

# Evaluation of HCMV on transbronchial biopsies in lung transplant recipients

**Cristina Costa<sup>1</sup>, Antonio Curtoni<sup>1</sup>, Francesca Sidoti<sup>1</sup>, Cinzia Balloco<sup>1</sup>, Franca Sinesi<sup>1</sup>, Elsa Piasentin Alessio<sup>1</sup>, Luisa Delsedime<sup>2</sup>, Paolo Solidoro<sup>3</sup>, Sergio Baldi<sup>3</sup>, Rossana Cavallo<sup>1</sup>**

*1 SC Virologia U*

*2 Anatomia Patologica, Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana*

*3 Divisione di Pneumologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria San Giovanni Battista di Torino*

**Key words:** Human cytomegalovirus; lung biopsy; lung transplantation.

**Determinazione di HCMV su biopsie transbronchiali nei pazienti sottoposti a trapianto di polmone**

**Running title: HCMV on TBB in lung transplantation**

## SUMMARY

**Introduction.** Human cytomegalovirus (HCMV) can cause direct and indirect effects in lung transplant recipients. Virological monitoring is usually performed by evaluation of viral load on bronchoalveolar lavage (BAL). However, few centers perform surveillance bronchoscopies with transbronchial biopsy (TBB) for investigating the occurrence of HCMV infection/disease, in addition to rejection. In this study, prevalence and clinical role of HCMV quantification on TBB have been studied.

**Methods.** HCMV has been quantified by real-time PCR on 87 serial TBB specimens from 30 lung transplant recipients (all receiving anti-HCMV prophylaxis) and on the corresponding BAL and whole blood specimens. Results have been related to available histopathological features (including pneumonia, acute rejection, chronic rejection) and immunohistochemistry.

**Results.** HCMV has been detected in 8%, 32.2%, and 16.7% of TBB, BAL, and whole blood specimens, respectively. Interstitial pneumonia has been diagnosed in 14.9% of cases, with a significant association to HCMV positivity on TBB (viral load  $10^3$ - $10^4$  copies/ $10^4$  cells), but not on BAL and whole blood. No significant association between HCMV positivity on TBB and acute or chronic rejection has been found, although previous episodes of HCMV pneumonia had occurred in two patients with chronic rejection.

**Conclusions.** Evaluation of HCMV on TBB could be useful to identify episodes of local reactivation with subsequent organ disease. Although sampling errors on TBB must always be considered, this could allow to overcome problems in BAL dilution. Surveillance TBB in lung transplant recipients allows for early identification of rejection episodes or HCMV reactivation, thus suggesting the initiation of antiviral therapy and optimizing clinical management.

## INTRODUZIONE

Il trapianto è l'unica terapia definitiva per numerose patologie broncopolmonari in stadio terminali. Il successo del trapianto di polmone è, tuttavia, limitato da complicanze infettive e dall'insorgenza di rigetto acuto o cronico (1). Tra gli agenti infettivi virali, il cytomegalovirus (HCMV) riveste un ruolo predominante. Infatti, nel trapianto di polmone, oltre agli effetti diretti (malattia sistemica e d'organo), HCMV è stato associato a effetti indiretti, quali predisposizione all'insorgenza di rigetto acuto e cronico. Due diverse strategie sono disponibili per evitare l'insorgenza di effetti diretti e indiretti da HCMV: la profilassi antivirale e la terapia pre-emptive, che consiste nella somministrazione del farmaco antivirale in caso di evidenza laboratoristica di infezione, ma in assenza di

sintomi. In questo contesto, la diagnosi precoce è fondamentale e richiede uno stretto monitoraggio virologico, che viene solitamente effettuato mediante valutazione della carica virale su lavaggio broncoalveolare (BAL) e sangue intero (HCMV-DNAemia) (2). Tuttavia, pochi centri eseguono bronchoscopia di sorveglianza con biopsia transbronchiale (TBB) per la valutazione sia del rigetto sia dell'infezione/malattia da HCMV. In questo studio sono stati valutati la prevalenza e il significato clinico della quantificazione di HCMV su TBB.

## MATERIALI E METODI

In un periodo di 18 mesi sono stati valutati 30 pazienti sottoposti a trapianto di polmone (18M/12F; età media  $\pm$  deviazione standard, 45.6

**Corresponding author: Cristina Costa**

S.C Virologia U, Azienda Ospedaliero Universitaria San Giovanni Battista di Torino

Via Santena, 9 - 10126 Torino - Tel.: 011 6705630/5640 - Fax: 011 6705648

E-mail: [cristina.costa@unito.it](mailto:cristina.costa@unito.it); [costa2@molinette.piemonte.it](mailto:costa2@molinette.piemonte.it)

± 18.1 anni). In base alla pratica del nostro centro, vengono eseguite broncoscopie di sorveglianza a 1, 3, 6, 9, 12, 18 e 24 mesi post-trapianto e annualmente in seguito. Ulteriori campioni vengono raccolti in base al giudizio clinico in pazienti con segni/sintomi di infezione e/o rigetto. Complessivamente nel periodo di studio sono state eseguite 87 procedure, 79 delle quali come sorveglianza (18 a > 1 anno dal trapianto). Ogni procedura è stata considerata come un singolo episodio. Nel corso della broncoscopia sono stati raccolti campioni concomitanti di BAL e TBB (numero totale 87 BAL e 87 TBB), in 48 casi era anche disponibile un campione concomitante di sangue intero. L'immunosoppressione è stata praticata mediante tacrolimus o ciclosporina (nei pazienti con fibrosi cistica come patologia di base), micofenolato mofetil e prednisone (successivamente ridotto o sospeso). La profilassi antivirale per HCMV è stata effettuata con ganciclovir e valganciclovir (450 mg x 2/die) dal giorno 21 post-trapianto per 3 settimane associata a HCMV-IgG ai giorni 1, 4, 8, 15 e 30 (1.5 ml/kg peso corporeo) e ogni mese fino a 1 anno post-trapianto (1 ml/kg peso corporeo), indipendentemente dal matching sierologico donatore/ricevente per HCMV. La carica virale di HCMV-DNA è stata valutata mediante real-time PCR (Q-CMV, Nanogen Advanced Diagnostic, Milan, Italy) utilizzando lo strumento 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Monza, Italy). Sono stati inoltre raccolti i dati istopatologici (comprendenti polmonite, rigetto acuto, rigetto cronico) e immunoistochimici. L'analisi statistica è stata effettuata con il test del chi quadro, il t test di Student e l'ANOVA, come appropriato, utilizzando un software statistico commerciale (MedCalc; versio 9.2.1.0). Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato significativo.

## RISULTATI

Complessivamente, 17 pazienti su 30 (56.7%) sono risultati positivi a HCMV in almeno un campione: sette TBB (8%), 28 BAL (32.2%) e otto (16.7%) campioni di sangue intero. I risultati sui differenti tipi di campioni sono riportati nella Tabella 1. Diagnosi di polmonite interstiziale è

stata posta in 13 TBB (14.9%) di 11 pazienti (36.7%). È stata riscontrata un'associazione significativa tra la positività per HCMV su TBB ( $p < 0.0001$ ), in contrasto con la mancanza di significatività in relazione alla positività su BAL. Diagnosi di rigetto acuto o cronico è stata posta, rispettivamente, in 17 e due pazienti, senza alcuna correlazione con la positività per HCMV su qualsiasi tipo di campione.

## DISCUSSIONE

La valutazione virale su TBB potrebbe rappresentare un utile strumento per identificare episodi di riattivazione locale con conseguente danno d'organo, come evidenziato dall'associazione tra polmonite interstiziale e HCMV positività solo su tessuto polmonare. Inoltre, l'introduzione della quantificazione virale su campioni di TBB potrebbe servire a superare i problemi di quantificazione su BAL (2), sebbene sussista comunque un problema di focalità del prelievo (3). Nessuna associazione significativa è stata riscontrata tra positività su qualsiasi tipo di campione e insorgenza di rigetto acuto o cronico. In conclusione, l'esecuzione di TBB di sorveglianza nei pazienti sottoposti a trapianto di polmone consente di identificare precocemente episodi di rigetto o riattivazione di HCMV, guidando quindi l'inizio della terapia antivirale e ottimizzando la gestione clinica dei pazienti.

## BIBLIOGRAFIA

1. Christie JD, Edwards LB, Aurora P, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fifth official adult lung and heart/lung transplantation report-2008. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27: 957-69
2. Bauer CC, Jaksch P, Aberle SW, et al. Relationship between cytomegalovirus DNA load in epithelial lining fluid and plasma of lung transplant recipients and analysis of coinfection with Epstein-Barr virus and human herpesvirus 6 in the lung compartment. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 324-8.
3. Chemaly RF, Yen-Lieberman B, Castilla EA, et al. Correlation between viral loads of cytomegalovirus in blood and bronchoalveolar lavage specimens from lung transplant recipients determined by histology and immunohistochemistry. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2168-72.

**Tabella 1.** Prevalenza e carica virale di HCMV su differenti tipi di campione in una popolazione di trapiantati di polmone. TBB, biopsia trans bronchiale; BAL, lavaggio broncoalveolare; N, numero; DS, deviazione standard.

	Pazienti (N = 30)	Campioni (N = 87)	Carica virale media ± DS (copie/10 <sup>4</sup> cellule)
<b>TBB</b>	7 (23.2%)	7 (8%)	5600 ± 12069
<b>BAL</b>	17 (56.7%)	28 (32.2%)	7400 ± 14739