

# Handläggning av BK-virus infektion – Bakgrundsdokumentation

Artiklar publicerade under rubriken Bakgrundsdokumentation är författarnas enskilda manuskript. Budskapet i dessa delas därför inte alltid av expertgruppen i sin helhet.

## **BK-virus infektion hos organtransplanterade patienter: Klinik och behandling**

*Britt-Marie Eriksson och Vanda Friman*

## **BK-virus infektion efter njurtransplantation: Aspekter på immunsuppressiv behandling**

*Lars Wennberg*

## **BK-virus infektion och hemorragisk cystit vid hematopoetisk stamcellstransplantation**

*Tina Dalianis*

## **Mikrobiologisk diagnostik av BK-virus infektion**

*Anna-Lena Hammarin*

## **Morfologisk diagnostik av BK-virus associerad nefropati**

*Johan Mölne*

# BK-virus infektion hos organtransplanterade patienter: Klinik och behandling

*Britt-Marie Eriksson och Vanda Friman*

## Bakgrund

BK virus (BKV) tillhör släktet polyomavirus och är en av 14 hittills beskrivna polyomavirus som infekterar människan. BKV identifierades 1971 när det isolerades från urinen hos en njurtransplanterad patient. BKV kan indelas i 4 genotyper varav genotyp I har den högsta prevalensen i populationen.

BKV förekommer i hela världen och kan infektera redan i barneåldern. Man beräknar att vid 10-års ålder har ca 70% antikroppar mot virus och i den vuxna befolkningen har mer än 80% antikroppar som tecken på genomgången infektion (1). Virus överförs sannolikt som person till person smitta via luftvägar eller fekalt-oralt (2-3). BKV kan också överföras via det transplanterade organet, vanligtvis en transplanterad njure.

Efter den primära infektionen, som oftast är asymtomatisk, kvarstannar virus i latent form i framför allt epitelceller i njurtubuli och uroteliale celler (4-5). Man har funnit BKV DNA som tecken på latent infektion i leukocyter, lymfkörtlar och i hjärnan (6-7). Spontan reaktivering och utsöndring av BKV i urin har observerats hos 5–10% av immunkompetenta individer (8) och hos 20–60% av immundefekta patienter där BKV kan ofta påvisas även i blod (9-10).

Hos njurtransplanterade patienter kan både primär och reaktiverad BKV-infektion ge upphov till BKV-associerad nefropati (BKVAN) som kan leda till graft-dysfunktion och slutligen till förlust av den transplanterade njuren (11). I sällsynta fall kan BKV orsaka andra manifestationer hos organtransplanterade patienter så som hemorragisk cystit, uretär stenosis, encefalit och retinit (11).

Man finner ofta BK-viruri och BK-viremi som tecken på virus reaktivering hos njurtransplanterade patienter. Viruri eller förekomst av Decoy-celler i urinen är de mest känsliga markörerna för BKV reaktivering. Viruri anges förekomma hos ca 30–40% av patienterna (10, 12-13). Viremi har rapporterats hos upp till 29% av njurtransplanterade med en "peak incidence" 3 till 6 månader efter transplantationen (10, 12-13).

Det har beskrivits att 5-10% av njurtransplanterade patienter utvecklar BKVAN, med högsta incidens 5-13 månader efter transplantation och att 95% uppkommer inom 2 år (10, 12-13). BK-viremi och BKVAN kan dock uppkomma även sent efter transplantationen och bör därför alltid övervägas vid njurtransplantationsdysfunktion.

Den stora variationen i förekomsten av viruri, viremi och BKVAN som rapporterats i olika studier beror sannolikt på skillnader i immun-suppressiv behandling, skillnad i monitorering och att olika PCR metoder använts (14).

BKVAN ger inga typiska kliniska symtom och patienterna är vanligen helt symtomfria. Man noterar ofta endast en kreatinin-stegring. Av den anledningen rekommenderas på de flesta njurtransplantationscentra regelbunden screening för BKV DNA med PCR i urin eller plasma/serum under de första 2 åren efter transplantationen. Patienter med BKVAN har kraftig viruri och betydande viremi. Man brukar ange 10 000 kopior/ml i serum/plasma som gräns när risken för BKVAN bedöms som mycket stor (12, 15-16). Man måste dock påpeka att även vid lägre virusnivåer finns det risk för utveckling av BKVAN vilket gör det nödvändigt att försöka sänka immunsuppressionen redan vid lägre virusnivåer (12)(15). Nivåerna av BKV i urin, serum/plasma och antal Decoy celler följer oftast varandra. Utan intervention, dvs sänkning av immunsuppression, kommer mer än 90 % av patienterna med BKVAN uppvisa försämrad njurfunktion med åtföljande graft-förlust hos ca hälften. BKVAN är ovanligt hos andra organtransplanterade patienter men har beskrivits (17). För att säkerställa diagnos BKVAN krävs det en njurbiopsi.

Graden av immunsuppression är den absolut viktigaste riskfaktorn för utveckling av BKVAN (18-19). Förutom immunsuppression har ett flertal andra faktorer knutna till både donator och recipient identifierats; tex BKV mismatch, dvs kombinationen BKV seropositiv donator och BKV seronegativ recipient (20-21). En pågående BK-viremi hos donatorn, hög ålder hos donatorn, manlig recipient och en hög grad av HLA mismatch är också möjliga riskfaktorer.

## Behandling av BK-virus infektion hos njurtransplanterade

Numera rekommenderas kvantitativ screening av BKV-DNA i serum eller plasma efter transplantation. Vid värden över  $10^3$ – $10^4$  kopior per mL förordas sänkning av immunsuppressiva läkemedel. För att förstärka effekten av denna åtgärd eller för att ha tillgång till en behandling då denna åtgärd ej haft tillräcklig effekt har man prövat antiviral terapi. Några olika läkemedel som visats ha effekt på BKV i cellstudier har testats i transplantationssammanhang men det

finns enbart ett fåtal randomiserade, kontrollerade studier. Här nedan följer en beskrivning av aktuella läkemedel och vilka studier som har gjorts.

### **Cidofovir**

Cidofovir är en monofosfat-nukleotidanalog av cytosin, som efter att ha fosforylerats till difosfat, kompetetivt byggs in i virus-DNA, inhiberar virus DNA-polymeras och förhindrar elongering av DNA-kedjan. Cidofovir har en bred aktivitet mot DNA-virus och har in vitro visats ha effekt på polyoma-, herpesgruppens-, papilloma- och poxvirus. Cidofovir är godkänt för behandling av retinit orsakad av cytomegalvirus hos immunsupprimerade i dosen 5 mg/kg/vecka intravenöst. Det har även prövats som behandling mot BKV men ännu har inga kontrollerade kliniska prövningar genomförts, utan de studier som finns publicerade består av fall- och fallserierapporter samt kohortstudier. Det faktum att cidofovir är njurtoxiskt har lett till att man vid behandling av njurtransplanterade har använt lägre doser, 0.25-1.0 mg/kg och vecka.

Två större studier finns; en med cidofovir som kompletterande behandling vid manifest BKVAN och en vid BKVAN eller höga virusnivåer och misstanke om BKVAN. Tjugosex av 41 njurtransplanterade patienter med BKVAN gavs cidofovir i lågdos (1 mg/kg/vecka) i upp till 10 veckor som komplement till reduktion av immunsuppression. Att själv vara villig att betala för läkemedlet utgjorde grundval för gruppering. De med cidofovirbehandling hade signifikant lägre graftförlust, 4/26 mot 11/15 ( $p < 0,001$ ) under en uppföljningstid av tre år. Övriga bakgrundsvariabler var lika mellan grupperna (22-23).

Kuten et al behandlade 75 njur- och njurpankreastransplanterade med BKVAN eller höga nivåer BKV med i median 13 doser cidofovir 1 mg/kg som laddningsdos och sedan 0.5 mg/kg varannan vecka i kombination med sänkning av immunsuppression. Incidens av och tid till "viral clearance" registrerades. 71 % av patienterna "clearade" virus inom median 4.2 månader. Patienter med tidig clearance (inom 6 månader) fick en 15 % sänkning av förväntad njurfunktion. Författarna konkluderade att deras data talar för att cidofovir kan ha en roll i behandlingen av BKV- infektion (24).

I en farmakokinetisk studie har det ifrågasatts om cidofovir överhuvudtaget har förutsättningar att ha effekt på BKV-infektion. Nio patienter med BK-viremi behandlades med cidofovir 0,24-0,62 mg/kg med och utan probenecid vid två tillfällen med en veckas mellanrum i en cross-over design. Toppnivåerna i plasma låg i genomsnitt på 1µg/mL, väsentligt under de EC50-värden som

uppmätts för BKV in vitro, 36 µg/mL. Koncentrationerna i njurtubuliceller var dock högre (25).

Baserat på dessa data kan man ej rekommendera cidofovir för behandling av BKV-infektion hos njurtransplanterade, även om det inte kan uteslutas att läkemedlet skulle kunna ha en positiv effekt.

### **Brincidofovir**

Brincidofovir är en prodrug, ett lipidkonjugat av cidofovir. Det kan ges oralt, doseras en-två gånger per vecka och är inte njurtoxiskt. In vitro har det visats ha bättre effekt mot BKV än cidofovir (11). I en CMV- profylaxstudie efter stamcellstransplantation gav det otillräcklig effekt, möjligtvis pga. felaktigt vald dos (26).

Brincidofovir har även funnits tillgängligt i ett program för behandling av svårt sjuka patienter med adenovirusinfektion. Användningen för BKV-infektion hos organtransplanterade begränsar sig till fallrapporter (27).

### **Kinoloner**

Kinoloner verkar genom hämning av bakteriellt DNA gyras (topoisomeras) men har också visats hämma BK-virus stora T-antigens helicaktivitet. I en retrospektiv studie på stamcellstransplanterade, varav en del fått kinolonprofylax, noterades att de som fått profylax utsöndrade lägre mängder BK-virus i urin (28). Dessa fynd har följts upp med in vitrostudier. I en studie kunde man se att tillförsel av ofloxa- och levofloxacin minskade mängden BK-virus i humana njurceller (29).

Kinolon har senare undersökts i två kliniska prospektiva kontrollerade studier med avseende på effekt mot BKV infektion. I en kanadensisk multicenterstudie med 150 njurtransplanterade patienter lottades hälften till att få levofloxacin 500 mg dagligen i tre månader med start fem dagar efter transplantation. Den andra hälften fick placebo. Ingen effekt sågs beträffande tid för BK-viruri vilket var primär end-point. Inte heller sågs effekt på BK-viremi, peak viral-load, rejektion eller patient- och graftöverlevnad (30).

Lee et al randomiserade 39 njurtransplanterade med BK-viremi till antingen levofloxacin 500 mg x 1 eller placebo i 30 dagar. Immunsuppressionen reducerades enligt lokala riktlinjer. BK-virus i plasma mättes var månad i tre månader och vid sex månader. Minskningen av viral load var lika stor i de båda grupperna efter en månad (55 vs 67 %), 3 månader (70.3 vs 69.1 %) och vid sex månader (82.1 vs 90.5 %). Man såg ej heller skillnad i serumkreatinin över tid. Fler kinolonresistenta bakterier påvisades i behandlingsgruppen (31).

En tredje studie var inte randomiserad men jämförelsen gjordes med 43 likartade historiska

kontroller som ej fått ciprofloxacin. Tjugonio recipienter som genomgått desensitisering inför HLA- och ABO-inkompatibel njurtransplantation fick som profylax 500 mg ciprofloxacin dagligen i tre månader. BK-viruri och viremi mättes 1,3, 6 och 12 månader efter transplantation. Andelen med BK-viruri, viremi och BKVAN skiljde sig ej mellan grupperna (32).

Här föreligger således data för att ej rekommendera behandling med kinoloner. Denna hållpunkt bekräftas i en nyligen publicerad review och metaanalys som omfattar åtta studier med kinolonprofylax mot BKV. Ingen skillnad sågs vad gäller frekvens av BK-viruri, viremi, BKVAN, försämrad graft-funktion eller infektion med kinolonresistenta bakterier (33).

### **Intravenöst immunglobulin (IVIG)**

Kommersiella immunglobuliner innehåller antikroppar mot alla huvudsakligen förekommande genotyper av polyomavirus BK (34). Sener et al behandlade 8 patienter med BKVAN med 2 g IVIG som tillägg till reducerad immunosuppression. Sju av dem hade alla fungerande graft efter i genomsnitt 15 månader, dock hade alla sänkt njurfunktion (35).

På ett annat center hade man som praxis att sänka immunosuppressionen och sätta in leflunomid vid BK-viremi vilket inträffade hos 53 av 280 (18,9 %) patienter. Viral clearance inträdde hos 23 av 53 inom 8 veckor. Trettio fick persisterande viremi och gavs IVIG. Tio av dem fick diagnosen BKVAN i kontrollbiopsi, övriga 20 fick diagnos presumptiv BKVAN. Efter 1 år var graft- och patientöverlevnad 97% respektive 100% för IVIG-gruppen (36). Denna okontrollerade studie visar alltså goda resultat.

I en rapport visades att BK-virusnivåer ökade i plasma och så småningom ledde till BKVAN efter att man givit hög-dos IVIG mot akut cellulär rejektion till en patient (37).

Man kan ännu inte dra några säkra slutsatser vad gäller behandling med IVIG av BKVAN.

### **Leflunomid**

Leflunomid är en hämmare av enzymet dihydroorotatdehydrogenas (DHODH) i pyrimidinsyntesen med antiproliferativa, anti-inflammatoriska och immunosuppressiva egenskaper. Leflunomid finns registrerat i Sverige för behandling av reumatoid artrit och det har även studerats som alternativ till mykofenolatmofetil i den immunhämmande behandlingen vid njurtransplantation. In vitro-studier har visat att leflunomid också har en direkt antiviral effekt på BK-virus (38).

Vid behandling av reumatoid artrit med leflunomid föreskrivs en laddningsdos om 100 mg dagligen i 3 dagar och därefter underhållsdos

om 10-20 mg dagligen. Vid behandling av BKVAN har man använt samma laddningsdos i 3-5 dagar och högre underhållsdos med upp till 60 mg dagligen. Man har i studier monitorerat koncentrationen av den aktiva metaboliten, terileflunomid eller A77 1726. Vilken koncentration som är effektiv vid behandling av BKV-infektion är inte säkert fastslaget men ofta har 50-100 µg/mL angivits som rekommenderad nivå. I en review-artikel har man dock vid en genomgång av alla koncentrationsstudier med terileflunomid dragit slutsatsen att i dagsläget kan rutinmässig koncentrationsmätning inte rekommenderas (39).

Det finns några större fall-serie studier av leflunomid som del i behandling av BKV-infektion hos njurtransplanterade. Josephson et al behandlade 26 patienter med BKVAN. Sex hade inte svarat på reduktion av immunosuppression, 13 fick det som del av den basala immunosuppressionen och ytterligare 7 fick det i kombination med reducerad immunosuppression och cidofovir (38). Tjugotvå av 26 patienter uppnådde stabila koncentrationer av A771726 med nivåer >40 µg/mL. Fyra patienter som inte svarade och så småningom förlorade sina graft hade alla nivåer under 35 µg/mL.

I en retrospektiv analys jämfördes 52 patienter som fått leflunomid med 24 patienter som behandlats med enbart reduktion av immunosuppressionen. Man fann ingen skillnad vad gäller viral clearance och man fann heller ingen relation mellan effekt och koncentration av läkemedlet. Det kan dock ha funnits en selektions-bias så att de patienter som fått leflunomid hade svårare infektion (40).

FK778, ett derivat av leflunomids aktiva metabolit har studerats i en öppen fas-2 studie. Fyrtiosex patienter randomiserades 2:1 att få FK778 eller standardbehandling som var reduktion av immunosuppression. Efter 6 månader sågs ingen skillnad mellan grupperna vad gäller graft survival, rejektion eller kreatinin-clearance. Andelen allvarliga biverkningar var större i FK778-gruppen (41).

I en review med analys av ett stort antal artiklar fann man ingen ytterligare effekt av leflunomid på BKV-infektion utöver den med minskad immunosuppression. Underlaget bedömdes dock inte vara av hög kvalitet (42).

Användning av leflunomid vid BK-virusinfektion förefaller ha varit relativt utbredd i klinisk praxis på olika transplantationscentra men brist på vetenskaplig dokumentation gör att det är svårt att ge en rekommendation.

**Referenser**

1. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol* 2006;577:19–45.
2. Bofill-Mas S, Pina S, Girones R. Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage. *Appl Environ Microbiol* 2000;66:238–45.
3. Goudsmit J, Dillen PW, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. *J Med Virol* 1982;10:91–9.
4. Chesters PM, Heritage J, McCance DJ. Persistence of DNA sequences of BK virus and JC virus in normal human tissues and in diseased tissues. *J Infect Dis* 1983;147:676–84.
5. Li R, Sharma BN, Linder S, Gutteberg TJ, Hirsch HH, Rinaldo CH. Characteristics of polyomavirus BK (BKPyV) infection in primary human urothelial cells. *Virology*. 2013;440:41–50.
6. Chatterjee M, Weyandt TB, Frisque RJ. Identification of archetype and rearranged forms of BK virus in leukocytes from healthy individuals. *J Med Virol*. 2000;60:353–62.
7. Vago L, Cinque P, Sala E, Nebuloni M, Caldarelli R, Racca S, et al. JCV-DNA and BKV-DNA in the CNS tissue and CSF of AIDS patients and normal subjects. Study of 41 cases and review of the literature. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*. 1996;12:139–46.
8. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, Buser A, Samaridis J, Stebler C, et al. Prevalence of Polyomavirus BK and JC Infection and Replication in 400 Healthy Blood Donors. *J Infect Dis*. 2009;199:837–46.
9. Razonable RR, Brown Ra, Humar A, Covington E, Alecock E, Paya C V. A longitudinal molecular surveillance study of human polyomavirus viremia in heart, kidney, liver, and pancreas transplant patients. *J Infect Dis*. 2005;192: 1349–54.
10. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A, et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: A prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013;13:136–45.
11. Rinaldo CH, Tylden GD, Sharma BN. The human polyomavirus BK (BKPyV): Virological background and clinical implications. *APMIS*. 2013; 121:728–45.
12. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2002;347:488–96.
13. Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, Framke T, Haller H, Schmitt C. Viral origin, clinical course, and renal outcomes in patients with BK virus infection after living-donor renal transplantation. *Transplantation*. 2016;100: 844–53.
14. Kuypers DR. Management of polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *Nature Reviews Nephrology*. 2012; 8:390–402.
15. Randhawa P, Ho A, Shapiro R, Vats A, Swalsky P, Finkelstein S, et al. Correlates of Quantitative Measurement of BK Polyomavirus (BKV) DNA with Clinical Course of BKV Infection in Renal Transplant Patients. *J Clin Microbiol*. 2004;42: 1176–80.
16. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: Interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005;79: 1277–86.
17. Limaye AP, Smith KD, Cook L, Groom DA, Hunt NC, Jerome KR, et al. Polyomavirus nephropathy in native kidneys of non-renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005;5:614–20.
18. Binet I, Nিকেleit V, Hirsch HH, Prince O, Dalquen P, Gudat F, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation*. 1999;67:918–22.
19. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant*. 2005;5:582–94.
20. Sood P, Senanayake S, Sujeet K, Medipalli R, Van-Why SK, Cronin DC, et al. Donor and recipient BKV-specific IgG antibody and posttransplantation BKV infection: A prospective single-center study. *Transplantation*. 2013;95:896–902.
21. Wunderink HF, van der Meijden E, van der Blij-de Brouwer CS, Mallat MJK, Haasnoot GW, van Zwet EW, et al. Pretransplantation donor-recipient pair seroreactivity against BK polyomavirus predicts viremia and nephropathy after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2017; 17:161–72.
22. Kuypers DR, Vandooren A-K, Lerut E, Evenepoel P, Claes K, Snoeck R, et al. Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005;5:1997–2004.

23. Kuypers DR, Bammens B, Claes K, Evenepoel P, Lerut E, Vanrenterghem Y. A single-centre study of adjuvant cidofovir therapy for BK virus interstitial nephritis (BKVIN) in renal allograft recipients. *J Antimicrob Chemother*; 2009;63:417-9.
24. Kuten SA, Patel SJ, Knight RJ, Gaber LW, DeVos JM, Gaber AO. Observations on the use of cidofovir for BK virus infection in renal transplantation. *Transpl Infect Dis* 2014;16:975-83.
25. Momper JD, Zhao Y, Shapiro R, Schonder KS, Gao Y, Randhawa PS, et al. Pharmacokinetics of low-dose cidofovir in kidney transplant recipients with BK virus infection. *Transpl Infect Dis* 2013;15:34-41.
26. Marty FM, Winston DJ, Rowley SD, Vance E, Papanicolaou GA, Mullane KM, et al. CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2013; 369:1227-36.
27. Reisman L, Habib S, McClure GB, Latiolais LS, Vanchiere JA. Treatment of BK virus-associated nephropathy with CMX001 after kidney transplantation in a young child. *Pediatr Transplant* 2014;18:E227-31.
28. Leung AYH, Chan MTL, Yuen K-Y, Cheng VCC, Chan K-H, Wong CLP, et al. Ciprofloxacin decreased polyoma BK virus load in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2005;40: 528-37.
29. Sharma BN, Li R, Bernhoff E, Gutteberg TJ, Rinaldo CH. Fluoroquinolones inhibit human polyomavirus BK (BKV) replication in primary human kidney cells. *Antiviral Res* 2011; 92:115-23.
30. Knoll GA, Humar A, Fergusson D, Johnston O, House AA, Kim SJ, et al. Levofloxacin for BK virus prophylaxis following kidney transplantation a randomized clinical trial. *JAMA* 2014;312:2106-14.
31. Lee BT, Gabardi S, Grafals M, Hofmann RM, Akalin E, Aljanabi A, et al. Efficacy of levofloxacin in the treatment of BK viremia: A multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9:583-9.
32. Lebreton M, Esposito L, Mengelle C, Del Bello A, Delarche A, Dörr G, et al. A 3-month course of ciprofloxacin does not prevent BK virus replication in heavily immunosuppressed kidney-transplant patients. *J Clin Virol* 2016;79:61-7.
33. Song TR, Rao ZS, Qiu Y, Liu JP, Huang ZL, Wang XD, et al. Fluoroquinolone prophylaxis in preventing BK polyomavirus infection after renal transplant: A systematic review and meta-analysis. *Kaohsiung J Med Sci* 2016;32:152-9.
34. Randhawa P, Pastrana D V, Zeng G, Huang Y, Shapiro R, Sood P, et al. Commercially available immunoglobulins contain virus neutralizing antibodies against all major genotypes of polyomavirus BK. *Am J Transplant*. 2015;15: 1014-20.
35. Sener A, House AA, Jevnikar AM, Boudville N, McAlister VC, Muirhead N, et al. Intravenous immunoglobulin as a treatment for BK virus associated nephropathy: One-year follow-up of renal allograft recipients. *Transplantation*. 2006;81:117-20.
36. Vu D, Shah T, Ansari J, Naraghi R, Min D. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of persistent BK viremia and BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2015;47:394-8.
37. Boonyapredeedee M, Knight K, Little D. Increased BK Viremia and progression to BK-virus nephropathy following high-dose intravenous immunoglobulin for acute cellular rejection. *Mil Med*. 2014;179:e699-702.
38. Josephson MA, Gillen D, Javaid B, Kadambi P, Meehan S, Foster P, et al. Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. *Transplantation*. 2006;81:704-10.
39. Ng JCY, Leung M, Wright AJ, Ensom MHH. Clinical pharmacokinetic monitoring of leflunomide in renal transplant recipients with BK virus reactivation: A review of the Literature. *Clinical Pharmacokinetics*. 2017; 56:1015-31.
40. Krisl JC, Taber DJ, Pilch N, Chavin K, Bratton C, Thomas B, et al. Leflunomide efficacy and pharmacodynamics for the treatment of BK viral infection. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7: 1003-9.
41. Guasch A, Roy-Chaudhury P, Woodle ES, Fitzsimmons W, Holman J, First MR. Assessment of efficacy and safety of FK778 in comparison with standard care in renal transplant recipients with untreated BK nephropathy. *Transplantation* 2010;90:891-7.
42. Johnston O, Jaswal D, Gill JS, Doucette S, Fergusson DA, Knoll GA. Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: A systematic review. *Transplantation*. 2010;89:1057-70

# BK-virus infektion efter njurtransplantation: Aspekter på immunsuppressiv behandling

Lars Wennberg

## Bakgrund

Efter en primär BK-virusinfektion, finns virus kvar latent i uroepiteliala celler (övergångsepitel) och tubulusepitel. Vid njurtransplantation, och som en konsekvens av den immunhämmande behandlingen samt allogen immunaktivering, kan infektionen reaktiveras [1-5]. Efter njurtransplantation ses BK-viremi (BKV DNA i serum/plasma) hos 10-15 % av recipienterna, och utan åtgärd uppkommer BK-virus associerad nefropati hos 2-10 % av patienterna [1-5]. BK-virus nefropati innebär en risk för njurtransplantatförlust och andelen graftförluster som orsakas av BK-virus har i olika rapporter uppgivits vara 5-10 % [1-5]. BK-viremi är vanligen en tidig komplikation och ses oftast under det första post-operativa året [1-5].

Incidensen av BK-virus infektion efter njurtransplantation påverkas av flera olika faktorer. Den viktigaste riskfaktorn är den immunsuppressiva behandlingen, där framför allt den sammantagna immunsuppressiva effekten men även typen och valet av preparat, är av betydelse [1-5]. Det finns idag inte någon bra metod att mäta den sammantagna immunsuppressiva nivån, denna får bedömas utifrån erfarenhet och det kliniska förloppet

Modern immunsuppression med tacrolimus och mykofenolat mofetil minskar risken för akut avstötning men samtidigt ökar risken för BK-virus infektion, särskilt vid höga nivåer av takrolimus och mykofenolsyra i blod. I studier har en takrolimuskoncentration >10 ng/mL och mykofenolat AUC >50 hr mg/L kunnat associeras med ökad incidens [1-5]. Jämfört med immunsuppression med takrolimus har behandling med ciklosporin visats ha en lägre incidens av BK-virus infektion, jämfört med mykofenolat mofetil ses en lägre incidens med azathioprin [1-5]. I kliniska studier av underhållsbehandling som inkluderar en mTOR-hämmare (ex. everolimus) har risken för post-operativa virala komplikationer, inklusive BK-virus infektion, varit lägre [6, 7]

Induktionsbehandling med anti-lymfocyt globulin (ALG) ökar risken för BK-infektion, däremot inte induktionsbehandling med basiliximab [1-5]. Patienter som behandlas med ALG eller hög-dos kortison för avstötning uppvisar också en ökad incidens av BK-virus infektion, i synnerhet vid upprepade behandlingar [1-5].

## Profylax och behandling

Den viktigaste förebyggande åtgärden är sannolikt att undvika alltför kraftig immunsuppression [1-5], detta kan dock i praktiken vara svårt uppnå och särskilt om det post-operativa förloppet nödvändiggör behandling av akut rejektion. Monitorering av läkemedelskoncentrationer är betydelsefullt men ger inte alltid en fullständig bild av den uppnådda biologiska effekten på immunförsvaret. Andra indikationer på över-immunsuppression kan vara annan virusinfektion (ex. CMV och EBV) eller svampinfektion.

Grundprincipen för den kliniska handläggningen av BK-infektioner, och det som rekommenderas i internationella riktlinjer, är monitorering av BKV DNA i serum/plasma för att möjliggöra tidig diagnostik och "pre-emptive" behandling vid viremi [1-5].

Det finns idag inte någon specifik behandling för BK-virus infektion [1-5]. Första åtgärden vid BK-viremi och/eller BKV-nefropati är att minska immunsuppressionen för att underlätta för patientens eget immunförsvaret att eradikera infektionen [1-5]. Olika strategier för detta har föreslagits och provats, men det finns inte någon stark evidens som talar för att en viss strategi är bättre än de andra [1-5].

Exempel på föreslagna strategier är:

- 1) Reducera dosen av takrolimus med 25-50 %. Olika målkoncentrationer för takrolimus har föreslagits, vanligast mellan 4 och 6 ng/mL.
- 2) Minska dosen av mykofenolat mofetil, oftast med 50 %.
- 3) Vid otillräcklig effekt på virusnivåerna i blod så minskas därefter takrolimus eller mykofenolat ytterligare och eventuellt sätts mykofenolat mofetil ut.

Om behandlingen istället innefattar ciklosporin A eller azathioprin så minskas doserna av dessa läkemedel på motsvarande sätt.

I flera, stora kliniska multicenterstudier av immunsuppressiva protokoll som inkluderar en mTOR-hämmare (everolimus, sirolimus) har man kunnat observera signifikant lägre incidens av virala komplikationer såsom CMV och BK [6, 7]. Att byta till en mTOR-hämmare är därför ytterligare en möjlighet vid BK-virus infektion

som samtidigt bidrar till adekvat immun-suppression. Exempelvis kan en mTOR-hämmare ersätta mykofenolat mofetil.

Som alltid då immunsuppressionen reduceras finns det en risk för att avstötning uppkommer, tät och noggrann uppföljning är därför nödvändig av såväl njurfunktion, läkemedelskoncentrationer och virusnivåer. Exakt hur uppföljningen skall ske vid behandling av BK-virus infektion är dock inte studerat [1-5] utan måste bestämmas lokalt och utifrån det aktuella kliniska förloppet.

Hur behandlingen skall genomföras och immunsuppressionen modifieras vid samtidig akut rejektion och BK-virus infektion är inte fastslaget [1-5], men sannolikt är det nödvändigt att på något sätt behandla rejektionen. Vid natalizumab-associerad PML kan tecken till inflammatorisk aktivering runt PML härdarna i hjärnan visualiseras med MR från omkring tre veckor efter start av plasmaferes, med nytillkommen kontrastladdning och tecken till ödem. Beroende på volymen av PML-afficerad hjärnvävnad kan denna inflammatoriska reaktion variera stort i svårighetsgrad. I allvarliga fall uppkommer en mycket kraftig inflammation med påföljande ödem som pga masseffekt kan vara direkt livshotande. Pulsukurer med metylprednisolon (1g per dag i tre dagar) alternativt betametason kontinuerligt (upp mot 16 mg per dag) kan användas för att dämpa den akuta inflammatoriska fasen och risken för ödembildning. Eftersom IRIS kan uppkomma plötsligt bör monitorering med MR göras med korta intervall (var 3-5:e dag). Svår IRIS leder till kraftig klinisk försämring med ökade fokala och generella neurologiska funktionsbortfall. Feber är vanligt och det föreligger risk för status epilepticus, vilket motiverar vård på enhet med adekvat vårdnivå (neurologisk övervakningsavdelning/intensivvård).

## Re-transplantation vid tidigare transplantatförlust orsakad av BK-virus nefropati

Tidigare graftförlust orsakad av BK-virus är inte något hinder för re-transplantation [1-5]. I internationella riktlinjer rekommenderas att patienten är BK-PCR negativ vid re-transplantationen, att patienten monitoreras post-operativt med BK-PCR och att onödigt kraftfull immunhämmande behandling, inklusive induktionsbehandling med ALG, om möjligt undviks [1-5]. Det är inte säkert av värde att avlägsna det gamla transplantatet [1-5].

## Referenser

1. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*, 2009. 9 Suppl 3: p. S1-155.
2. Ambalathingal GR, et al., BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies. *Clin Microbiol Rev* 2017; 30:503-528.
3. Johnston O, et al., Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: a systematic review. *Transplantation* 2010;89: 1057-70.
4. Sawinski D, Goral S. BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:209-17.
5. Sharma R, et al., BK virus in kidney transplant: current concepts, recent advances, and future directions. *Exp Clin Transplant* 2016;14: 377-84.
6. Bowman LJ, Brueckner AJ, Doligalski CT. The role of mTOR inhibitors in the management of viral infections: A review of current literature. *Transplantation* 2018;102(2S Suppl 1):S50-S59.
7. Mallat SG, et al., CMV and BKPyV infections in renal transplant recipients receiving an mTOR inhibitor-based regimen versus a CNI-based regimen: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017;12:1321-1336.



# BK-virus infektion och hemorragisk cystit vid hematopoetisk stamcellstransplantation

*Tina Dalianis*

## BK-virus

BK-virus (BKV) är ett litet cirkulärt dubbelstrandat DNA virus som tillhör polyomavirusfamiljen (1). För sin replikation använder BKV cellens maskineri och det finns därför ännu inga kända BKV-specifika replikationsinhibitorer (1).

## Epidemiologi BKV infektion och latens

BKV infektion sker subklinisk tidigt i livet enligt seroepidemiologiska studier. I de flesta populationerna är >70% av alla 5-10 åringar BKV seropositiva och vid 20 års åldern är de flesta seropositiva mot BKV men det finns små isolerade populationer som är helt seronegativa (1,2). Trots utbredningen av BKV är smittvägarna fortfarande okända även om peroral och respiratorisk smitta anses sannolik (1,2). BKV finns latent i njurens epiteliella celler och utsöndras i urinen hos 5-10% av immunkompetenta friska och hos ännu fler vid graviditet och immunosuppression (1-6). BKV har även rapporterats latent i blod och hjärna men detta är inte lika säkert dokumenterat (1-6). Vid kraftig immunosuppression kan BKV nämligen påvisas i serum och blod, men om detta enbart beror på replikation i njurarna och spridning därifrån är okänt.

BKV är patogent vid immunosuppression i kombination med transplantation och kan inducera hemorragisk cystit (HC) vid allogen hematopoetisk stamcellstransplantation (HSCT). Reaktivering av BKV anses oftast härstamma från patienten medan reaktivering av BKV från donatorn är sällsynt (1,2,7,8). Vid njurtransplantation kan en reaktivering av BKV ske vilket kan ge en tubulointerstitiell infektion, som kallas polyomvirus-inducerad nefropati eller mer specifikt BKV-associerad nefropati (BKVAN) (9). BKVAN beror sannolikt på en mismatch mellan värdens och donatorns HLA antigen och att recipientens cellulära immunsvaret mot BKV infektionen/reaktiveringen i transplantet därför inte är optimal. Motsvarande svåra njurinfektion är inte dokumenterad vid allogen HSCT, men en viss njurpåverkan av BKV vid HC kan ändå inte helt uteslutas.

## Diagnos av BKV infektion

Detektion av BKV DNA med vanlig eller kvantitativ PCR kan användas för att identifiera BKV reaktivering i urin, serum eller blod (8-14). Kvantitativ BKV i serum eller blod är att föredra

vid BKVAN. Vid BKC associerad HC så har BKV kvantitativ PCR speciellt i serum/blod inte samma prediktiva värde som vid BKVAN då HC kan uppstå både vid låga och höga virusnivåer både i serum, blod och urin (8-14).

## Hematopoetisk stamcellstransplantation och hemorragisk cystit

Hemorragisk cystit (HC) efter hematopoetisk stamcellstransplantation (HSCT) förekommer hos mellan 2% till 66% av fallen beroende på typ av HSCT, procedur vid HSCT och patienternas ålder (15,16). HC förlänger post-HSCT morbiditet och sjukhusvistelse samt sänker patientens livskvalitet men om det anses öka mortaliteten är mer kontroversiellt. Flera faktorer bidrar till utveckling av HC och man skiljer mellan tidig och sen utveckling av HC eller snarare toxisk respektive viral inducerad HC. Tidig HC <1 vecka efter HSCT anses bero på toxisk effekt på urinblåsan p.g.a. konditioneringen speciellt p.g.a. läkemedelsmetaboliter (ffa cyklofosamid) eller radioterapi. Sen HC >1 vecka efter HSCT anses vara virusinducerad och då framförallt av BKV och adenovirus (vanligast hos barn) men JC-virus (JCV) och cytomegalovirus (CMV) har också rapporterats inducera HC (16).

## BKV inducerad hemorragisk cystit (BKV-HC) vid hematopoetisk stamcellstransplantation

Typisk BKV-HC definieras således som sen HC >1 vecka efter HSCT. BKV-HC indelas i svårighetsgrader: Grad 1, mikroskopisk hematuri; Grad 2, makroskopisk hematuri; Grad 3, makroskopisk hematuri med koagler; och Grad 4, njurinsufficiens p.g.a. urinvägsobstruktion (15, 16). Till allt detta kan nedre abdominell smärta tilläggas. För diagnos av BKV-HC krävs BKV-viruri, cystit symptom, samt hematuri Grad II-IV och att andra orsaker som toxisk, bakteriell, JCV, CMV och adenovirus inducerad cystit uteslutes.

BKV-HC debuterar ofta i samband vid neutrofil återhämtning speciellt vid allogen HSCT men kan observeras upp till sex månader efter HSCT (15,16). De flesta fallen inträffar inom de första två månaderna efter HSCT (15,16). Det är svårt att förutsäga vilka patienter kommer insjukna i BKV-HC då >80% av alla allogent HSCT patienter utsöndrar BKV i urinen vid någon tidpunkt efter HSCT medan enbart 5-20% utvecklar HC.

Störst risk för att utveckla BKV-HC har patienter som genomgår allogen HSCT medan vid

autolog HSCT är risken för BKV-HC låg (15,16). Patienter som får full myeloablativ konditionering före HSCT, speciellt de med obesläktad donator och särskilt de med en HLA mismatchad donator har högre risk för BKV utsöndring i urinen samt HC jämfört med de som får reducerad konditionering (16-19). I samband med reducerad konditionering tycks också donatorns status som besläktad eller obesläktad spela en mindre roll och likaså om donatorn är HLA-mismatchad (18,19). Det har inte heller någon avgörande roll om transplantatet består av benmärg eller perifera stamceller för utveckling av BKV-HC. Däremot har flera studier rapporterat att transplantation med navelsträngsblod medför större risk för att utveckla BKV-HC (18,19). Här kan man hypotetisera att navelsträngsblod saknar maternellt cellulärt immunskydd mot BKV och då den potentiella passivt överförda antikropps-dosen från barnets mor är liten blir risken för BKV reaktivering högre. Dessutom kan det ta längre tid att få recipientens BKV-reaktivering under kontroll då ett primärt donator-immunsvar med både antikroppar och T-celler måste induceras från det naiva navelsträngstransplantatet för att få ett fullgott skydd mot BKV reaktivering.

Patogenesen anses vara komplex och är inte helt klarlagd. Det hypotetiseras att en toxisk skada vid HSCT konditioneringen förutom immunsuppression är nödvändig. I samband med HSCT sker en kraftig immunsuppression av recipienten vilket innebär att BKV i likhet med många andra latent förekommande virus har möjligheten att reaktiveras och replikera. BKV reaktiveringen leder så småningom till en aktivering av ett specifikt immunsvaret (som då kommer i samband med själva engraftment). Detta immunsvaret är då donatorns och kan vara mindre väl matchad med recipientens HLA antigen vilket kan leda till ytterligare en vävnadsskada i urinvägarna i samband med själva specifika immunsvaret. När donatorn är transplanterad med navelsträngsblod så måste istället ett primärt immunsvaret induceras. Det är ytterst sällsynt att en donator (där perifera stamceller eller benmärg doneras) är BKV negativ men även här behöver då ett primärt immunsvaret induceras.

Graft versus host disease (GVHD) har i tidigare studier också ansetts bidra till BKV-HC men detta har inte kunnat konfirmerats av senare studier (17-22). Patogenesen vid post-engraftment HC efter HSCT har av Leung et al., 2005 föreslagits bero delvis på uroepitelial skada inducerad av kemoterapi/strålning och BKV infektion tillsammans med alloimmuna reaktioner (23). De senare då blir allvarligare vid obesläktad donator och vid HLA mismatchad transplantation och den

sistnämnda rapporten föreslår då att komponenter av akut GVHD kan bidra till utveckling av HC.

Det går som nämnts ovan inte att vid HSCT förutsäga vem som kommer att insjukna i BKV-HC, då de flesta utsöndrar BKV i urinen (15,16). Trots att det finns flera studier som beskriver en ökad BKV kvantitet i urinen och även i serum vid BKV-HC så är korrelationen inte absolut och inte alls lika prediktivt som vid polyomavirus associerad nefrit efter njurtransplantation. Detta beror på den annorlunda immunologiska bilden. Vid njurtransplantation är donatorns immunsystem inte utbytt och organet främmande och sannolikt står den för själva BKV reaktiveringen medan vid HSCT så tillför man ett helt nytt immunsystem. Det har dock i vissa studier visats att BKV som isolerats från urin vid BKV-HC kan vara något förändrad speciellt i sin icke kodande regulatoriska del.

### Behandling av BKV HC

Det finns som nämnts ovan ingen specifik antiviral behandling för BKV infektion eller BKV associerad sjukdom varför endast preventiva åtgärder och annars symptomatisk behandling kan rekommenderas, för fler detaljer se referens 16. Patienter som genomgått HSCT med full konditionering, mismatchad donator eller med navelsträngsdonator löper störst risk och bör bevakas kliniskt för denna komplikation (16). Däremot rekommenderas inte speciell laboratoriescreening av dessa patienter då några klara prediktiva laboratoriefaktorer inte finns idag (16). Hyperhydrering och urinblåseirrigation kan ges för att förhindra cystostatika inducerad HC och minska toxiska effekten av dessa på urinblåsan (16). Behandling vid BKV-HC är symptomatisk med exempelvis analgesi, erytrocyt- och trombocyttransfusioner vid behov och kirurgiska åtgärder mot urinstopp (16). Möjligheten att minska på immunsuppressionen måste balanseras mot risken att få en ökad GVHD reaktion (16). Antiviral terapi med exempelvis cidofovir och leflunomid har använts men det saknas prospektiva randomiserade kontrollerade studier och det finns risk för njurskada. Cidofovir har också använts intravesikalt och där är möjligen risken för njurskada mindre men även här saknas prospektiva studier. Ospezifika åtgärder för att förkorta läkningsprocessen som t.ex. hyperbar syrgasterapi eller urologisk fibrin klister har varit lyckade i ett par icke kontrollerade studier. FXIII koncentrat, östrogen och mesenchymala celler har prövats men ingen av dessa åtgärder anses ge säkert dokumenterad effekt. Effekten av alla dessa behandlingar är svårbedömd. En pilotstudie med cellulär terapi med T-celler specifikt riktade mot BKV tydde på

en viss effekt 2014 och sedan dess har resultaten konfirmerats av samma grupp (24,25).

### Sammanfattning

Vilka HSCT patienter som kommer drabbas av BKV-HC är svårt att förutsäga men sjukdomen förekommer framförallt hos patienter som genomgått allogen HSCT med myeloablativ konditionering och med obesläktad donator. Högre risk finns också vid en HLA mismatchad obesläktad donator samt vid transplanterat med navelsträngsblod. BKV-HC anses bero på toxisk uroepitelial skada förenat med reaktivering av BKV infektion hos recipienten och ett donator-immunsvar mot viruset som inte är perfekt matchad med recipientens vävnader och därför orsakar ytterligare vävnadsskada. Diagnos vid BKV-HC består av triaden: I) kliniska symptom som cystit, dysuri och nedre abdominell smärta tillsammans II) med hematuri Grad II-IV, samt III) BK-viruri ofta men inte alltid  $>7 \log_{10}$  kopior/mL. Behandlingen är preventiv och symptomatisk, d.v.s. ökad hydrering vid konditioneringen och senare smärtstillande. Erytrocyt- och trombocyttransfusioner ges vid besvärande blödningar och kirurgiskt ingrepp görs vid behov vid hinder i urinvägarna. Antiviral behandling såväl som T-cellsbehandling behöver utvärderas skeptiskt.

### Referenser

1. Abend J, Jiang M, Imperiale MJ. BKV and human cancer: Innocent until proven guilty. *Semin in Cancer Biol.* 2009;9:252-260.
2. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomavirus BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol.* 2006;577:19-45.
3. Chesters PM, Heritage J and McCance DJ. Persistence of DNA sequences of BK virus and JC virus in normal human tissues and in diseased tissues. *J Infect Dis* 1983;147:676-684.
4. Jin L, Pietropaolo V, Booth JC, Ward KH and Brown DW. Prevalence and distribution of BK virus subtypes in healthy people and immune-compromised patients detected by PCR-restriction enzyme. *Clin Diagnostic Virol* 1995; 3:285-295.
5. Sundsfjord A, Flaegstad T, Flø R, Spein AR, Pedersen M, Permin H, Julsrud J and Traavik T. BK and JC viruses in human immunodeficiency virus type 1-infected persons: prevalence, excretion, viremia and viral regulatory regions. *J Inf Dis* 1994;169:485-490.
6. Markowitz RB, Eaton BA, Kubik MF Latorra D, McGregor JA and Dynan WS. BK virus and JC virus shed during pregnancy have predominantly archetypal regulatory regions. *J Virol* 1991;65:4515-4519.
7. Flaegstad T and Taavik T. Detection of BK virus antibodies measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and two haem-agglutination inhibition methods: a comparative study. *J Med Virol* 1985;16:351-356.
8. Bogdanovic G, Priftakis P, Taemmeraes B, Gustafsson A, Flaegstad T, Winiarski J and Dalianis T. Primary BK virus (BKV) infection due to possible BKV transmission during bone marrow transplantation is not the major cause of hemorrhagic cystitis in transplanted children. *Pediatr Transplant* 1998;2:288-293.
9. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, Steiger J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347:488-496.
10. Azzi A, Fanci R, Bosi A, Ciappi S, Zakrzewska K, de Santis R, Laszlo D, Guidi S, Saccardi R, Vannucchi AM, Longo G and Rossi-Ferrini P. Monitoring of polyomavirus BK viruria in bone marrow transplantation patients by DNA hybridization assay and by polymerase chain reaction: an approach to assess the relationship between BK viruria and hemorrhagic cystitis. *Bone Marrow Transplant* 1994;14: 235-240.
11. Bogdanovic G, Brytting M, Cinque P, Grandien M, Fridell E, Ljungman P, Lonnqvist B and Hammarin AL. Nested PCR for detection of BK Virus and JC Virus DNA. *Clin Diagnostic Virol* 1994;2:211-220.
12. Biel SS, Held TK, Landt O, Niedrig M, Gelderblom HR, Siegert W and Nitsche A. Rapid quantification and differentiation of human polyomavirus DNA in undiluted urine from patients after bone marrow transplantation. *J Clin Microbiol* 2000;38:3689-3695.
13. Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY and Kwong YL. Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood* 2001;98: 1971-1978.
14. Bogdanovic G, Priftakis P, Giraud G, Kuzniar M, Ferraldeschi R, Kokhaei P, Mellstedt H, Remberger M, Ljungman P, Winiarski J and Dalianis T: Association between a high BK virus load in urine samples of patients with graft-versus-host disease and development of hemorrhagic cystitis after hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol* 2004;42:5394-5396.
15. Dalianis T and Ljungman P. Full Myeloablative conditioning and an unrelated HLA mismatched donor increase the risk for BK virus-positive hemorrhagic cystitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplanted patients.

- Anticancer Research 2011;31:939-944.
16. Cesaro S, Dalianis T, Hanssen Rinaldo C, Koskenvuo M, Pegoraro A, Einsele H, Cordonnier C, Hirsch HH on behalf of the 6th European Conference on Infections and Leukemia (ECIL), ECILs guidelines for prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:12-21.
  17. El-Zimaity M, Saliba R, Chan K, Shahjahan M, Carrasco A, Khorshid O, Caldera H, Couriel D, Giral S, Khouri I, Ippoliti C, Champlin R and de Lima M. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: donor type matters. *Blood* 2004;103:4674-4680.
  18. Giraud G, Bogdanovic G, Priftakis P, Remberger M, Svahn BM, Ringden O, Ljungman P, Winiarski J and Dalianis T. Hemorrhagic cystitis and BK-viruria are less common in allogeneic hematopoietic stem cell transplanted patients receiving reduced conditioning than in patients receiving full conditioning. *Hematologica* 2006;91:401-404.
  19. Giraud G, Priftakis P, Bogdanovic G, Remberger M, Dubrulle M, Hau A, Gutmark R, Mattson J, Svahn BM, Ringden O, Winiarski J, Ljungman P, Dalianis T. BK-viruria and haemorrhagic cystitis are more frequent in allogeneic haematopoietic stem cell transplant patients receiving full conditioning and unrelated-HLA-mismatched grafts. *Bone Marrow Transplant* 2008;41:737-742.
  20. Ost L, Lonnqvist B, Eriksson L, Ljungman P and Ringden O. Hemorrhagic cystitis-a manifestation of graft versus host disease? *Bone Marrow Transplant* 1987;2:19-25.
  21. Leung AY, Mak R, Lie AK, Yuen KY, Cheng VC, Liang R and Kwong YL. Clinicopathological features and risk factors of clinically overt haemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:509-513.
  22. Hassan Z, Dalianis T, Leblanc K, Ringden O. Hemorrhagic cystitis, pathogenesis and management in clinical stem cell transplantation. In Wingard Hematopoietic Stem Cell Transplantation, A Clinicians Handbook. Bethesda MD: AABB. Press 2009 Chapter 32:457-465.
  23. Leung AYH, Yuen, K-Y and Kwong Y-L. Polyoma BK virus and haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation: a changing paradigm. *Bone Marrow Transplantation* 2005;36:929-937.
  24. Papadopoulo A, Gerdeman U, Katari UL et al. Activity of broad spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV and HHV6 infections after HSCT. *Sci Transl Med* 2014;6:242ra83.
  25. Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, Leung K, Martinez CA, Ramos CA, Carrum G, Sasa G, Lulla P, Watanabe A, Kuvalekar M, Gee AP, Wu MF, Liu H, Grilley BJ, Krance RA, Gottschalk S, Brenner MK, Rooney CM, Heslop HE, Leen AM, Omer B. Off-the-shelf virus-specific T cells to treat BK virus, human herpesvirus 6, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2017; 35:3547-3557.

# Mikrobiologisk diagnostik av BK-virus infektion

**Anna-Lena Hammarin**

## Bakgrund

Infektion med BK virus (BKV) är mycket vanligt och drabbar upp till 90 % av alla individer (Hirsch & Steiger 2003). Efter primärinfektionen, som vanligen förlöper asymtomatiskt under barnaåren, etablerar virus latens, framför allt i epitelceller i njure och urinvägar, där virusgenomet kan ligga episomalt eller vara integrerat i värdcellens genom. Vid immunosuppression kan BKV reaktiveras då orsaka sjukdom i njure och urinvägar, men även andra organ kan drabbas även om detta är sällsynt. Framför allt drabbas njur- och stamcellstranplanterade (HSCT) patienter. Mellan 1-10 % av njurtransplanterade patienter drabbas av en BKV-associerad nefropati (BKVAN) (Hirsch et al 2013). Hos stamcells-transplanterade (HSCT) patienter kan reaktivering av BKV orsaka hemorragisk cystit. Frekvensen av HC hos stamcells-transplanterade är 5-15% (Hirsch & Randhawa 2013).

## BK virus

BK virus (BKV) är ett litet icke höljebärande dubbelsträngat DNA-virus tillhörande familjen polyomaviridae. I samma familj ingår JC virus (JCV) och SV-40, båda genetiskt mycket lika BKV. JCV delar cirka 75 % av genomet med BKV, motsvarande siffra för SV-40 är cirka 70 % (Barbanti-Brodano et al. 1998). Vid etablering av molekylärbio-logiska metoder måste det nära släktskapet mellan virusgenomen beaktas då risken för korsreaktioner är betydande. Genomet omfattar ca 5 300 baspar som kodar för två icke strukturella proteiner, stora respektive lilla T/t – antigenet (T-ag, t-ag), tre strukturella proteiner VP1, VP 2 och VP3 samt agnoproteinet. Med fylogenetisk helgenomsekvensering har sex genotyper/-subgrupper av BKV identifierats, framför allt baseras typningen på polymorfism i VP1-regionen (Sharp et al. 2006). Genotyp I är den vanligast förekommande genotypen.

## Diagnostik av BKV

Vid misstanke om BKV-associerad sjukdom baseras diagnosen på detektion av virus, virusantigen, och/eller virus nukleinsyra, framför allt har kvantifiering av BKV DNA i urin och plasma med kommit att bli ett viktigt diagnostiskt verktyg, majoriteten av de analyser som används är realtids-PCR (qPCR). Analysen anses vara en säker och tillförlitlig markör för reaktivering av BKV och sedan flera år är monitorering med qPCR i plasma en viktig del i uppföljningen av njurtransplanterade patienter. Den icke-invasiva

provtagningen och metodens snabbhet, provsvar kan lämnas samma dag, stärker ytterligare dess värde som rutinanalys vid monitorering (Nickel-leit et al. 2000, Limaye et al. 2001, Hirsch et al. 2001, Hammarin et al. 2011, Pape et al. 2016). Vid BK virus associerad nefropati (BKVAN) är dock undersökning av njurbiopsi med typisk morfologi och immunhistokemisk färgning/in situ hybridisering "gold standard" och avgörande för att verifiera diagnosen (Nickel-leit et al. 1999). Att vid BKVAN tidigt kunna påvisa reaktivering av BKV kan vara avgörande för möjligheten att undvika en förlust av transplantatet (Hammarin et al. 2011).

## Påvisning av BKV DNA i serum/plasma

Kvantitativ PCR för påvisning av BKV DNA har generellt hög specificitet och sensitivitet. Det finns en rad olika protokoll för kvantifiering av BKV DNA. De olika protokollen kan skilja sig åt avseende flera parametrar. Skillnader i målsekvens för primers och probe, val av kvantitativ standard samt valet av extraktionsmetod har visats vara tre parametrar som kan påverka analysresultatet (Bechert et al. 2010, Dumoulin och Hirsch 2011). Hoffman et al. (2008) jämförde sju olika PCR-metoder och kunde visa att "mismatch" mellan primers/probe-sekvenser och genotyp-associerad polymorfism i provmaterialet, hade stor betydelse för metodens möjlighet att korrekt identifiera viralt DNA. Även valet av kvantitativ standard är viktigt för metodens sensitivitet. Randhawa et al. (2011) visade att metodens känslighet minskade drastiskt vid två eller fler "mismatch" mellan den kvantitativa standarden och virus i patientprovet. I dag används både kommersiella kitbaserade metoder och in house-metoder i Sverige. Skillnaderna mellan olika protokoll begränsar dock möjligheten att jämföra resultaten från olika qPCR-analyser och därmed också möjligheten att bestämma en "universell cut off" (Hayden et al. 2012). Det finns ingen fastställd gräns för mängden BKV DNA som kan associeras till BKVAN, men retrospektiva studier har visat att > 10 000 kopior/mL är starkt förknippat med BKVAN (Hirsch et al. 2002). I en studie av Hassan et al (2014) visades dock att av 31 patienter med verifierad BKVAN hade 11 (35 %) en DNA-nivå i plasma < 10 000 BKV genom/mL och av de 23 patienterna med DNA-nivåer ≥ 10 000 fanns tre patienter som inte utvecklade BKVAN. Sedan 2016 finns en internationell standard (1st WHO International Standard for BK virus, NIBSC code 14/212) att

använda för kalibrering vid påvisning av BKV DNA. Tillgången till en internationell standard förbättrar betydligt möjligheten att jämföra resultat från olika PCR-protokoll och har avsevärt ökat möjligheten att etablera en "universell cut off" för kliniskt bruk (Tan et al. 2017). Att fastställa metodens inter- och intra-variation samt delta i externa kvalitetsprogram som exempelvis det som tillhandahålls av Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) är en viktig del i validering och kvalitetssäkring.

När det gäller monitorering av enskild patient är det av betydelse att patienten följs i samma typ av provmaterial. I en studie som utfördes vid Smittskyddsinstitutet 2011 jämfördes mängden BKV DNA i samtidigt tagna serum- och plasma-prover. Hög mängd BKV DNA i serum korrelerade väl till hög mängd BKV DNA i plasma. Generellt visades dock större inhibition i serum än i plasma vilket medförde att i vissa fall var skillnaden i påvisat BKV DNA mer än tre gånger, vilket anses som en signifikant skillnad i det q-PCR-protokoll som användes. Efter att en ny extraktionsmetod införts ses inte samma grad av inhibition i serum och skillnaden i samtidigt tagna serum-/plasma-prov har reducerats betydligt. Dock rekommenderas fortfarande att patienten vid monitorering över tid i mesta möjliga mån analyseras i samma typ av provmaterial.

Det är inte ovanligt att njurtransplanterade har låga mängder BKV DNA ( $\leq 5000$  kopior/mL) intermittent under långa perioder. Hos majoriteten av dessa har fynden ingen klinisk relevans, men beroende på klinisk situation kan fortsatt monitorering vara indicerad (tid efter transplantation, grad av immunsuppression, njurpåverkan) (Pape et al. 2016).

Vid BKVAN har påvisning av BKV DNA i serum/plasma ett positivt prediktivt värde (PPV) på 50 % och ett negativt prediktivt värde (NPV) på 100 % (Hirsch et al. 2002, Viscount et al. 2007, Bechert et al. 2010).

### **Påvisning av BKV, BKV DNA och mRNA i urin**

Hos friska, BKV seropositiva personer, är reaktivering och asymtomatisk viruri relativt ovanligt men 5-10 % utsöndrar virus i urinen intermittent (Egli et al. 2009). Hos njurtransplanterade ses asymtomatisk viruri hos cirka 30 % (Wiseman 2009), motsvarande siffra för HSCT patienter är 50 – 80 % (Hirsch 2010). Hos njurtransplanterade med BKV-associerade symtom från njurar och urinvägar är viruri mycket vanligt och ses hos så gott som 100 % (Viscount et al. 2007, Babel et al. 2009). Vid reaktivering kan höga nivåer av BKV DNA ( $> 107$  genom/mL) påvisas i urin i upp till sex veckor före fynd i plasma (Boan et al. 2016). Höga nivåer av BKV

DNA i urin som kvarstår över tre veckor är ett observandum och kan förutspå BKVAN. Undersökning av BKV DNA i urin kan framför allt vara av intresse vid första provtagningstillfället efter njurtransplantation, då NPV är nära 100 % (Viscount et al. 2007). Det finns ett par rapporter där enstaka patienter visats ha viremi med inte påvisbart BKV DNA i urin, men detta är mycket ovanligt.

Urincytologi med påvisning av decoy celler (virusinfekterade epitelceller) kan ha ett diagnostiskt värde. Flera studier har visat att sensitiviteten vid BKVAN är 100 % (Hirsch et al. 2002, Vidas et al. 2010), specificiteten är cirka 70 - 80% (Hirsch et al. 2002, Vidas et al. 2010). Framför allt är ett negativt resultat av värde, då NPV är 99 -100 % (Renthawa et al. 2014), PPV är dock betydligt lägre 6 - 29 % (Renthawa et al. 2014, Hirsch et al. 2002). Förekomst av decoy celler är inte specifikt för BKV utan kan även påvisas vid reaktivering av JC virus.

Påvisning av VP 1 mRNA i urin kan användas som markör för en "sannolik" BKVAN. Ding et al. (2002) visade att vid ett cut off-värde på  $6.5 \times 105$  VP1 mRNA/ng RNA hade metoden en sensitivitet på 93,8 % och en specificitet på 93,9 %. Resultatet har verifierats av andra (Dadhania et al. 2010) som med samma tröskelvärde utvärderade metoden i en kohort av 89 njurtransplanterade och kunde då visa en sensitivitet på 100 % och en specificitet på 97 %, NPV var 100 % och PPV var 86 %.

### **Påvisning av antikroppar**

Påvisning av antikroppar har i dagsläget inget diagnostiskt värde. En möjlig risk för utvecklig av BKVAN är en seropositiv donator och en seronegativ recipient. Att screena donator/recipient före transplantation avseende förekomst av antikroppar har diskuterats för att kunna identifiera om recipienten löper en ökad risk att drabbas av BKVAN.

### **JCV-associerad nefropati**

I enstaka fall kan även JCV orsaka nefropati (JCVAN) (Drachenberg et al. 2007, Kazory et al. 2003). Detta är mycket ovanligt men bör ha i åtanke hos njurtransplanterade med tecken på BKV-associerad nefropati men där specifika analyser inte kan påvisa BKV DNA (Delbue et al. 2013). Diagnostiken baseras på samma metoder som för BKV, det vill säga påvisning av JCV DNA i urin och plasma samt undersökning av njurbiopsi. Ofta har patienter med JCVAN höga nivåer av JCV DNA i urin (Drachenberg et al. 2007) till skillnad immunkompetenta med asymtomatisk utsöndring som generellt har lägre nivåer (Pires et al. 2011). Vanligtvis ses inte JCV

DNA i blod hos immunkompetenta (Koralnik et al 1999).

## Referenser

Babel, N., Fendt, J., Karaivanov, S., et al. (2009). Sustained BK viremia as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples. *Transplantation*, 88:89-95.

Barbanti-Brodano, G., Martini, F., De Mattei, M. (1998). BK and JC human polyomaviruses and simian virus 40: natural history of infection in humans, experimental oncogenicity, and association with human tumors. *Adv Virus Res.*, 50: 69-99.

Bechert, C. J., Schnadig, V. J., Payne, D. A. et al. (2010). Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real time PCR assays. *Am J Clin Pathol.*, 133: 242-250.

Bohl, D. L., Storch, A., Ryschkewitsch, C. et al. (2005). Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia. *Am J Transplant.*, 5: 2213-2221.

Bogdanovic, G., Ljungman, P., Wang, F. et al. (1996). Presence of human polyomavirus DNA in the peripheral circulation of bone marrow transplant patients with and without hemorrhagic cystitis. *Bone Marrow Transplant.*, 17; 573-576.

Dadhania, D., Snopkowski, C., Ding, R. et al. (2010). Validation of noninvasive diagnosis of BK virus nephropathy and identification of prognostic biomarkers. *Transplantation*, 90: 189-197.

Delbue, S., Ferraresso, M., Ghio, L. et al. (2013). A review on JC virus Infection in Kidney Transplant Recipients. *Clin Dev Immunol.*, 926-939

Ding, R., Medeiros, M., Dadhani, D. et al. (2002). Noninvasive diagnosis of BK virus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1 in urine. *Transplantation*, 74: 987-994.

Drachenberg, C.B., Beskow, C.O., Cangro, C. B. et al. (1999). Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol.*, 180: 884-887.

Drachenberg, C. B., Hirsch, H. H., Papadimitriou, J. C. et al. (2007). Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: A prospective evaluation. *Transplantation* 84: 323-330.

Dorries, K., Vogel, E., Gunther, S., et al. (1994). Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals, *Virology*, vol. 198; 59-70.

Dumoulin, A & Hirsch, H. H. (2011). Reevaluating and optimizing polyomavirus BK and JC real-time PCR assays to detect rare sequence polymorphisms. *J Clin Microbiol.*, 49 (4): 1382-1388.

Egli, A., Infanti, L., Dumoulin, A. et al. (2009). Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis.*, 199: 837-846.

Hassan, S., Mittal, C., Amer, S, et al. (2014). Currently recommended BK virus (BKV) plasma viral load cutoff of  $\geq 4 \log_{10}/\text{mL}$  underestimates the diagnosis of BKV-associated nephropathy: a single transplant center experience. *Transpl. Infect. Dis.*, 16: 55-60.

Hammarin, A-L., Öqvist, B., Wahlgren, J. et al (2011). Systematic screening of BK virus by real-time PCR prevents BK virus associated nephropathy in renal transplant recipients. *Med Virol.*, vol. 83; 11: 1959-1965.

Hayden, R. T., Yan, X., Wick, M. T. et al. (2012). Factors contributing to variability of quantitative viral PCR results in proficiency testing samples: a multivariate analysis. *J Clin Microbiol.*, 50 (2): 337-345.

Hirsch, H. H., Mohaupt, M., Klimkait, T. (2001). Prospective monitoring of BK virus load after discontinuing sirolimus treatment in a renal transplant patient with BKV allograft nephropathy. *J Infect Dis.*, 184:1494-1495.

Hirsch, H. H., Knowles, W., Dickenmann, M. et al. (2002). Prospective study of polyoma-virus type BK replication and nephropathy in renal transplant recipients. *N Engl J Med.*, 347: 488-496.

Hirsch, H. H. & Steiger, J. (2003). Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis.* 3: 611 -623

Hirsch, H. H. (2010). Polyoma and papilloma virus infections after hematopoietic or solid organ transplantation. In: Bowden RA, Ljungman P, Snyderman DR, editors. *Transplant infections*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams. 465-482.

Hirsch, H. H., Vincenti, F., Friman, S. et al. (2013). Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: A prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant.*, 13 (1): 136-45.

- Hirsch, H. H. & Randhawa, P. (2013). BK polyomavirus in solid organ transplantation. *Am J Transpl.* 13 (54); 179-188.
- Hoffman, N. G., Cook, L., Atienza, E. et al. (2008). Marked variability of BK virus load measurement using quantitative real time PCR among commonly used assays. *J Clin Microbiol.*, 46: 2671-2680.
- Knowles, W. A., Pipkin, P., Andrews, N. et al. (2003). Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus 40. *J Med Virol.*, 71: 115-123.
- Limaye, A. P., Jerom, K. R., Kuhr, C. S, et al. (2001). Quantitation of BKV load in serum for the diagnosis of BK virus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *J Infect Dis.*, 183:1669-1672.
- Mengelle, C., Kamar, N., Mansuy, J. M. et al. (2011). JC virus DNA in the peripheral blood of renal transplant patients: a 1-year prospective follow-up in France, *J Med Virol.*, vol. 83; 1, 132-136.
- Nickeleit, V., Hirsch, H. H., Binet, I. F., et al. (1999). Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease, *J Am Soc Nephrol.*, vol. 10: 1080-1089.
- Nickeleit, V., Klimkait, T., Binet, I. F. et al. (2000). Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy, *N Engl J Med.*, vol. 342: 1309-1315.
- Pape, L., Tönshoff, B., Hirsch, H. H. (2016). Perception, diagnosis and management of BK polyomavirus replication and disease in pediatric kidney transplant recipients in Europe. *Nephrol Dial Transplant.*, 31 (5) :842-847
- Pires, E. P., Bernardino-Vallinoto, C. V., Alves, D. M. et al. (2011). Prevalence of infection by JC and BK polyomaviruses in kidney transplant recipients and patients with chronic renal disease. *Transpl Inf Dis.*, 3 (6): 633-637.
- Racusen, L.C., Solez, K., Colvin, R.B. et al. (1999). The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 55: 713-723.
- Randhawa, P. S & Demetris, A. J. (2000). Nephropathy due to polyomavirus BK. *N Engl J Med.*, 342: 1361-1363.
- Randhawa, P., Uhrmacher, J., Pasculle, W. et al. (2005). A comparative study of BK and JC virus infections in organ transplant recipients. *J Med Virol.*, 77: 238-243
- Randhawa, P., Kant, J., Shapiro, R. et al. (2011). Impact of genomic sequence variability on quantitative PCR assays for diagnosis of polyomavirus BK infection. *J Clin Microbiol.*, 49: 4072-4076.
- Renthawa, J., Nankivell, B., Kable, K. et al. (2014). Urine cytology as a screening tool for BK virus nephropathy: preliminary findings in 350 samples. *Pathology*, 46: S53-S54.
- Razonable R. R., Brown, R. A., Humar, A. et al. (2005). A longitudinal molecular surveillance study of human polyomavirus viremia in heart, kidney, liver, and pancreas transplant patients. *J Infect Dis.*, 192: 1349-1354.
- Sawinski, D. & Goral, S. (2015). BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transpl.*, Volume 30, (2): 209-217
- Sharma, P. M., Gupta, G., Vats, A., et al. (2006). Phylogenetic Analysis of Polyomavirus BK Sequences. *J Virol.*, 80 (18): 8869-8879.
- Singh, H. K., Andreoni, K. A., Maden, V. et al. (2009). Presence of urinary Haufen accurately predicts polyomavirus nephropathy. *J Am Soc Nephrol.*, 20: 416-427.
- Tan, S. K., Milligan, S., Sahoo, M. K. et al. (2017). Calibration of BK Virus Nucleic Acid Amplification Testing to the 1st WHO International Standard for BK Virus. *J Clin Microbiol.* 55 (3): 923-930.
- Vidas, Z., Misic, M., Pacic, A. et al. (2010). The value of urinary decoy cells finding in patients with kidney transplantation. *Coll Antropol.*, 34 (1): 153-157.
- Wiseman, A. C. (2009). Polyomavirus Nephropathy: a current perspective and clinical considerations. *Am J Kidney Dis.*, 54: 131-142.
- Viscount, H. B., Eid, A. J., Espy, M. J. et al. (2007). Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus associated nephropathy. *Transplantation* 84: 340-345
- Zhong, S., Randhawa, P. S., Ikegaya, H. et al. (2009). Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European, and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race. *J Gen Virol.*, 90: (144-152).



## Morfologisk diagnostik av BK-virus associerad nefropati

**Johan Mölne**

BK-virusinfektioner är mycket vanliga och drabbar sannolikt >90% av alla individer, och efter en primärinfektion finns en latent infektion kvar i njure och urinvägar. Efter transplantation och behandling med immunosuppression kan en reaktivering av infektionen ske och patienten kan utveckla en tubulointerstitiell infektion, kallat BK-virus associerad nefropati (BKVAN) (1,2). Virus tar sig in i njurtubulis epitelceller där det replikeras vilket leder till lysering av cellerna och utsöndring av virus till tubulussystemet. Virus replikeras först i distala tubuli och framför allt i mörgen vilket kan ha betydelse för diagnostiken eftersom olika mycket mörge kan erhållas vid biopsitagningen. Frekvensen BKVAN efter njurtransplantation ligger kring 5% (1).

Njurbiopsi är fortfarande helt avgörande för att kunna ställa diagnosen BKVAN trots tillgång till andra analyser som serologi, urincytologi och framför allt kvantitativ PCR för påvisande av BK-virus. En hög virustiter > log 4 (>10.000 kopior/ml blod) talar starkt för BKVAN men både falskt positiva och negativa resultat har rapporterats. Virusinfektionen är vanlig tidigt efter transplantationen och hälften av alla infektioner ses inom 2 - 3 månader och 95% inom 2 år (1). De viktigaste riskfaktorerna är typen av immunosuppression samt andra njurskador orsakade av ischemi eller avstötning (rejektion). Behandling med tacrolimus och MMF samt ATG och metylprednisolon har alla visat sig ge en ökad infektionsrisk. Observera att patienter som transplanterats med andra organ relativt ofta har viss viremi men sällan drabbas av BKVAN, sannolikt beroende på att ytterligare skador i form av ischemi eller avstötning ("second hit") krävs för att virus skall reaktiveras och ge njurskador (2).

Den morfologiska bilden i njuren varierar beroende på i vilket skede man diagnostiserar infektionen (3) (figur 1). Tidigt ses minimala förändringar i tubuli i form av lätt förstörade och möjligen lätt hyperkromatiska cellkärnor. Diagnosen är helt beroende av immunhistokemisk färgning med antikroppar mot virusets SV40-antigen som avslöjar enstaka infekterade cellkärnor, **klass 1** (4). I nästa skede ses relativt tydliga kärnförändringar i form av stora, hyperkromatiska cellkärnor och varierande grad av inflammatoriska cellinfiltrat, främst lymfocyter, **klass 2**. Man kan även se en del nekrotiska celler. Senare ses tillkomst av fibros och tilltagande inflammation, **klass 3**. Behandlingen är reducerad immunosuppression och studier har visat

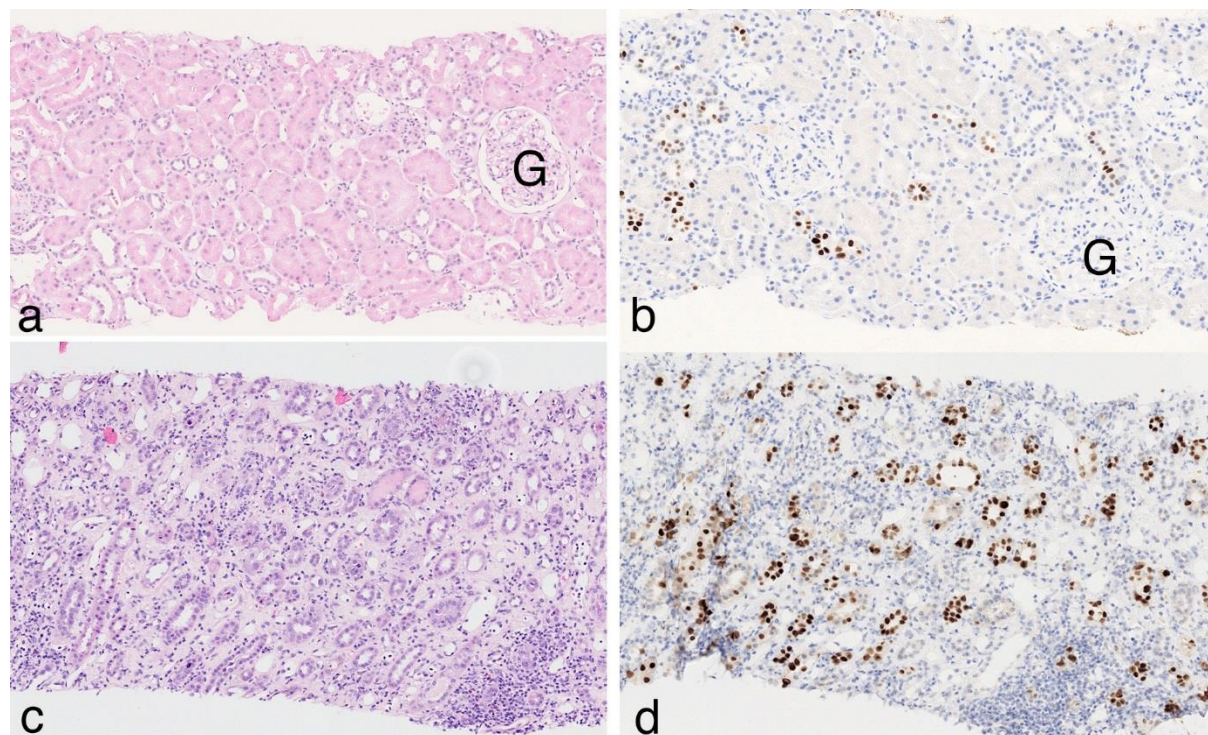
relativt god graftöverlevnad ca 90% efter 2 år, för klass 1 medan överlevnaden sjunker till ca 70% för klass 2 och ca 50% för klass 3. Då förändringarna är fokala och initialt minimala är det viktigt att man har ett bra biopsimaterial. Man rekommenderar minst 2 biopsier och dessa bör, förutom njurbark, innehålla mörge. För att inte missa biopsier med grad 1 infektion färgar vi i Göteborg alla biopsier mot SV-40 från 1 månad till 1 år efter transplantationen och man bör vara frikostig med immunhistokemi av alla transplantatbiopsier de första åren efter transplantation.

Ett stort diagnostiskt problem är att avgöra om en biopsi enbart visar BK-virus-nefropati eller avstötning dessutom. Eftersom skademekanismerna är likartade i båda fallen är det omöjligt att morfologiskt skilja processerna åt. Både vid virusinfektion och avstötning riktar sig kroppens immunförsvar mot tubulusepitelet. Vid virusinfektion destruerar T-suppressorceller och NK-celler virusinfekterade tubulusceller medan T-suppressorceller destruerar tubulusceller med främmande HLA-molekyler vid avstötning (2). Det finns inga rapporterade metoder eller tester som idag säkert kan skilja dessa två reaktioner i njuren. Om man förutom tubulusangrepp hittar lymfocyter i artärväggar (endarterit) talar detta starkt för avstötning.

### Referenser

(1-3 är översiktsartiklar)

1. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analysis and recommendations. *Transplantation* 2005;79:1277-86.
2. Lamarche C, Orio J, Collette S, et al. BK Polyomavirus and the transplanted kidney: Immunopathology and therapeutic approaches. *Transplantation* 2016;100:2276-2287.
3. Nicleleit V, Singh HK. Polyomaviruses and disease: is there more to know than viremia and viruria? *Curr Opin Organ Transplant*. 2015; 20: 348-58.
4. Nicleleit V, Singh HK, Randhawa P et al. The Banff working group classification of definite polyomavirus nephropathy: Morphologic definitions and clinical correlations. *J Am Soc Nephrol*. 2018; 2: 680-693.



**Figur 1.** Histologiska snitt färgade med hematoxylin-eosin (a och c) samt immunhistokemiska färgningar för SV-40 antigenet som detekterar virusinfekterade celler i tubuli (b och d). De övre bilderna visar biopsi från transplanterad njure med minimal inflammation (a) och inga säkra morfologiska bilder av BK-virusinfektion. Immunfärgning (b) påvisar enstaka grupper av positiva cellkärnor i tubulusepitelet som tecken på BK-virusinfektion i njurparenkymet. De nedre bilderna visar en starkt förändrad njurvävnad med riklig infiltration av lymfocyter (c) samt visst ödem och begynnande fibros i vävnaden. Fynden talar starkt för BK-virusinfektion vilket påvisas med immunfärgning (d). G = glomerulus.