktywacji gancyklowiru, w przeciwieństwie do cidofowiru i foscarnetu, niezbędna jest replikacja wirusa. Lek pozostaje nieaktywny do czasu fosforylacji w zainfekowanych CMV komórkach przez wirusowy układ enzymatyczny. Wówczas aktywna postać leku jest wbudowywana w wirusowy DNA przy udziale wirusowej polimerazy DNA, w efekcie prowadząc do zahamowania replikacji. Mutacja może także dotyczyć genu UL54, kodującego wirusową polimerazę DNA, będącą celem gancyklowiru, foscarnetu i cidofowiru. Niezależne lub współistniejące z mutacją genu UL97, wystąpienie mutacji genu UL54 może prowadzić do oporności na cidofowir i/lub foscarnet oraz krzyżowej oporności na gancyklowir, foscarnet i cidofowir. Oporność na gancyklowir nie spowodowana mutacją może wynikać z głębokiego upośledzenia odporności u biorcy lub suboptymalnej ekspozycji na gancyklowir. Częściej stwierdzana jest też u biorców wysokiego ryzyka zakażenia CMV (D+/B-) oraz w przypadku wydłużonej (średnio do 5-6. miesięcy) ekspozycji na preparat przeciwwirusowy.

Nowym lekiem zarejestrowanym do leczenia przypadków opornych jest maribawir. Badanie 3 fazy o akronimie SOLSTICE, pozwoliło na rejestrację maribawiru przez EMA (*European Medicines Agency*). W badaniu wzięli udział chorzy po transplantacji komórek krwiotwórczych oraz narządów unaczynionych. Kwalifikowano pacjentów z zakażeniem CMV niereagującym/opornym (refractory) na ostatnie leczenie, definiowane jako nieosiągnięcie zmniejszenia DNA CMV o więcej niż 1-log₁₀ po 14 dniach lub więcej leczenia anty-CMV co mogło między innymi wynikać z obecności co najmniej 1 mutacji genetycznej związanej z opornością na gancyklowir/walgancyklowir, foscarnet.

Kwalifikujący się pacjenci zostali losowo przydzieleni do grupy otrzymującej maribawir (400 mg doustnie dwa razy dziennie) lub grupy przyjmującej leczenie przypisane przez badacza (IAT) przez 8 tygodni. Wybór konkretnego IAT leżał w gestii badacza i mógł obejmować monoterapię lub terapię skojarzoną (≤2 leki) z dożylnym (IV) gancyklowirem, doustnym walgancyklowirem, foscarnetem dożylnym lub cydofowirem dożylnym. Pacjentów oceniano co tydzień do 12. tygodnia, a następnie co 2 tygodnie aż do 20. tygodnia. Maribawir był lepszy od innych zastosowanych wg powyższych kryteriów leków przeciwwirusowych pod względem eliminowania wirusa cytomegalii oraz kontroli objawów po terapii u biorców przeszczepu,

rzadziej też dochodziło do przerwania leczenia z powodu objawów niepożądanych. U pacjentów leczonych maribawirem obserwowano mniejszą częstość występowania mielosupresji związanej z leczeniem, w tym neutropenii i nefrotoksyczności w porównaniu z walgancyklowirem/gancyklowirem, oraz ostrego uszkodzenia nerek w porównaniu z foscarnetem.

Profil FK/FD pozwala na podanie maribawiru doustnie i lek przeznaczony jest do podawania wyłącznie tą drogą. Tabletkę można przyjmować w całości, po rozkruszeniu lub jako rozkruszoną tabletkę przez zgłębnik nosowo-żołądkowy lub ustno-żołądkowy. Lek ma dużą biodostępność może być przyjmowany niezależnie od posiłku. Nie jest konieczna modyfikacja dawki u pacjentów uszkodzeniem funkcji nerek. Nie zaobserwowano klinicznie istotnego wpływu zaburzeń czynności nerek w zakresie klirensu kreatyniny od 12 do 70 mL/ml. Maribawir silnie wiąże się z białkami osocza dlatego najprawdopodobniej nie jest w znacznym stopniu usuwany przez hemodializę lub dializę otrzewnową. W czasie terapii maribawirem podobnie jak i innymi lekami przeciw wirusowi CMV obowiązuje monitorowanie DNA CMV. Leczenie maribawirem może nie być skuteczne. Wiremia może być nadal obserwowana jak również może dojść do nawrotu wiremii. Nawrót w badaniu klinicznym występował zwykle w ciągu 4-8 tygodni po przerwaniu leczenia. Brak skuteczności terapii może być wynikiem oporności krzyżowej na gancyklowir i walgancyklowir. Można rozważyć badanie mutacji, jednak w praktyce klinicznej w Polsce jest to niewykonalne.

Maribawir nie był badany u pacjentów z zakażeniem CMV ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Przypuszcza się, że przenikanie maribawiru do OUN jest małe w porównaniu do stężeń w osoczu dlatego nie przewiduje aby był skuteczny w leczeniu zakażeń CMV OUN (np. zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych). W odróżnieniu od gancyklowiru Maribawir jest eliminowany głównie w wyniku metabolizmu wątrobowego przy udziale CYP3A4, może zwiększać stężenia leków immunosupresyjnych będących substratami cytochromu P450 w tym takrolimusu, cyklosporyny, syrolimusu i ewerolimusu. Dlatego należy często kontrolować stężenie tych leków przez cały czas leczenia zwłaszcza po rozpoczęciu i po przerwaniu stosowania produktu. Jednoczesne stosowanie maribawiru z walgancyklowirem i gancyklowirem jest przeciwwskazane. Maribawir może antagonizować przeciwwirusowe działanie gancyklowiru i walgancyklowiru poprzez hamowanie kinazy serynowo-treoninowej UL97 ludzkiego CMV, która jest niezbędna do aktywacji/fosforylacji gancyklowiru i walgancyklowiru. Stąd zalecenie nie stosowania maribawiru przy CMV retinitis kiedy podaje się gancyklowir dożylnie.

Nie zaobserwowano antagonizmu podczas stosowania w skojarzeniu z cydofowirem, foscarnetem i letermowirem. Maribawir aktualnie nie jest dostępny w programie lekowym, można go uzyskać poprzez RDTL (Ratunkowego Dostępu do Technologii Lekowych).

Dawki leków przeciwwirusowych należy dostosowywać do klirensu kreatyniny (Tabela 1.)

Tabela. 1 Dawkowanie gancyklowiru i walgancyklowiru.

Klirens kreatyniny (ml/min)	Dawka terapeutyczna	Dawka profilaktyczna
Gancyklowir dożylnie		
≥ 70	5,0 mg/kg co 12h	5,0 mg/kg co 24h
50-69	2,5 mg/kg co 12h	2,5 mg/kg co 24h
25-49	2,5 mg/kg co 24h	1,25 mg/kg co 24h
10-24	1,25 mg/kg co 24h	0,625 mg/kg co 24h
< 10	1,25 mg/kg 3 x w tygodniu po dializie	0,625 mg/kg 3 x w tygodniu po dializie
Walgancyklowir		
≥ 60	900 mg co 12h	900 mg 1 x dziennie
40 – 59	450 mg co 12h	450 mg 1 x dziennie
25 – 39	450 mg 1 x dziennie	450 mg co 2 dni
10 – 24	450mg co 2 dni	450 mg 2 x na tydzień
< 10	200 mg 3 x w tygodniu po dializie	100 mg 3 x w tygodniu po dializie

Kotton CN. i wsp. *Transplantation* 2013;96(4)

Zasady terapii u dzieci po transplantacji nerki

Leczenie gancyklowirem u dzieci powinno być monitorowane stężeniem leku we krwi ze względu na szybszy metabolizm i wydalanie leku u dzieci niż u dorosłych. Część z pacjentów pediatrycznych wymaga podwyższenia zalecanej dawki leku (5 mg/kg co 12 godzin), albo skrócenia odstępu między kolejnymi dawkami leku do 8 godzin dla utrzymania terapeutycznego stężenia leku we krwi. U dzieci z klinicznie objawową chorobą CMV wczesnie należy włączać wspomagające leczenie immunoglobulinami oraz redukować immunosupresję. U dzieci podobnie jak u osób dorosłych, wielkość dawki gancyklowiru jest dobierana do zakresu czynności przeszczepionej nerki, zakres dawkowania podano w tabeli 2.

W przypadkach wątpliwych należy monitorować stężenie leku we krwi. Wartość stężenia przed kolejną dawką (C0) powinna wynosić od 0,4 do 1,0 µg/ml. U dzieci, podobnie jak u chorych dorosłych, w przypadkach przedłużającej się terapii i/lub profilaktyki zakażenia CMV stosuje się doustnie walgancyklowir. Dawkowanie walgancyklowiru w jego oryginalnej postaci jest trudne u dzieci młodszych ze względu na brak możliwości dzielenia tabletki. Tradycyjną postacią leków w pediatrii jest w takich przypadkach syrop o stężeniu walgancyklowiru 50 mg/ml. Pomocną formułą obliczenia należynej dobowej dawki walgancyklowiru u dzieci jest następujący algorytm:

dawka dobową (mg) = 7 x powierzchnia ciała x klirens kreatyniny (wg. Schwartza).

Tabela 2. Dawkowanie dożylniej postaci gancyklowiru

Klirens kreatyniny ml/min./1,73m ²	Dawka początkowa	Dawka podtrzymująca
≥70	5,0 mg/kg co 12 godzin	5,0 mg/kg 1x dobę
50–69	2,5 mg/kg co 12 godzin	2,5 mg/kg 1x dobę
25–49	2,5 mg/kg co 24 godziny	1,5 mg/kg 1x dobę
10–24	1,25 mg/kg co 24 godziny	0,625 mg/kg 1x dobę
<10	1,25 mg/kg 3x tydz. po HD*	0,625 mg/kg 3x tydz. po HD*

* dawkowanie u chorych hemodializowanych

Wykazano istotną korelację wielkości dawki wyliczonej na podstawie tego wzoru z pożądaną wielkością pola pod krzywą stężenia leku (gancyklowiru) we krwi oraz stężeniem CO. Formuła ta była weryfikowana badaniami farmakokinetycznymi u dzieci po transplantacji nerki, serca i wątroby. Wyliczoną dokładnie dawkę należy zaokrąglić w górę do krotności 25 mg. Obliczenie klirensu kreatyniny wg. Schwartza wykorzystuje następujący wzór:

$$\text{Klirens kreatyniny (ml/min./1,73 m}^2\text{)} = * 0,43 \times \text{wzrost (cm)}/\text{stężenie kreatyniny w surowicy (mg/dl)}$$

Dostępne są dane wskazujące na związek między doбором dawki leku do wielkości powierzchni ciała i wyższą częstością działań niepożądanych, w porównaniu do odniesienia wielkości dawki do masy ciała dziecka. Przy dobrej czynności przeszczepu nerki wielkość dawki rzędu 17 mg/kg m.c. wydaje się optymalna.

Długość terapii, szczegółowe wskazania i profil bezpieczeństwa/toksyczności nie różnią się istotnie od podobnych parametrów u osób dorosłych. Odrębną, swoistą grupą pacjentów są dzieci poniżej 18 miesięcy życia, wśród których z jednej strony występują seronegatywne przypadki braku kontaktu z CMV (*CMV naïve patients*), a z drugiej przypadki biernej i zanikającej odporności (obecność przeciwciał klasy IgG pochodzących jeszcze od matki). Nie ma jednoznacznych zaleceń co do zasad profilaktyki anty-CMV u tych dzieci w przypadku, kiedy dawca jest seronegatywny, niemniej istnieją opinie sugerujące potrzebę prowadzenia 3-miesięcznej profilaktyki nawet przy takim doborze z dawcą (CMV +/-) ze względu na znaczne ryzyko nabycia pierwotnego zakażenia inną drogą (niż przeniesienie wraz z przeszczepem) w czasie pierwszych miesięcy stosowania immunosupresji. Znaczenie pierwotnej seronegatywności (*naïve status*) dla ryzyka zakażenia CMV jest u dzieci większe niż u chorych dorosłych.

7. Profilaktyka CMV

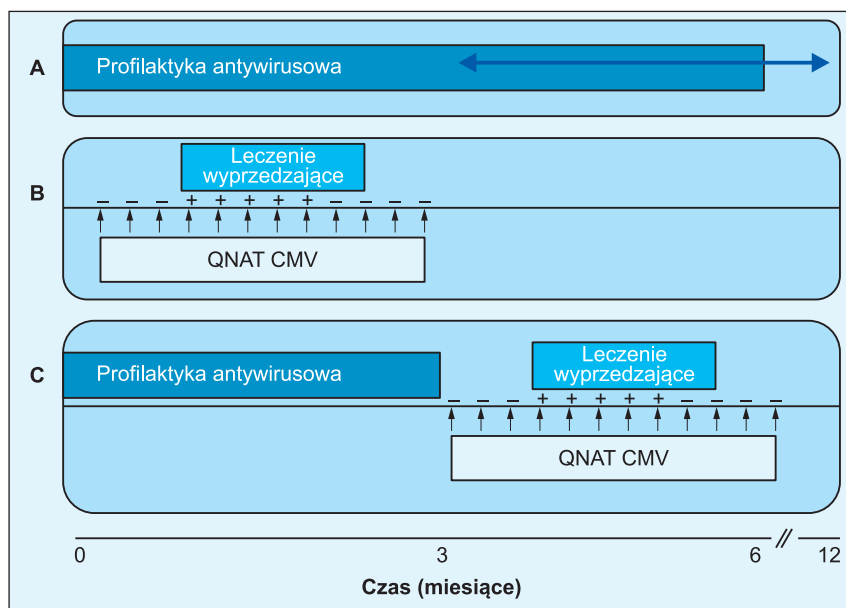
Zapobieganie zakażeniu od momentu transplantacji ma na celu obniżenie częstości zakażenia i choroby CMV. Zalety profilaktyki to zmniejszone ryzyko zakażenia, eliminacja efektów bezpośrednich i pośrednich wirusa cytomegalii, jednocześnie zapobieganie zakażeniom innymi wirusami Herpes jak: EBV, HHV6, HHV 7, HSV, VZV. Wady profilaktyki to opóźniona swoista odpowiedź układu immunologicznego biorcy, późna infekcja CMV i oporność na stosowany lek z powodu mutacji.

Profilaktyka CMV obejmuje:

- dobór seronegatywnego dawcy dla seronegatywnego biorcy - w praktyce nie stosowany ze względu na powszechność zakażenia CMV w populacji, dostępność metod diagnostyki CMV oraz skutecznych leków hamujących replikację CMV;
- przetwarzanie ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek czerwonych (UKKCz);
- szczepienia ochronne - obecnie nie ma dostępnej skutecznej szczepionki anty-CMV;
- immunizacja bierna w postaci IgG CMV – skuteczność porównywalna do farmakologicznej, jednak wysokie koszty;
- stosowanie środków farmakologicznych przeciwwirusowych.

W praktyce klinicznej stosowana jest profilaktyka farmakologiczna. Może ona być uniwersalna, dotycząca wszystkich biorców, albo wybiórcza (nazywana leczeniem wyprzedzającym tzw. „preemptive therapy”). Leczenie wyprzedzające dotyczy podgrupy pacjentów, u których lek stosowany jest przed pojawieniem się objawów klinicznych, w oparciu o monitorowanie replikacji CMV. Terapia jest włączana w momencie pojawienia się replikacji w celu zapobiegania chorobie CMV. Niektóre ośrodki stosują także postępowanie hybrydowe rozpoczynając od profilaktyki uniwersalnej a następnie przechodząc do monitorowania wiremii.

Zaletą leczenia wyprzedzającego jest obniżenie kosztów leczenia, mniejsze ryzyko oporności szczepów CMV, zmniejszenie działań niepożądanych leków. Wadą – konieczność monitorowania wiremii raz w tygodniu przez 3 pierwsze miesiące po transplantacji, co generuje znaczące koszty a dla pacjentów stwarza trudności logistyczne. Jedną z potencjalnych zalet tego rodzaju postępowania może być również umożliwienie wytworzenia swoistej T komórkowej odpowiedzi przeciwwirusowej i zmniejszenie ryzyka wystąpienia późnej choroby CMV, jednocześnie podkreśla się także mało udowodnioną skuteczność w kontroli efektów pośrednich CMV. Leczenie wyprzedzające może „pomiąć” miejscową reaktywację CMV i przez to spowodować narządową postać choroby, ponieważ miejscowy ładunek wirusa może przekroczyć próg potrzebny do wywołania choroby zanim poziom we krwi stanie się wykrywalny (Tabela 3).



Strategia postępowania w chorobie CMV u pacjentów po przeszczepieniu

Razonable RR. i wsp. *Clinical Microbiology Reviews* 2013; 26(4):703-727

Ryc. 1 Postępowanie w zapobieganiu CMV, A – profilaktyka uniwersalna, B – leczenie wyprzedzające, C – postępowanie hybrydowe.

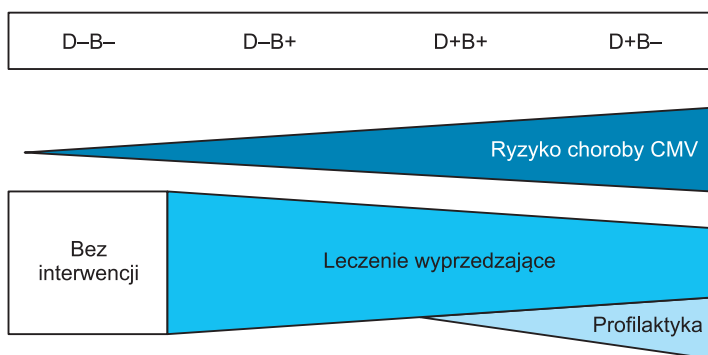
Tabela 3. Profilaktyka anty-CMV- wady i zalety

	Uniwersalna	Wybiórcza
Skuteczność	++	++
Redukcja efektów pośrednich	++	+
Redukcja śmiertelności	++	+
Poprawa przeżycia przeszczepu	++	-
Hamowanie replikacji innych wirusów	+	-
Łatwość stosowania	++	-
Późna infekcja CMV	+	-
Oporność	++	+
Niższe koszty leku	-	+
Niższe koszty monitorowania wiremii	+	-

Dane literaturowe wykazują porównywalną częstość występowania choroby CMV, procesu odrzucania, utraty przeszczepu, śmiertelności dla obu strategii postępowania. Profilaktyka uniwersalna była związana z wyższą częstością występowania późnej infekcji CMV i leukopenii/neutropenii.

Obie metody profilaktyka uniwersalna i leczenie wyprzedzające są skuteczne w zapobieganiu chorobie CMV.

Z leków przeciwwirusowych zastosowanie znalazły: gancyklowir iv, walgancyklowir, walacyklowir (w Polsce nie stosowany). W praktyce u wszystkich biorców stosowany jest doustny walgancyklowir. Przeprowadzona przez Hodson i wsp. (*Cochrane Library*) metaanaliza 34 badań klinicznych wykazała, że profilaktyka w porównaniu z placebo zmniejsza częstość zakażenia CMV (o 39%), choroby CMV (o 58%), śmiertelności z powodu choroby CMV (o 74%) i śmiertelności ogólnej (o 37%) a także redukuje częstość rozwoju innych infekcji: o 73% HSV/VZV, o 35% bakteryjnych i o 69% *Pneumocystis jiroveci*.



Ryc. 2 Postępowanie w zapobieganiu CMV w zależności od stratyfikacji ryzyka

Postępowanie w zapobieganiu chorobie CMV oparte jest przede wszystkim na statusie serologicznym dawcy i biorcy w dniu transplantacji (Tab 4)

Leczenie profilaktyczne należy włączyć w ciągu 10 dni po transplantacji.

Nie zaleca się rutynowego monitorowania wiremii podczas profilaktyki uniwersalnej u bezobjawowego pacjenta.

Dawka profilaktyczna walgancyklowiru przy prawidłowej czynności nerek wynosi 900 mg/dobę. Nie należy obniżać dawki poniżej zalecanej, strategia „mini” dawek 450 mg/dobę nie jest wskazana gdyż suboptymalna dawka leku sprzyja narastaniu wiremii oraz oporności. Problemem jest

Tabela 4. Zasady profilaktyki anty-CMV.

Narząd	Status serologiczny D/B	Ryzyko	Rekomendacja	Alternatywne postępowanie
Wszystkie	D-/B-	niskie	Obserwacja w kierunku objawów klinicznych CMV, profilaktyka przeciw innym wirusom Herpes	Leczenie wyprzedzające przy wysokim ryzyku np. przetoczenia krwi
Nerka	D+/B-	Wysokie	6 miesięcy GCV/VGCV lub leczenie wyprzedzające	
	B+	Pośrednie	3 miesiące VGCV lub wyprzedzające	
Wątroba	D+/B-	Wysokie	3-6 miesięcy VGCV lub leczenie wyprzedzające	
	R+	Pośrednie	3 miesiące VGCV lub leczenie wyprzedzające	
Trzustka	D+/B-	Wysokie	3-6 miesięcy VGCV	Leczenie wyprzedzające
	B+	Pośrednie	3 miesiące VGCV lub leczenie wyprzedzające	
Wysepki trzustkowe	D+/B-	Pośrednie	3 VGCV	
	B+	Pośrednie	3 miesiące VGCV lub leczenie wyprzedzające	
Serce	D+/B-	Wysokie	3-6 miesięcy GCV/VGCV	Leczenie wyprzedzające do rozważenia dodanie CMV Ig
	B+	Pośrednie	3 miesiące GCV/VGCV lub leczenie wyprzedzające	
Płuco	D+/B-	Wysokie	6-12 miesięcy GCV/VGCV do rozważenia dodatnie CMV Ig	Leczenie wyprzedzające
	B+	Pośrednie	Minimum 6 miesięcy GCV/VGCV	
Jelito, złożony przeszczep tkankowy	D+/B-	Wysokie	Minimum 6 miesięcy GCV/VGCV + nadzór po zakończeniu profilaktyki	Leczenie wyprzedzające, do rozważenia CMV Ig
	B+	Wysokie	3-6 miesięcy GCV/VGCV + nadzór po zakończeniu profilaktyki	

późna infekcja CMV rozwijająca się po zakończeniu profilaktyki, dlatego należy monitorować pacjentów klinicznie, wirusologicznie lub immunologicznie, ewentualnie przedłużyć profilaktykę z 3 do 6 miesięcy lub jeszcze dłużej w wybranych grupach chorych.

Biorcy D-/B-

Niskie ryzyko choroby CMV – chorzy nie wymagają profilaktyki. Masywne przetoczenia krwi zwiększają to ryzyko, dlatego też zaleca się produkty krwi ubogoleukocytarne. W przypadku masywnych przetoczeń krwi można rozważyć profilaktykę przeciwwirusową.

Leczenie wyprzedzające (*preemptive*)

Należy wybrać test diagnostyczny i określić próg wiremii odpowiednio niski aby włączenie terapii zapobiegało chorobie CMV. U biorców nerki, trzustki, wątroby, serca monitorować CMV DNA (lub pp65) raz w tygodniu przez 3 miesiące, nie zmieniać testu laboratoryjnego. W momencie stwierdzenia wiremii należy podać terapeutyczną dawkę walgancyklowiru (2x900 mg/d) lub GCV iv i leczyć do uzyskania przynajmniej jednego lub dwóch ujemnych wyników wiremii.

Decyzja o kontynuacji monitorowania wiremii lub włączenia wtórnej profilaktyki przeciwwirusowej po zakończeniu terapii zależy od praktyki ośrodka. Niestała wiremia na niskim poziomie (poniżej progu przyjętego przez laboratorium) może być obecna i nie jest ona wskazaniem do włączenia leczenia, dopóki pacjent nie ma objawów klinicznych. Skuteczne bywa w takiej sytuacji zredukowanie immunosupresji.

Nowym lekiem w profilaktyce CMV jest letermowir, hamuje on kompleks terminazy DNA CMV, który jest niezbędny do rozdzielania i łączenia DNA potomnych wirusów. Nie hamuje replikacji innych wirusów Herpes, należy stosować go z acyklowirem. W Polsce letermowir jest już dostępny w programie terapeutycznym dla biorców komórek krwiotwórczych. W 2023 roku zostało opublikowane badanie randomizowane 3 fazy, w którym porównano skuteczność i bezpieczeństwa letermowiru z walgancyklowirem w zapobieganiu chorobie CMV u dorosłych biorców przeszczepu nerki seronegatywnych pod względem CMV, którzy otrzymali narząd od dawcy seropozytywnego CMV. Pacjentów losowo przydzielono w stosunku 1:1 w celu do grupy letermowiru, 480 mg, doustnie codziennie (z acyklowirem) lub do grupy walgancyklowiru 900 mg, doustnie codziennie (skorygowany pod kątem czynności nerek) przez do 200 dni po przeszczepieniu, z dopasowanym placebo. Letermowir (n = 289) nie był gorszy od walgancyklowiru (n = 297) w zapobieganiu chorobie CMV do 52. tygodnia (10,4% w porównaniu z VGC 11,8%). W grupie letermowiru obserwowano mniejszą częstość leukopenii (11,3% vs 37%) lub neutropenii. Należy spodziewać się dopuszczenia letermowiru do profilaktyki u biorców przeszczepów narządowych.

W niedawno opublikowanych w 2022 roku danych 224 europejskich ośrodków transplantacyjnych, wykazano, że uniwersalną profilaktykę stosuje się w 90% ośrodków u pacjentów D+/B-. Przeszczepy nerek i serca najczęściej leczone są przez 6 miesięcy a pacjentów po przeszczepieniu płuc poddawano 12-miesięcznej profilaktyce, natomiast 50% biorców wątroby otrzymywało profilaktykę przez 3 miesiące a 50% przez 6 miesięcy. Wśród seropozytywnych CMV pacjentów, 50% ośrodków stosuje profilaktykę uniwersalną, podczas gdy inni wolą strategię wyprzedzającą. VGCV jest najczęstszym lekiem przeciw CMV stosowanym w zapobieganiu CMV po SOT. Głównym działaniem niepożądanym zgłaszanym przez różne ośrodki jest mielotoksyczność wywołana VGCV, która może prowadzić do jego zaprzestania u co najmniej 10% pacjentów.

Postępowanie podczas leczenia procesu odrzucania

Leczenie procesu odrzucania przeciwciałami antylimfocytarnymi jest wskazaniem do włączenia profilaktyki lub leczenia wyprzedzającego przez 1-3 miesiące. Również u chorych wysokiego ryzyka można rozważyć takie postępowanie przy leczeniu dużymi dawkami glikokortykosteroidów.

Późna infekcja CMV

W związku z powszechnie stosowaną profilaktyką anty-CMV pojawił się nowy problem kliniczno-terapeutyczny pod postacią późnej infekcji CMV, która rozwija się po zaprzestaniu leczenia przeciwwirusowego (zazwyczaj w czasie pierwszego roku po przeszczepieniu). Cechuje się nietypowym przebiegiem klinicznym często bez gorączki czy leukopenii, częściej występuje jako postać narządowa. Około 17-37% biorców rozwija późną infekcję średnio 5 miesięcy po transplantacji, największą częstość obserwuje się w grupie D+/B-, 50% biorców prezentuje zakażenia CMV a 35% chorobę CMV. Jako czynniki ryzyka późniejszej infekcji CMV wymienia się status D+/B-, intensywną immunosupresję, proces ostrego odrzucania, hipogammaglobulinemię (IgG < 400 mg/dL), opóźnione lub nieadekwatne powstawanie CMV swoistych limfocytów T odpowiedzi immunologicznej, współzakażenie HHV6 lub HHV7, oporność na gancyklowir. Zapobieganie późniejszej infekcji CMV może polegać na przedłużeniu profilaktyki lub monitorowaniu wirerii i leczeniu wyprzedzającym. Rozważa się także monitorowanie immunologiczne.

8. Monitorowanie immunologiczne

W ostatnim okresie co raz większą uwagę zwraca się na znaczenie monitorowania immunologicznego. Ocena CMV-specyficznej odpowiedzi T-komórkowej za pomocą testów immunologicznych pozwala na indywidualizację leczenia i profilaktyki CMV, ocenę ryzyka późnej infekcji CMV lub

nawrotu replikacji. Okazuje się, że nawet biorcy seropozytywni przed transplantacją mogą nie prezentować adekwatnej CMV specyficznej odpowiedzi komórkowej. Stosowana profilaktyka uniwersalna anty-CMV hamuje replikację wirusa i uniemożliwia kontakt komórek T z antygenami wirusa co jest przyczyną nie wytworzenia swoistej odpowiedzi i sprzyja później infekcji CMV. W efekcie wczesnego podania leku przeciwwirusowego dochodzi do zahamowania tak ekspresji CMV, jak i prezentacji antygenów wirusa komórkom układu immunologicznego biorcy. Ostatecznie zahamowana zostaje nie tylko odpowiedź humoralna ale też komórkowa z udziałem CMV- specyficznych limfocytów T odgrywających kluczową, protekcyjną rolę w odpowiedzi na chorobę CMV spowodowaną pierwotnym zakażeniem. Ocena odpowiedzi T-komórkowej CMV specyficznej polega na zastosowaniu testów wykrywających obecność cytokin po stymulacji antygenami wirusa. Komercyjnym testem dopuszczonym do stosowania w Unii Europejskiej jest Quantiferon-CMV (ELISA), oceniający ilościowe uwalnianie INF- γ przez limfocyty CD8+ po stymulacji antygenami CMV. Inne metody wykorzystują do oznaczania aktywności cytokin cytometrię przepływową lub ELISPOT.

Monitorowanie immunologiczne może być wykorzystane w różnych sytuacjach klinicznych:

- U biorców CMV D+/B- otrzymujących profilaktykę uniwersalną, jeśli w momencie jej zakończenia test jest negatywny należy profilaktykę przedłużyć. W przypadku testu pozytywnego leczenie profilaktyczne może być zakończone. Test należy wykonywać raz w miesiącu od zakończenia profilaktyki do roku po transplantacji.
- U biorców CMV B+ z dodatkowymi czynnikami ryzyka (indukcja ATG, przeszczep płuca) w przypadku terapii wyprzedzającej monitorowanie immunologiczne jest wskazane raz w miesiącu przez pierwszy rok po transplantacji a w sytuacji profilaktyki od jej zakończenia do roku po przeszczepieniu. W przypadku braku swoistej CMV odpowiedzi komórkowej należy kontynuować profilaktykę, jeśli natomiast test wypadła dodatnio profilaktykę można zakończyć, pacjent nie wymaga monitorowania.
- U biorców po przebytych leczeniu procesu ostrego odrzucania monitorowanie wskazane jest w raz w miesiącu przez 3 miesiące. Jeśli test jest ujemny należy kontynuować profilaktykę lub ściśle monitorować biorcę. Wytworzenie odpowiedzi komórkowej pozwala na zaprzestanie profilaktyki.
- U biorców leczonych z powodu choroby CMV monitorowanie immunologiczne jest zalecane w momencie zakończenia terapii i przez kolejne 3 miesiące. Pozytywny test wskazuje na małe ryzyko nawrotu, negatywny jest wskazaniem do przedłużenia profilaktyki.
- U biorców ze stwierdzoną niską wiremią monitorowanie immunologiczne można wykonywać co tydzień przez 3 tygodnie. Jeśli test jest cały czas negatywny należy włączyć leczenie przeciwwirusowe, jeśli pozytywny zaleca się kontynuowanie monitorowania.

9. Efekty pośrednie CMV

Wirusowi CMV przypisuje się szereg pośrednich efektów mających niekorzystny wpływ na przeżycie biorców i przeszczepów. Zjawiska te są związane z asymptotycznym zakażeniem, przy niskiej wiremii CMV. Często ograniczone miejscowe zakażenie z niskim poziomem replikacji wirusa jest przyczyną przewlekłego stanu zapalnego.

Do efektów pośrednich zakażenia CMV zaliczane są:

- Ostre odrzucanie przeszczepu
- Przewlekłe uszkodzenie przeszczepu
 - *Chronic lung allograft dysfunction (CLAD)* u biorców płuca
 - Waskulopatia przeszczepionego serca
 - Włóknienie cewkowo-śródmiąższowe nerki przeszczepionej
 - *Vanishing bile duct syndrome* u biorców wątroby
- Zakażenia oportunistyczne i inne
 - Grzybicze
 - Bakteryjne
 - Nawrót HCV w przeszczepionej wątrobie
 - Wirusowe- Herpes (HHV 6, HHV7)
 - PTLD związane z EBV
- Cukrzyca potransplantacyjna
- Zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe
- Mikroangiopatia zakrzepowa
- Starzenie się układu immunologicznego

Proces ostrego odrzucania

Proces ostrego odrzucania przeszczepu jest reakcją immunologiczno-zapalną, którą może wywołać lub nasilić CMV poprzez szereg mechanizmów. W infekcji CMV obserwuje się zwiększenie ekspresji MHC klasy II na komórkach śródbłonna i większości komórek cewkowych przeszczepionej nerki. CMV u biorców przeszczepu jest związane ze zwiększeniem ekspresji molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 oraz TGFβ i PDGF. Zakażenie CMV wpływa również na istotne zwiększenie produkcji TNFα, IFNγ, oraz m.in. IL-1, IL-6, IL-10, IL-8, IFNβ, TGFβ, MCP-1. Uszkodzenie komórek śródbłonna spowodowane infekcją CMV stymuluje odpowiedź komórkową: migrację, przyleganie leukocytów, monocytów, wzrost ekspresji antygenów zgodności tkankowej na komórkach endotelium. Zakażenie CMV indukuje wzrost liczby przeciwciał przeciw komórkom śródbłonna co sprzyja także odpowiedzi humoralnej. Wielu badaczy wykazało, że CMV jest niezależnym czynnikiem wystąpienia procesu ostrego odrzucania przeszczepu, a stosowana profilaktyka istotnie zmniejsza to ryzyko, nawet o 50%.

Przewlekła dysfunkcja przeszczepu

CMV zakaża śródbłónki i komórki mięśni gładkich naczyń wywołując przewlekłe zapalenie; CMV nasila proliferację i migrację komórek mięśni gładkich w błonie wewnętrznej ściany naczyń co prowadzi do arteriosklerozy naczyń przeszczepu. Wirusowi CMV przypisuje się rolę w patogenezie przewlekłej dysfunkcji przeszczepionych narządów: przewlekła nefropatia przeszczepu (20-30%), zespół zanikania kanalików żółciowych po transplantacji wątroby (5-10%), zapalenie przeszczepionej trzustki, waskulopatia przeszczepu serca (40-50%), bronchiolitis obliterans u biorców płuca (50-60%). Helantera i wsp. wykazali, że chorzy z utrzymującym się zakażeniem CMV potwierdzonym w tance nerki przeszczepionej mieli wyraźnie krótsze przeżycie i gorszą czynność przeszczepionej nerki zarówno po roku jak i po 2 latach po transplantacji w porównaniu z biorcami bez zakażenia. CMV okazał się jedynym czynnikiem istotnie wpływającym na zmniejszenie GFR w przeszczepionej nerce. Reischig i wsp. stwierdził w prospektywnej obserwacji biorców nerki otrzymujących profilaktykę anty-CMV przez 3 miesiące występowanie wirerii u 41%. Wyniki protokolarnej biopsji wykonanej po 3 miesiącach po transplantacji wykazały, że wiremia CMV nie jest czynnikiem ryzyka wystąpienia procesu subklinicznego odrzucania przeszczepu natomiast wykazano związek rozwoju włóknienia śródmiąższowego i zniku cewek (IF/TA) z wielkością replikacji CMV.

Zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS) u biorców nerki

Wirus uszkadzając śródbłónki naczyńniowe może u biorców nerki być przyczyną mikroangiopatii zakrzepowej, która najczęściej przejawia się jedynie pogorszeniem czynności przeszczepu ale w nasilonych postaciach może przebiegać jako objawowy zespół hemolityczno-mocznicowy.

Pogłębienie stanu niedoboru odporności

Upośledzenie mechanizmów obronnych gospodarza przez CMV, zwłaszcza mechanizmów komórkowych (limfocyty T, komórki NK) i funkcji makrofagów, prowadzi do pogłębienia stanu immunosupresji oraz rozwoju infekcji oportunistycznych: wirusowych, bakteryjnych i grzybiczych. Wykazano, że profilaktyka CMV nie tylko wpływa na zmniejszenie liczby zakażeń wirusowych (redukcja o 73%) ale również bakteryjnych (35%), grzybiczych, w tym *Pneumocystis jiroveci* (69%) w porównaniu do grupy nie otrzymującej leczenia. Zakażenie CMV ma także związek z aktywacją innych wirusów z rodziny *Herpesviridae* takich jak EBV, HHV-6 czy HSV. Opisano również związek pomiędzy zakażeniem CMV i infekcją *Mycobacterium tuberculosis*. U biorców wątroby zakażonych HCV stwierdzono istotnie negatywny wpływ zakażenia CMV na przeżycie pacjentów i przeszczepu (czterokrotny wzrost śmiertelności). W tej grupie biorców zakażenie CMV jest czynnikiem ryzyka nawrotu wirusowego zapalenia wątroby typu C po transplantacji. Dotychczasowe badania nie wskazują na związek zakażenia CMV z rozwojem nefropatii BK.

Cukrzyca potransplantacyjna (PTDM)

Cukrzyca potransplantacyjna (PTDM) występuje *de novo* z częstością około 20%.

PTDM stanowi jeden z istotnych czynników ryzyka rozwoju powikłań ze strony układu krążenia i związanego z tym wzrostu śmiertelności u chorych po zabiegu transplantacji, zwiększa również ryzyko pogorszenia czynności i utraty przeszczepionego narządu. Możliwe mechanizmy, uszkodzenia komórek beta trzustki to: zakażenie komórek beta i replikacja w ich obrębie co prowadzi do wystąpienia efektu cytopatycznego i indukuje apoptozę komórek, aktywacja komórkowa (NK, monocyty, makrofagi) zakażonych wirusem komórek beta. Aktywacja reakcji zapalnej i reakcji immunologicznej wywołanej zakażeniem CMV u biorców przeszczepu może również prowadzić do destrukcji komórek beta. Badania Hjelmesaeth i wsp. wykazały, że częstość występowania cukrzycy potransplantacyjnej jest czterokrotnie większa u biorców, u których potwierdzono bezobjawowe zakażenie CMV, w porównaniu do biorców bez infekcji. W grupie pacjentów z bezobjawowym zakażeniem CMV obserwowano zmniejszenie sekrecji insuliny. Opublikowana przez Einollahi i wsp. w 2014 roku metaanaliza 7 badań klinicznych wykazała, że zakażenie CMV dwukrotnie zwiększa ryzyko rozwoju PTDM.

Związek z onkogennością

Wirusy indukują transformację nowotworową komórek poprzez aktywację odpowiedzi immunologicznej gospodarza w wyniku latentnego zakażenia, które zaburza prawidłową kontrolę cyklu komórkowego, procesy angiogenezy i apoptozy. W badaniach *in vitro* materiału genetycznego CMV udowodniono obecność regionów odpowiedzialnych m.in. za hamowanie aktywacji anty-onkogenu p53. Obecność materiału genetycznego wirusa oraz ekspresję genów wirusa potwierdzono we wszystkich badanych preparatach glejaków o niskim i wysokim stopniu złośliwości sugerując udział zakażenia CMV w ich rozwoju. Zakażenie CMV może również wpływać na aktywację innych onkogennych wirusów takich jak wirus Polyoma JC i poprzez działanie synergistyczne przyspieszać proces onkogenezy. Za rozwój potransplantacyjnej choroby limfoproliferacyjnej (PTLD) odpowiedzialne jest zakażenie wirusem Epsteina-Barr (EBV). Udowodniono, że zakażenie CMV zwiększa 7-10 razy częstość PTLD związanej z zakażeniem EBV. Profilaktyczne stosowanie gancyklowiru u biorców nerki redukowało o 66% występowanie PTLD w porównaniu z grupą chorych nieotrzymujących leczenia przeciwwirusowego. Nie stwierdza się jednak bezpośredniego związku zakażenia CMV z rozwojem konkretnego nowotworu po transplantacji. Opublikowane dane rejestru transplantacyjnego Wielkiej Brytanii obejmujące biorców nerki, wątroby, płuca, serca z okresu 1987-2007 o znanym statusie serologicznym CMV w dniu transplantacji pokazują, że zakażenie CMV nie zwiększa ryzyka rozwoju nowotworów w 10-cio letniej obserwacji.

Ryzyko przyspieszonej miażdżycy i powikłania sercowo-naczyniowe.

Choroby układu krążenia są najczęstszą przyczyną zgonów biorców przeszczepów. Miażdżycą jest przewlekłym procesem zapalnym, w którym biorą udział m.in. zakażenia, w tym wirusowe. Przeprowadzona przez Kalil i wsp. metaanaliza danych 2398 biorców alloprzeszczepu, wykazała istotny związek pomiędzy seropozytywnością CMV i zgonem z przyczyn sercowo-naczyniowych. Sagedal i wsp. stwierdzili, że zarówno bezobjawowe zakażenie wirusem, jak i choroba CMV były niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu biorcy nerki z funkcjonującym przeszczepem w okresie 100 dni po zabiegu transplantacji nerki. U biorców serca wykazano korzystny efekt profilaktyki, gancyklowir w porównaniu z placebo zmniejszał częstość występowania choroby niedokrwiennej serca (38% vs 55%), również stłumienie subklinicznej replikacji zmniejszało ryzyko odrzucania przeszczepu serca i zwalniało progresję waskulopatii. Desai i wsp. w 10-cio letniej obserwacji biorców nerki, wątroby, serca, płuca stwierdził wyższą śmiertelność sercowo-naczyniową u pacjentów z ekspozycją na CMV w porównaniu z grupą dawca seronegatywny/biorca seronegatywny. Opelz i wsp. w oparciu o dane CTS (61927 biorców z okresu 1990-2012) wykazał korzystny wpływ profilaktyki anty-CMV na redukcję śmiertelności sercowo-naczyniowej w grupie biorców wysokiego ryzyka (D+/B-) w wieku powyżej 40 roku życia.

Przeżywalność biorców i przeszczepów

Opublikowane dane rejestru transplantacyjnego Wielkiej Brytanii obejmujące biorców nerki, wątroby, płuca, serca z okresu 1987-2007 o znanym statusie serologicznym CMV w dniu transplantacji pokazują istotnie lepsze 10-letnie przeżycie pacjentów nie poddanych ekspozycji CMV (D-/B-) w porównaniu z biorcami zakażonymi CMV (73,6% vs 65,3%). W grupie wysokiego ryzyka (D+/R-) obserwowano wyższą śmiertelność o 14% biorców nerki, o 13% biorców wątroby, o 34% biorców serca i o 35% biorców płuca w porównaniu z grupą D-/R-. Autorzy w przeprowadzonej obserwacji nie uwzględnili danych dotyczących profilaktyki. Opelz i wsp. w oparciu o dane CTS (61927 biorców z okresu 1990-2012) stwierdził korzystny wpływ profilaktyki anty-CMV na 5-cio letnie przeżycie pacjenta i przeszczepu nerki tylko w grupie wysokiego ryzyka D+/B-.

Podsumowując należy podkreślić, że profilaktyka i leczenie zakażenia CMV istotnie zmniejszyły chorobowość i śmiertelność w przebiegu infekcji CMV u biorców przeszczepów narządowych. Doniesienia literaturowe potwierdzają także korzystny wpływ profilaktyki CMV na efekty pośrednie, jednak pełniejsza ocena skuteczności w zapobieganiu efektom pośrednim zakażenia CMV wymaga dalszych badań i odległych obserwacji.

Piśmiennictwo

1. Andrassy J, Hoffmann VS, Rentsch M, Stangl M, Habicht A, Meiser B, Fischereder M, Jauch KW, Guba M. Is cytomegalovirus prophylaxis dispensable in patients receiving an mTOR inhibitor-based immunosuppression? a systematic review and meta-analysis. *Transplantation*. 2012 Dec 27;94(12):1208-17.
2. Arthurs S.K., Eid A.J., Pedersen R.A. i wsp.: Delayed onset primary cytomegalovirus disease and the risk of allograft failure and mortality after kidney transplantation. *CID* 2008, 46, 840-846.
3. Asberg A., Humar A., Jardinne G. et al. : Long-term outcomes of CMV disease treatment with valgancyclovir versus iv gancyclovir in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009, 9, 1205-1213.
4. Asberg A, Humar A, Rollag H, Jardine AG, Mouas H, Pescovitz MD, Sgarabotto D, Tuncer M, Noronha IL, Hartmann A; on behalf of the VICTOR Study Group.: Oral valgancyclovir is noninferior to intravenous gancyclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2007, 7, 2106-13.
5. Åsberg A, Bjerre A, Neely M. New algorithm for valgancyclovir dosing in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2014 Feb;18(1):103-11.
6. Avery RK, Alain S, Alexander BD, Blumberg EA, Chemaly RF, Cordonnier C, Duarte RF, Florescu DF, Kamar N, Kumar D, Maertens J, Marty FM, Papanicolaou GA, Silveira FP, Witzke O, Wu J, Sundberg AK, Fournier M; 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.
7. Baron C., Forconi C. and Lebranchou Y.: Revisting the effects of CMV on long-term transplant outcome. *Curr Opinion org Transplant* 2010, 15, 492-498.
8. Blyth D, Lee I, Sims KD, Gasink LB, Barton TD, Van Deerlin VM, Pfeifferberger P, Blumberg EA. Risk factors and clinical outcomes of cytomegalovirus disease occurring more than one year post solid organ transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2012 Apr;14(2):149-55.
9. Bonaros N., Mayer B., Schachner T. i wsp.: CMV-hyperimmune globulin for preventing cytomegalovirus infection and disease in solid organ transplant recipients: a meta-analysis. *Clinical Transplantation* 2008, 22, 89-97.
10. Cantisán S, Rodelo-Haad C, Páez-Vega A, Nieto A, Vaquero JM, Poyato A, Montejo M, Fariñas MC, Rivero A, Solana R, Martín-Malo A, Torre-Cisneros J. Factors related to the development of CMV-specific CD8+ T cell response in CMV-seropositive solid organ transplant candidates. *Am J Transplant*. 2015 Mar;15(3):715-22.

11. Chemaly RF, Chou S, Einsele H, Griffiths P, Avery R, Razonable RR, Mullane KM, Kotton C, Lundgren J, Komatsu TE, Lischka P, Josephson F, Douglas CM, Umeh O, Miller V, Ljungman P; Resistant Definitions Working Group of the Cytomegalovirus Drug Development Forum. Definitions of Resistant and Refractory Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Recipients for Use in Clinical Trials. *Clin Infect Dis.* 2019 Apr 8;68(8):1420-1426.
12. Demirhan S, Munoz FM, Valencia Deray KG, Bocchini CE, Danziger-Isakov L, et al. Body surface area compared to body weight dosing of valganciclovir is associated with increased toxicity in pediatric solid organ transplantation recipients. *Am J Transplant.* 2023;23(12):1961-1971.
13. Desai R, Collett D, Watson CJ, Johnson PJ, Moss P, Neuberger J. Impact of Cytomegalovirus on Long-term Mortality and Cancer Risk After Organ Transplantation. *Transplantation.* 2015 Sep;99(9):1989-94.
14. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clin Infect Dis.* 2012 Dec;55(12):1678-89.
15. Einollahi B, Motalebi M, Salesi M, Ebrahimi M, Taghipour M. The impact of cytomegalovirus infection on new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation: a review on current findings. *J Nephropathol.* 2014 Oct;3(4):139-48.
16. Emery V.: Facting the facts; The indirect effects of Cytomegalovirus. *Transplantation* 2007, 84, s7-s11.
17. Emery VC, Asher K, Sanjuan Cde J. Importance of the cytomegalovirus seropositive recipient as a contributor to disease burden after solid organ transplantation. *J Clin Virol.* 2012 Jun;54(2):125-9.
18. Fehr T, Cippà PE, Mueller NJ. Cytomegalovirus post kidney transplantation: prophylaxis versus pre-emptive therapy? *Transpl Int.* 2015 Jul 3.
19. Fernández-Ruiz M, Arias M, Campistol JM, Navarro D, Gómez-Huertas E, Gómez-Márquez G, Díaz JM, Hernández D, Bernal-Blanco G, Cofan F, Jimeno L, Franco-Esteve A, González E, Moreso FJ, Gómez-Alamillo C, Mendiluce A, Luna-Huerta E, Aguado JM; OPERA Study Group. Cytomegalovirus prevention strategies in seropositive kidney transplant recipients: an insight into current clinical practice. *Transpl Int.* 2015 Sep;28(9):1042-54.
20. Fishman J., Emery V., Pascual M. i wsp.: Cytomegalovirus in transplantation-challenging the status quo. *Clin Transplant* 2007, 21, 149-158.
21. 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 Mar;58(6):785-803.
22. Gracia-Ahufinger I, Gutiérrez-Aroca J, Cordero E, Vidal E, Cantisán S, del Castillo D, Martín-Gandul C, Rivero A, Torre-Cisneros J. Use of high-dose

- ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus replication in solid organ transplant patients with ganciclovir resistance-inducing mutations. *Transplantation*. 2013 Apr 27;95(8):1015-20.
23. Grossi PA, Kamar N, Saliba F, Baldanti F, Aguado JM, Gottlieb J, et al. Cytomegalovirus management in solid organ transplant recipients: a pre-COVID-19 survey from the working group of the European Society for organ transplantation. *Transpl Int Society for organ transplantation*. *Transpl Int*. 2022;35:10332.
 24. Harvala H, Stewart C, Muller K, Burns S, Marson L, MacGilchrist A, Johannessen I. High risk of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation despite prophylactic therapy. *J Med Virol*. 2013 May;85(5):893-8.
 25. Helanterä I et al. Persistent cytomegalovirus infection in kidney allografts is associated with inferior graft function and survival. *Transpl Int*, 2006, 9, 893-900.
 26. Helanterä I, Schachtner T, Hinrichs C, Salmela K, Kyllönen L, Koskinen P, Lautenschlager I, Reinke P. Current characteristics and outcome of cytomegalovirus infections after kidney transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2014 Aug;16(4):568-77.
 27. Hjelmsaeth J., Muller F., Jenssen T. et al: Is there a link between cytomegalovirus infection and new-onset posttransplantation diabetes mellitus? Potential mechanisms of virus induced β cell damage. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2005, 20, 2311.
 28. Hosseini-Moghaddam SM, Rotstein C, Husain S. Effects of the intensity of immunosuppressive therapy on outcome of treatment for CMV disease in organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011 Feb;11(2):407.
 29. Humar A., Lebranchu Y., Vincenti F. et al.: The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2010, 10: 1-10.
 30. Jamal AJ, Husain S, Li Y, Famure O, Kim SJ. Risk factors for late-onset cytomegalovirus infection or disease in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2014 Mar 15;97(5):569-75.
 31. Johansson I, Mårtensson G, Nyström U, Nasic S, Andersson R. Lower incidence of CMV infection and acute rejections with valganciclovir prophylaxis in lung transplant recipients. *BMC Infect Dis*. 2013 Dec 10;13:582.
 32. Kalil AC, Florescu MC, Grant W, Miles C, Morris M, Stevens RB, Langnas AN, Florescu DF. Risk of serious opportunistic infections after solid organ transplantation: interleukin-2 receptor antagonists versus polyclonal antibodies. A meta-analysis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014 Jul;12(7):881-96.
 33. Kotton C.N., Kumar D., Caliendo A.M. et al.: International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010, 89(7): 779-795.

34. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, Humar ;Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2013 Aug 27;96(4):333-60.
35. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):900–31.
36. Kotton CN, Kamar N. New Insights on CMV Management in Solid Organ Transplant Patients: Prevention, Treatment, and Management of Resistant/Refractory Disease. *Infect Dis Ther*. 2023 Feb;12(2):333-342.
37. Kotton CN, Torre-Cisneros J; International CMV Symposium Faculty; Aguado JM, Alain S, Baldanti F, Baumann G, Boeken U, de la Calle M, Carbone J, Ciceri F, Comoli P, Couzi L, Danziger-Isakov L, Fernández-Ruiz M, Girmenia C, Grossi PA, Hirsch HH, Humar A, Kamar N, Ljungman P, Malagola M, Mira E, Mueller N, Sester M, Teng CJ, Torre-isneros J, Ussetti P, Westall G, Wolf D, Zamora M. Cytomegalovirus in the transplant setting: Where are we now and what happens next? A report from the International CMV Symposium 2021. *Transpl Infect Dis*. 2022 Dec;24(6):e13977.
38. Kotton CN, Kamar N. New Insights on CMV Management in Solid Organ Transplant Patients: Prevention, Treatment, and Management of Resistant/Refractory Disease. *Infect Dis Ther*. 2023 Feb;12(2):333-342.
39. Kumar L, Murray-Krezan C, Singh N, Brennan DC, Rakita RM, Dasgupta S, Fisher CE, Limaye AP. A Systematic Review and Meta-analysis of Optimized CMV Preemptive Therapy and Antiviral Prophylaxis for CMV Disease Prevention in CMV High-Risk (D+R-) Kidney Transplant Recipients. *Transplant Direct*. 2023 Jul 12;9(8):e1514.
40. Limaye AP, Babu TM, Boeckh M. Progress and Challenges in the Prevention, Diagnosis, and Management of Cytomegalovirus Infection in Transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2020 Oct 28;34(1).
41. Limaye AP, Budde K, Humar A, Vincenti F, Kuypers DRJ, Carroll RP, Stauffer N, Murata Y, Strizki JM, Teal VL, Gilbert CL, Haber BA. 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.
42. L'Huillier AG, Ferreira VH, Ku T, Bahinskaya I, Kumar D, Humar A. Improving our mechanistic understanding of the indirect effects of CMV infection in transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019;19(9):2495-2504.

43. Manuel O, Husain S, Kumar D, Zayas C, Mawhorter S, Levi ME, Kalpoe J, Lisboa L, Ely L, Kaul DR, Schwartz BS, Morris MI, Ison MG, Yen-Lieberman B, Sebastian A, Assi M, Humar A. 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 Mar;56(6):817-24.
44. Martín-Gandul C, Pérez-Romero P, Blanco-Lobo P, Benmarzouk-Hidalgo OJ, Sánchez M, Gentil MA, Bernal C, Sobrino JM, Rodríguez-Hernández MJ, Cordero E; Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Viral load, CMV-specific T-cell immune response and cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients at higher risk for cytomegalovirus infection during preemptive therapy. *Transpl Int.* 2014 Oct;27(10):1060-8.
45. Mumtaz K, Faisal N, Husain S, Morillo A, Renner EL, Shah PS. Universal prophylaxis or preemptive strategy for cytomegalovirus disease after liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant.* 2015 Feb;15(2):472-81.
46. Opelz G., Dohler B. and Ruhenstroth A.: Cytomegalovirus prophylaxis and graft outcome in solid organ transplantation; a Collaborative Transplant Study Report. *Am J Transplant* 2004, 4, 928-936. Hosts, CID 2001, 32, 596-603.
47. Opelz G, Döhler B. Reduced rate of cardiovascular death after cytomegalovirus prophylaxis in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2015 Jun;99(6):1197-202.
48. Pappo A, Peled O, Berkovitch M, Bilavsky E, Rom E, et al. Efficacy and Safety of a Weight-based Dosing Regimen of Valganciclovir for Cytomegalovirus Prophylaxis in Pediatric Solid-organ Transplant Recipients. *Transplantation* 2019;103(8):1730-1735.
49. Pangonis S, Paulsen G, Andersen H, Flores F, Miethke et al. Evaluation of a change in cytomegalovirus prevention strategy following pediatric solid organ transplantation *Transpl Infect Dis.* 2020 ; 22(2):e13232.
50. Razonable RR, Inoue N, Pinninti SG, et al. Clinical diagnostic testing for human cytomegalovirus infections. *J Infect Dis.* 2020;221(Suppl 1):S74-S85.
51. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients- Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019 Sep;33(9):e13512
52. Reischig T, Jindra P., Hes O. i wsp.: Effect of cytomegalovirus viremia on subclinical rejection or interstitial fibrosis and tubular atrophy in protocol biopsy at 3 months in renal allograft recipients managed by preemptive therapy or antiviral prophylaxis. *Transplantation* 2009, 87, 436-444.

53. Roman A, Manito N, Campistol JM, Cuervas-Mons V, Almenar L, Arias M, Casafont F, del Castillo D, Crespo-Leiro MG, Delgado JF, Herrero JI, Jara P, Morales JM, Navarro M, Oppenheimer F, Prieto M, Pulpón LA, Rimola A, Serón D, Ussetti P; ATOS working group. The impact of the prevention strategies on the indirect effects of CMV infection in solid organ transplant recipients. *Transplant Rev (Orlando)*. 2014 Apr;28(2):84-91.
54. Rubin RH. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. *JAMA*. 1989;261(24):3607-9.
55. San-Juan R, Navarro D, García-Reyne A, Montejo M, Muñoz P, Carratala J, Len O, Fortun J, Muñoz-Cobo B, Gimenez E, Eworo A, Sabe N, Meije Y, Martín-Davila P, Andres A, Delgado J, Jimenez C, Amat P, Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Lumberras C, Aguado JM; REIPI Network. Effect of long-term prophylaxis in the development of cytomegalovirus-specific T-cell immunity in D+/R- solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2015 Oct;17(5):637-46.
56. Snydman DR, Limaye AP, Potena L, Zamora MR. Update and review: state-of-the-art management of cytomegalovirus infection and disease following thoracic organ transplantation. *Transplant Proc*. 2011 Apr;43(3 Suppl):S1-S17.
57. Stern M, Hirsch H, Cusini A, van Delden C, Manuel O, Meylan P, Boggian K, Mueller NJ, Dickenmann M; Members of Swiss Transplant Cohort Study. Cytomegalovirus serology and replication remain associated with solid organ graft rejection and graft loss in the era of prophylactic treatment. *Transplantation*. 2014 Nov 15;98(9):1013-8.
58. Stern A, Papanicolaou GA. CMV prevention and treatment in transplantation: what's new in 2019. *Curr Infect Dis Rep*. 2019;21(11): 45.
59. Tamzali Y, Pourcher V, Azoyan L, Ouali N, Barrou B, Conti F, Coutance G, Gay F, Tourret J, Boutolleau D. Factors Associated With Genotypic Resistance and Outcome Among Solid Organ Transplant Recipients With Refractory Cytomegalovirus Infection. *Transpl Int*. 2023 Jun 15;36:11295.
60. Weinberger S, Steininger C. Reliable quantification of Cytomegalovirus DNAemia in Letermovir treated patients. *Antiviral Res*. 2022 May;201:105299. West P., Schmiedeskamp M., Neeley H. i wsp.: Use of high-dose ganciclovir for a resistant cytomegalovirus infection due to UL97 mutation. *Transplant Infection Disease* 2008, 10, 129-132