

112387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CORRELACIÓN CLÍNICA DE INFECCIÓN POR
CITOMEGALOVIRUS (CMV) CON LA DETERMINACIÓN
CUANTITATIVA DE ANTIGENEMIA pp65 EN PACIENTES CON
TRASPLANTE DE ÓRGANOS SÓLIDOS

TESIS

PARA OBTENER TÍTULO EN LA
SUBESPECIALIDAD DE

INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DR. HUMBERTO ACOSTA SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ANTONIO H. ARBO SOSA

ASESOR:

M. C. JOSÉ LUIS SÁNCHEZ HUERTA



MÉXICO, D. F. AGOSTO 2005

0348733



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CORRELACIÓN CLÍNICA DE INFECCIÓN POR
CITOMEGALOVIRUS (CMV) CON LA DETERMINACIÓN
CUANTITATIVA DE ANTIGENEMIA pp65 EN PACIENTES CON
TRASPLANTE DE ÓRGANOS SÓLIDOS

TESIS

PARA OBTENER TÍTULO EN LA
SUBESPECIALIDAD DE

INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DR. HUMBERTO ACOSTA SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ANTONIO H. ARBO SOSA

ASESOR:

M. C. JOSÉ LUIS SÁNCHEZ HUERTA



SUBDIRECCIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.



AGOSTO

2005

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

AGRADECIMIENTO

Dedico este trabajo en especial a mi mamá que siempre ha confiado en lo que hago, y me ha apoyado en lo bueno y malo a través de todos estos años de estudio, así como a mi familia entera, de la cuál me he alejado demasiado tiempo por razones de trabajo y estudio, sin embargo quiero remediar eso ahora a mi regreso a casa y jamás volverme a separar de ella pues es lo más valioso que tengo.

A ti abuelita que ya no estás conmigo pero se que desde el cielo me estas cuidando.

A mis profesores, en especial al Dr. Jorge Romero Rosales, del cual siempre me acordaré y llevaré en mente sus consejos para ponerlos siempre en marcha.

Al Dr. Antonio Arbo Sosa, que siempre lo tendré en mente como un ejemplo en continuar actualizado en la medicina.

INDICE DE CONTENIDOS

	Páginas	
Introducción	1	
Antecedentes	4	
Justificación	17	
Objetivos	18	
Material y métodos	19	
Resultados	23	
Discusión	32	
Conclusiones	35	
Anexos	36	
Bibliografía	37	

INTRODUCCION

La infección por el virus de citomegalovirus (CMV) es frecuente en todas las poblaciones humanas; alcanza el 60 a 70% en la población urbana de las grandes ciudades de los Estados Unidos (1) y casi el 100% en algunas partes de Africa. La tasa de seropositividad en la población general varía de 30 a 70% en países desarrollados, y hasta un 100% en países en vías de desarrollo, basándose en las condiciones sociales, promiscuidad y hacinamiento (2, 3,4). En poblaciones como la mexicana, la prevalencia de anticuerpos totales contra CMV es de 70%. En México se han hecho estudios serológicos en la población abierta, en particular los realizados por Martín Sosa et al. en el estado de Chiapas y en la Ciudad de México, los cuales muestran seropositividad más alta que la registrada en Seattle y Dallas (2).

El CMV es un virus, que pertenece a la familia Herpesviridae subfamilia beta Herpesviridae, son virus DNA, es el virus más grande que infecta al hombre. El CMV se considera linfótrofo, contiene de 230 a 240 kb de DNA en su genoma, constituido por lo menos de 190 genes, le incluyen dos secuencias, una larga y una corta, unidas por secuencias repetidas vertidas relativamente y unidas entre sí. En consecuencia el genoma puede tomar 4 formas isoméricas. La partícula viral tiene una cápside de 110nm compuesta por 162 capsómeros. El virión está rodeado por una envoltura lipídica, dándole un diámetro final de aproximadamente de 200nm, contrastando con la definición tradicional de virus, que afirma que una partícula de virión contiene ADN o ARN, los estudios actuales indican que el CMV transporta ARNm en su partícula viral, que introduce en la célula para facilitar la infección (6, 7, 8).

En la mayoría de individuos sanos o inmunocompetentes el virus se replica y se elimina sin provocar síntomas. La replicación del CMV en las células epiteliales de los conductos facilita la secreción del virus en la mayoría de los líquidos corporales. El CMV está muy asociado a las células y se transmite por células infectadas, incluidos linfocitos y leucocitos. El virus se puede transmitir a otros individuos mediante transfusiones de sangre y trasplantes de órganos. La activación y replicación del virus en el riñón y en las glándulas secretoras facilita su transmisión por la orina y secreciones corporales, incluidos el semen y la leche. El CMV se puede aislar de la orina, sangre, lavados faríngeos, saliva, lagrimas, leche, semen, heces,

líquido amniótico, secreciones vaginales y cervicales y tejidos obtenidos para transplantes. Las vías congénita, oral, sexual, transfusión sanguínea y transplantes de tejidos, son las principales formas de transmisión del CMV. El CMV es un virus oportunista, que raramente origina síntomas en el hospedador inmunocompetente, pero que puede dar lugar a una enfermedad grave en el individuo inmunodeficiente (6, 7, 8, 41).

Las pruebas serológicas se recomiendan para evaluación pretransplante de donadores y de receptores. El diagnóstico serológico de la infección por CMV es subóptimo en comparación con las técnicas previamente mencionadas, pues muchos pacientes con cultivos positivos para CMV no muestran datos concordantes de seroconversión (30). Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa pueden encontrar ácido desoxirribonucleico (ADN) de CMV en leucocitos periféricos, suero, plasma y otras muestras clínicas.

El CMV también puede determinarse en muestras de tejido mediante inmunohistoquímica o por técnicas de hibridación del ADN. Las técnicas de cultivo celular en tubo y en shell vial se utilizan para tratar de aislar al virus a partir de líquidos corporales y tejido, con la desventaja que en los cultivos celulares en tubo se requiere un periodo de incubación de 7 a 21 días para que el CMV muestre su efecto citopático y en la técnica de cultivo rápido en shell vial puede determinarse la presencia de CMV después de 16h de incubación (26). La realización de antigenemia de CMV en leucocitos de receptores de transplante es por lo menos tan sensible como la técnica antes descrita, pero más rápida, proporcionando un marcador temprano de infección activa por CMV (27, 28, 29). La antigenemia es otro marcador potencial para terapéutica anticipada (preventiva), y en receptores de transplante de corazón se ha demostrado que tiene sensibilidad de 83% como marcador del desarrollo futuro de una infección sintomática por CMV, pero su desarrollo va precedido por sólo 5 días (31).

El virus se reactiva por inmunodepresión (ej., corticoides, infección por virus de la inmunodeficiencia humana) y posiblemente por estimulación alogénica (ej., respuesta del hospedador a las células transfundidas o transplantadas). Como otros miembros del grupo Herpes, el CMV tiene la particularidad de causar infección crónica, y esta característica contribuye a la estimulación de la inmunidad mediada por células en el control de la infección. La inmunidad mediada por células es esencial para solucionar y controlar el crecimiento excesivo de la infección por CMV (42, 43).

La necesidad de un diagnóstico previo de infección por CMV después del trasplante es de gran importancia. Tradicionalmente, el diagnóstico de infección tisular por CMV dependía de la identificación de los cuerpos de inclusión citomegálicos (25).

En los últimos años, las pruebas de antigenemia sanguínea y las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para CMV han reemplazado a los cultivos convencionales y en frasco- ampolla con cubierta (shell vial) en muchos centros estas últimas pruebas son más sensibles, en la mayoría de los estudios las pruebas se vuelven positivas aproximadamente de 1 a 2 semanas. La antigenemia de CMV proporciona información cuantitativa que se correlaciona con el desarrollo de síntomas al igual que la PCR también puede ser realizada en forma cuantitativa y con mayor especificidad (38, 39, 40).

ANTECEDENTES

Desde el decenio de 1960, se realizaron con éxito los primeros trasplantes de riñón así como el CMV humano se ha visto asociado a mayor número de infecciones oportunistas, además de las causadas por bacterias, hongos y *Pneumocystis jirovecii* (12, 13). En el decenio de 1970 se describió la importancia de una infección primaria por CMV, en comparación con la reactivación viral del huésped como factor predisponente primario de infección oportunista en pacientes que reciben trasplante de riñón y de corazón (14, 15). Desde entonces han surgido múltiples informes acerca de esta asociación y sus consecuencias sobre la morbilidad y mortalidad posterior al trasplante de órganos (11, 16). La aplicación de procedimientos estadísticos más estrictos (análisis dependientes del tiempo) a los posibles factores de riesgo postrasplante de órganos sólidos han favorecido a la identificación clara del CMV como factor de riesgo significativo de infecciones oportunistas independientes de la inmunosupresión subyacente inducida por fármacos o tratamiento antirrechazo. Mediante dichos estudios epidemiológicos se ha demostrado que CMV es un factor de riesgo de infección bacteriana y micótica en pacientes con trasplante hepático (17).

La importancia del CMV en receptores de trasplante de órganos es muy diferente a la que tiene este patógeno en un sujeto normal. En los receptores de trasplante, el CMV es el patógeno oportunista más común. La infección por CMV ocurre de ordinario uno a cuatro meses después del trasplante y puede ser consecuencia de primoinfección en receptores sin contacto previo con el virus, de reactivación de una infección latente o de superinfección con una cepa viral con características moleculares distintas a las de la cepa que portaba el individuo previamente infectado (18, 19). En ausencia de profilaxis entre el 25 y el 80% de los receptores de un trasplante de órganos sólidos desarrollarán una infección por CMV que será sintomática en 8 a 41 días % de estos pacientes. Siendo máxima la incidencia en los trasplantes de pulmón (33, 35, 36).

Cada población de pacientes trasplantados es diferente, en términos del tratamiento inmunosupresor y de la profilaxis antimicrobiana que reciben, aunque los programas de inmunosupresión empleados en los distintos tipos de trasplante de órganos son similares, con

ciclosporina o tacrolimus como base de tratamiento. Esto hace que los patrones y la cronología del tipo de infecciones sean similares en los distintos trasplantes (33, 34).

Las infecciones que inciden en pacientes que reciben un trasplante de órgano sólido o de precursores hematopoyéticos, presentan una cronología relativamente constante. Esta cronología se ha establecido en lo referente a ambos tipos de trasplantes respectivamente. La mayor parte de las infecciones que causan algunos virus y parásitos está determinada por el antecedente de infección tanto del donador como del receptor (9).

Para las infecciones virales y algunas parasitarias, la combinación de mayor riesgo para el desarrollo de enfermedad es D+/R-, en la que el receptor es seronegativo respecto a la infección en cuestión y adquiere ésta a partir del órgano donado. En general, las primoinfecciones que ocurren poco después del trasplante son de mayor gravedad que las reactivaciones (10).

El trasplante de órganos sólidos se ha consolidado como un tratamiento rutinario para los niños afectados de insuficiencia de estos órganos en estado terminal, gracias a los avances en las técnicas quirúrgicas y al desarrollo de fármacos inmunosupresores eficaces. Sin embargo, la alteración del sistema inmunitario producida por estos fármacos, necesaria para evitar el rechazo del órgano trasplantado, trae consigo la aparición de complicaciones que pueden llegar a afectar la supervivencia de los pacientes, y que son responsables de una considerada morbilidad. Fundamentalmente, estos niños van a presentar un riesgo aumentado de complicaciones infecciosas, y un aumento de incidencia de patología tumoral. Además, en ocasiones, el mismo fármaco inmunosupresor va a poder ser responsable directo de problemas clínicos, relacionados con la toxicidad del fármaco, entre otros factores de infección están las complicaciones quirúrgicas, factores implicados y epidemiológicos del hospedero (32, 33).

El tiempo transcurrido desde la realización del trasplante va a condicionar la presentación de tipos diferentes de infección. De forma general se consideran tres periodos: el primer mes postransplante, entre el segundo y el sexto mes, y después del sexto mes. Esta diferenciación puede ser útil para establecer un diagnóstico diferencial, orientar al tratamiento y ayudar en el diseño de estrategias preventivas (33, 34).

La infección viral más común durante el primer mes después del trasplante es la reactivación de la infección del virus herpes simple (VHS). El uso profiláctico con aciclovir durante este mes, reduce significativamente la incidencia de esta infección. El periodo del segundo mes a el sexto mes después del trasplante es el tiempo durante el cual las infecciones clásicas asociadas con trasplante llegan a ser manifiestas, siendo los patógenos oportunistas más comunes el CMV, *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus* species, *Nocardia* especies, *Toxoplasma gondii* y *Listeria monocytogenes*. CMV, virus de Hepatitis B (HBV), virus de Hepatitis C (HCV) y adenovirus frecuentemente ocurren dentro de los 30 a 60 días después del trasplante. Después de los 6 meses del trasplante, padecerán de algunas infecciones vistas en la comunidad en general (33, 34).

Por otro lado, en la experiencia con los pacientes receptores de trasplante se observa que inmediatamente después de iniciar la terapia inmunosupresora presentan una disminución considerable en la inmunidad mediada por células. En este tipo de pacientes el CMV es el patógeno oportunista detectado con mayor frecuencia, y se ha considerado una de las causas principales de morbilidad tras el trasplante de órganos sólidos y de médula ósea (3, 11). La morbilidad debida a la infección por CMV aumenta en los casos de primoinfección, cuando un receptor seronegativo recibe un órgano de un donador seropositivo, debido a la total ausencia de respuesta de inmunidad y bloqueo farmacológico para el desarrollo de la misma. Esta situación es rara sobre todo en países en desarrollo, donde la frecuencia de infección por CMV es muy alta. Por esta razón, la mortalidad global asociada a CMV es mayor en casos de reactivación, que son mucho más frecuentes (19). Consecutivamente, en estos pacientes las infecciones por CMV frecuentemente pueden ser sintomática y ocasionalmente fatales (47).

Hay identificados tres fuentes potenciales de infección por CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos: el órgano donador, transfusión de productos sanguíneos de un donador seropositivo, y la reactivación endógena del virus (45, 46).

Los factores que contribuyen a la aparición de una infección por CMV después del trasplante son diversos; entre ellos destacan, previos al trasplante:

a) Falta de inmunidad específica en el huésped, es decir, ausencia de infección primaria o bien presencia de infección latente con respuesta de inmunidad muy limitada.

b) Presencia de infección latente en el donador, especialmente en pulmón, hígado, riñón, corazón, páncreas, cerebro e ileon.

Durante el trasplante:

a) Presencia de un órgano portador de la infección y uso múltiple de productos sanguíneos. b) Durante la inmunosupresión, en especial la dependiente del tipo de medicamentos y la secuencia con que se utilizan.

Se ha observado que los agentes citotóxicos y los anticuerpos monoclonales o policlonales antilinfocitos (OKT3) se asocian a la reactivación del virus latente, en tanto que la ciclosporina y la ripamicina, así como el FK56, se relacionan con aumento de la duplicación viral, tal vez como efecto directo contra los linfocitos T citotóxicos específicos para CMV (LTC de CMV específicos) y que dependen de la presentación de antígenos por el complejo principal de histocompatibilidad tipo MHC-clase I (20, 21, 22).

Aunado a su efecto citopático directo, el CMV interfiere con el sistema de inmunidad del huésped, lo que predispone al paciente a una variedad de síndromes de gran efecto sobre el curso postrasplante. Es bien conocida la asociación entre infección por CMV y rechazo agudo y crónico del injerto, así como la sobreinfección por otros microorganismos oportunistas patógenos, pero aún queda por determinar si el estado inmunosupresor elevado es resultado directo de la infección por CMV, o si la infección por CMV y otros microorganismos oportunistas se deriva de inmunosupresión más notable inducida por fármacos (11).

Patel y Paya reportan una incidencia de infección por CMV en pacientes postrasplante hepático 22-29%, renal 8- 32%, corazón 9- 35%, pulmón y pulmón/corazón 53- 75%, páncreas y renal/páncreas 50% (49, 59).

En receptores de trasplante, el CMV causa en forma directa neumonía, alteraciones gastrointestinales, daño hepático, problemas hematológicos y retinitis entre otras. Es claro que el CMV tiene mayor efecto patógeno sobre el órgano transplantado que sobre órganos nativos. Esto tal vez se deba a una conjunción de factores, como el sinergismo entre los efectos del virus y del rechazo, la alta carga viral que por lo general aparece en el órgano transplantado, el cual a su vez actúa como sitio de secuestro viral en donde los LTC, que son

restringidos en su acción por la presencia de antígenos del MHC, no reaccionan por haber desigualdad de estos antígenos con los del receptor del trasplante (23, 24).

Las manifestaciones clínicas de infección son variables y dependen del patógeno infectante, el estado inmune previo del huésped, el tiempo transcurrido desde el trasplante, el nivel de inmunosupresión farmacológica y muchos otros factores. Los receptores de riñón sin exposición anterior al citomegalovirus que reciben riñones de donantes seronegativos para el CMV y no reciben transfusiones sanguíneas presentan muy bajo riesgo de infección por CMV (37).

Ha sido descrito que en los seres humanos infectados con CMV, la enfermedad es variable, desde la ausencia de enfermedad en el huésped inmunocompetente hasta la presentación de un síndrome mononucleósico que se caracteriza por malestar, fiebre, alteraciones leves en las pruebas de función hepática y linfocitosis con presencia de linfocitos atípicos que ocurre en el 10% aproximadamente de los pacientes adultos. La infección por CMV llega a comprometer diversos órganos entre los que incluye corazón, pulmones, sangre, piel, tracto gastrointestinal, y sistema nervioso central, con frecuencia fatal (47, 48). Hay reportes en la literatura mundial (MEDLINE) de 34 casos de infección severa por CMV en pacientes inmunocompetentes, 15 de los cuales fallecieron (48).

El tiempo que transcurre para el inicio de las manifestaciones clínicas por CMV después de un trasplante hepático es similar a aquel de otros trasplantes de órganos sólidos. El tiempo medio para infección por CMV es de 28 días (rango 2 semanas a 5 meses) y enfermedad por CMV 43 días después del trasplante. Los síntomas pueden ser diversos desde leves hasta fatales. La fiebre es la manifestación más común y ocurre en 66% aproximadamente de los pacientes. El síndrome mononucleósico (anorexia, mialgias, artralgias y anomalías hematológicas) es ocasionalmente observado, así como alteraciones tardías como la leucopenia, trombocitopenia y la presencia de linfocitos atípicos. La hepatitis se ve en el 17% de los pacientes con trasplante hepático y en más del 50% de los pacientes con infección primaria por la combinación de (D +/R -). La evidencia bioquímica de hepatitis por CMV consiste en elevación de niveles de aminotransferasas o un síndrome colestásico con elevación de las bilirrubinas séricas, fosfatasa alcalina y aminotransferasas, pero el diagnóstico requiere de una biopsia hepática. Encontrándose usualmente microabscesos o

microgranulomas o infiltrado celular crónico. Otros órganos que pueden estar involucrados son los pulmones, tracto gastrointestinal y la retina (usualmente 6 meses después del trasplante) (43).

En el caso de pacientes postrasplantados hepáticos A. D. Badley y col. de 126 pacientes postrasplante, fueron monitorizados por hemocultivos en ausencia de terapia antiviral profiláctica o tratamiento para viremia, de los cuales 58% desarrolló infección por CMV, y 29% tuvo más de un episodio infeccioso, el 23% tuvo compromiso orgánico y 35% presentaron viremia (50).

En los pacientes que reciben trasplante cardíaco las neumonías son la causa más común y severa de infección, siendo una de las causas más frecuentes la infección por CMV, *Pneumocystis carinii* y *Legionella pneumophila*. Las neumonías después del trasplante son frecuentemente polimicrobianas. El CMV es el microorganismo que con mayor frecuencia causa neumonía, con un 23- 32% de los casos en diversos estudios. Siendo en decremento la neumonía por CMV. Gracias al diagnóstico y tratamiento anticipado se ha visto un decremento en las neumonías causadas por CMV (56, 57, 58). La importancia de viremia como un factor de riesgo para el desarrollo de neumonía por CMV es controversial, en contraste, la viremia ha sido identificada como un factor predisponente para neumonía por CMV en receptores de trasplante hepático (50).

La enfermedad por CMV en los receptores de trasplante renal, tiene un mayor impacto en morbilidad y mortalidad. Sin embargo el 20- 60% de receptores de trasplante renal desarrolla enfermedad sintomática por CMV, usualmente dentro de los primeros 3 meses después del trasplante renal, y el 60 a 90% de todos los candidatos a trasplante renal, tienen la infección por CMV en estado de latencia (53, 54, 55). La incidencia de enfermedad por CMV no difiere significativamente entre pacientes receptores seropositivos de donadores seropositivos y aquellos que recibieron de donadores seronegativos. Esto en contraste con un estudio por Erikson y col. en el cual la enfermedad por CMV ocurrió significativamente más frecuente en pacientes receptores seropositivos que recibieron órganos positivos CMV (52).

En los receptores de trasplante de médula ósea, la neumonía por CMV es la complicación infecciosa mortal más frecuente post-trasplante (4).

En pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida, el CMV es el patógeno viral más frecuente (5, 51). J. Allen McCutchan reportó que el CMV ha sido implicado en 5 distintos síndromes neurológicos en pacientes con SIDA: retinitis, mielitis/polirradiculoneuropatía, encefalitis con demencia, ventriculoencefalitis y mononeuritis múltiple, la retinitis por CMV es la infección que pone en riesgo la visión con mayor frecuencia, incluso en la era del tratamiento antirretroviral de alta actividad. Retinitis por CMV es la infección neurológica oportunista más común del 12- 46% de los pacientes con SIDA (51).

En los últimos años, las pruebas de antigenemia sanguínea y las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para CMV han reemplazado a los cultivos convencionales y en frasco- ampolla con cubierta (shell vial) en muchos centros estas últimas pruebas son más sensibles, en la mayoría de los estudios las pruebas se vuelven positivas aproximadamente de 1 a 2 semanas. La antigenemia de CMV proporciona información cuantitativa que se correlaciona con el desarrollo de síntomas al igual que la PCR también puede ser realizada en forma cuantitativa y con mayor especificidad (38, 39, 40).

Las pruebas serológicas se recomiendan para evaluación pretransplante de donadores y de receptores. El diagnóstico serológico de la infección por CMV es subóptimo en Crece bien en cultivo de fibroblastos y es muy lábil al calor. Su vida media a 37°C es de unos 60 minutos y permanece estable a <90°C en presencia de sorbitol al 35%, por lo que las muestras deben trasladarse en hielo seco hasta llegar al laboratorio. El CMV se replica sólo en células humanas. Los fibroblastos, células epiteliales, macrófagos y otras células permiten la replicación del CMV. El CMV establece una infección latente en linfocitos mononucleares, las células del estroma de la médula ósea y otras células. Se conocen varios serotipos del CMV que guardan relación con reinfección. La patogénesis del CMV es similar en muchos aspectos a la de otros virus herpes. El CMV establece fácilmente infecciones persistentes y latentes, habitualmente sin provocar síntomas claramente definibles, en los leucocitos mononucleares y en órganos como los riñones y el corazón. En comparación con las técnicas previamente mencionadas, pues muchos pacientes con cultivos positivos para CMV no muestran datos concordantes de seroconversión (30). Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa pueden encontrar ácido desoxirribonucleico (ADN) de CMV en leucocitos periféricos, suero, plasma y otras muestras clínicas.

El CMV también puede determinarse en muestras de tejido mediante inmunohistoquímica o por técnicas de hibridación del ADN. Las técnicas de cultivo celular en tubo y en shell vial se utilizan para tratar de aislar al virus a partir de líquidos corporales y tejido, con la desventaja que en los cultivos celulares en tubo se requiere un periodo de incubación de 7 a 21 días para que el CMV muestre su efecto citopático y en la técnica de cultivo rápido en shell vial puede determinarse la presencia de CMV después de 16h de incubación (26). La realización de antigenemia de CMV en leucocitos de receptores de trasplante es por lo menos tan sensible como la técnica antes descrita, pero más rápida, proporcionando un marcador temprano de infección activa por CMV (27, 28, 29). La antigenemia es otro marcador potencial para terapéutica anticipada (preventiva), y en receptores de trasplante de corazón se ha demostrado que tiene sensibilidad de 83% como marcador del desarrollo futuro de una infección sintomática por CMV, pero su desarrollo va precedido por sólo 5 días (31).

Los anticuerpos IgG contra CMV pueden ser determinados en suero por diferentes métodos incluyendo fijación de complemento, hemaglutinación, ELISA o por inmunofluorescencia indirecta. La presencia de IgG en una muestra de sangre implica que el paciente en algún tiempo fue infectado por CMV y por otro lado, una IgG negativa es una buena evidencia d que no ha habido infección previa, ya que el anticuerpo IgG generado durante una infección primaria se encuentra presente durante toda la vida. Sin embargo los pacientes inmunocomprometidos pueden carecer de la capacidad para formar anticuerpos IgG e IgM reportándose como seronegativos a pesar de que en realidad infectados o tengan enfermedad. Un incremento en el título basal de anticuerpos IgG mayor o igual a 4 veces no es diagnóstico de infección primaria, ya que la reactivación también puede inducir títulos elevados y por lo tanto no es específica (62).

La infección primaria se demuestra por la presencia de IgM contra CMV en sangre. Los anticuerpos IgM pueden ser determinados por radioinmunoensayo o anticuerpos fluorescentes, sin embargo, puede haber resultados falsos positivos con otras infecciones por herpes, o en caso de factor reumatoide positivo. La presencia de IgM positiva indica que la infección es reciente, pero puede estar presente hasta 6 meses después que ocurrió el contacto inicial. Las limitaciones para su uso como método diagnóstico radican en que carecen de

correlación clínica con la presencia de enfermedad y solo puede decirse que hubo o existe infección (63).

La reacción de cadena de la polimerasa usada para la amplificación selectiva de secuencias de ácidos nucleicos ha sido utilizada como una técnica diagnóstica por su extrema sensibilidad y especificidad para detectar el DNA viral de CMV (64). Tiene la habilidad para detectar hasta un número mínimo de copias de DNA de CMV, sin embargo no puede diferenciar entre la replicación y la presencia del virus en forma latente, esta limitación puede ser eliminada por el uso de condiciones estrictas y a una menor amplificación de ciclos para cuantificación de carga viral (65).

Actualmente se conocen varios protocolos de detección de CMV por PCR. En un estudio realizado por T. H. The y colaboradores encontraron que la determinación por PCR tiene una sensibilidad del 91% al 100% para detectar infección y de un 95 a 100% para detectar enfermedad, la antigenemia detectó en este estudio 85 a 100% la presencia de infección y en un 95 a 100% la presencia de enfermedad. Por lo que la sensibilidad y especificidad de la antigenemia y el PCR son comparables y tiene alto valor predictivo durante el inicio de la infección sintomática y puede realizarse cuando la determinación de la antigenemia sea difícil debido a una escasa cuenta de neutrófilos (neutropenia) (28).

La PCR puede identificar un número de copias de 50 a 400 000 en 1 000 000 leucocitos (66). En dos estudios reportados la antigenemia y la PCR fueron más sensibles que el cultivo para la detección de viremia, aunque la antigenemia fue más específica que ambos (59, 67).

El aislamiento de CMV de tejidos, o de secreciones corporales, se ha considerado el estándar de oro para el diagnóstico, sin embargo, el cultivo convencional requiere un tiempo prolongado de 2 a 3 semanas para confirmar el efecto citopático e inferir la replicación viral. Desafortunadamente en el paciente inmunocomprometido la prueba no puede esperar tanto, debido a la progresión grave de la enfermedad que puede existir en este tipo de pacientes. Por lo tanto no se sugiere para ser usada como diagnóstico temprano (59).

En cuanto a la técnica de shell vial, que es un cultivo de tejidos en el cual se pueden obtener resultados positivos en 24 a 48h postinoculación de la muestra. En estos casos debemos contar con el antígeno CMV viables en la muestra. Una de las principales ventajas de estas pruebas se aplica a pacientes con infección sintomática por CMV, en donde es más probable que se obtengan cultivos positivos que serología positiva Ig-CMV (60, 61). Cuando se les

compara (Shell vial y tubo convencional) con la determinación de antigenemia pp65, ésta es más sensible, hasta en un 40% a 50% más que ellos dos. Estudios comparativos de ambos métodos de cultivos, han informado una sensibilidad de 44% y 46% respectivamente, aunque los métodos realizados simultáneamente y evaluados como uno solo tiene una especificidad similar a la de la antigenemia pp65, que es cercana al 100% (60).

PREVENCION Y TRATAMIENTO

La infección por CMV es una de las complicaciones infecciosas más frecuentes en los receptores de trasplante de órganos. Existen tres principales complicaciones derivadas de la infección por CMV en estos pacientes y son la propia enfermedad viral, la posibilidad de adquirir otras infecciones oportunistas y el daño del injerto, bien como consecuencia de la propia invasión viral o por la facilidad de ciertas formas de rechazo, siendo imprescindible el esfuerzo importante en la búsqueda de medidas eficaces para su control. Existiendo algunas diferencias en cuanto a la frecuencia, gravedad y formas de presentación clínica de la infección por CMV en los receptores de los diferentes órganos, del mismo modo los factores de riesgo que modifican la frecuencia y gravedad de la infección en los receptores son la intensidad del tratamiento inmunosupresor y el estado serológico pretrasplante ante el CMV de donador y receptor (69, 71, 72). Varios estudios en diferentes poblaciones de pacientes con trasplante han demostrado la eficacia del Ganciclovir (5 mg/kg/12h, I.V, durante 2 a 3 semanas) en el tratamiento de la enfermedad establecida por CMV. En 50 a 90% de los enfermos se observa respuesta clínica satisfactoria. Algunos autores han demostrado que en el 15 a 20% de los casos de enfermedad por CMV tratados inicialmente con éxito con Ganciclovir ocurren recidivas en etapa temprana después de suspender el antiviral, aunque casi todos vuelven a responder al fármaco (73).

Los tipos de tratamiento son los siguientes: *uso terapéutico*: tratamiento basado en la presencia de infección establecida; *uso profiláctico*: uso de tratamiento temprano en el momento posible; *uso preventivo*: tratamiento antimicrobiano antes de presentar signos clínicos de infección, guiado por clínica o características epidemiológicas; *terapéutica diferida*: iniciación de tratamiento después de iniciada la enfermedad, guiado por laboratorio u otros marcadores (70).

Tradicionalmente, el tratamiento antimicrobiano se administra con fines preventivos o curativos. La denominada terapéutica anticipada o preventiva constituye una vía intermedia, en la que se aplica un auténtico tratamiento sólo a pacientes con mayor riesgo de padecer infección sintomática por CMV. Su ventaja de ello reside en la administración en fases tempranas de la reactivación viral en las que el progreso clínico puede detenerse con mayor facilidad (74).

El aciclovir fue el primer antiviral evaluado para prevenir la enfermedad por CMV en el receptor de trasplante de médula ósea. Meyer et al. demostraron la eficacia moderada de la administración de aciclovir intravenoso a dosis elevadas para reducir la ocurrencia y gravedad de neumonitis por CMV en esta población (68). Sin embargo, el Ganciclovir I.V (I.V Gcv) es el tratamiento de elección. Los preparados de hiperinmunoglobulina anti-CMV son utilizados en receptores seronegativos de órganos seropositivos; Foscarnet puede ser considerado como terapia de rescate en caso de falla con Gcv, siendo su principal limitación la nefrotoxicidad. Para el trasplante de órgano sólido, la prevención con Ganciclovir se puede hacer en forma de profilaxis clásica: mediante administración del fármaco a todos los pacientes, o bien como terapéutica anticipada (preventiva) dirigida sólo a quienes demuestren infección subclínica, y a partir de la determinación de la misma (69, 70).

En la profilaxis clásica, se ha evaluado extensamente el Ganciclovir para la prevención de infecciones por CMV en el paciente con trasplante. En sí los resultados de los diferentes estudios publicados son difíciles de interpretar, dada la variedad de regímenes, dosis y controles utilizados, sin embargo se puede concluir que la administración de Gcv parenteral ha demostrado ser eficaz para prevenir la infección sintomática por CMV en varios tipos de trasplante. Como regla general, la eficacia es mayor cuanto más prolongada sea la duración de la profilaxis, existiendo ciertos inconvenientes de la profilaxis. El primero es la toxicidad, a nivel medular y renal, el segundo es la necesidad de mantener un acceso vascular durante un tiempo prolongado, el tercero consiste en la posibilidad de seleccionar cepas resistentes, sobre todo cuando se prolonga el tratamiento durante meses (75).

En lo que respecta a la terapéutica anticipada se ha usado para prevenir la infección sintomática por CMV con apoyo de algunos marcadores de laboratorio (centrifugación y cultivo rápido en frascos; antigenemia) o alguna característica del sujeto (uso de sueros

antilinfocíticos). Esto permite descubrir a los pacientes e incluso definir el momento de máximo riesgo de enfermedad clínica. Esta estrategia tiene importantes ventajas con respecto de la profilaxis clásica en general y administrada de manera fija en el periodo inmediato postrasplante. La limitada experiencia existente en cuanto a la terapéutica anticipada con Gcv I.V. ha demostrado ser claramente útil en un caso concreto; la prevención de la enfermedad por CMV en pacientes tratados con sueros antilinfocíticos. Entre los marcadores más sensibles y precoces de la infección viral subclínica, como la antigenemia o las técnicas de biología molecular (PCR cuantitativa), sirven de guía en este tipo de estrategia profiláctica (69). Las ventajas teóricas del tratamiento anticipado (preventivo) sobre la profilaxis clásica por el uso de antivirales para prevenir la infección por CMV en receptores de trasplante, se encuentra: 1) Dirigir la prevención sólo a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad; 2) Efectuar la prevención en el momento de mayor riesgo; 3) Limitar la toxicidad; 4) Reducir los costos; 5) Disminuir la selección de cepas resistentes.

La posible utilidad de una vacuna capaz de inducir una respuesta de inmunidad anti CMV dependerá de que la enfermedad final tienda a ser más leve en sujetos seropositivos. Plotkin et al. evaluaron la eficacia de una vacuna de virus vivo atenuado (cepa Towne) en la prevención de la enfermedad por CMV en receptores seronegativos que recibían un riñón de un donador seropositivo (76). Después de demostrar la inmunogenicidad y seguridad de la vacuna, aunque esta no fue capaz de disminuir significativamente las cifras globales de enfermedad por CMV, sí lo fue para atenuar la gravedad de los síntomas lo que ofreció protección parcial contra la infección. Actualmente se están fabricando vacunas contra CMV a partir de proteínas recombinantes de las glucoproteínas de envoltura del virus (gB, gH), pero de momento no se han evaluado en esta población. En lo que respecta al uso de inmunoglobulina intravenosa se han probado con éxito variable, con el fin de incrementar los títulos de anticuerpos neutralizantes en la prevención de la infección por CMV en pacientes con trasplante, las preparaciones proceden de donadores no seleccionados (globulina gamma convencional), o bien de donadores seleccionados por su elevado título de anticuerpos contra CMV (globulina gamma hiperinmunitaria anti- CMV o GH-CMV) que suelen tener un título de anticuerpos cuatro a ocho veces superior a las preparaciones convencionales. Diversos autores señalan que las preparaciones de inmunoglobulinas tienen sólo eficacia moderada para prevenir la infección sintomática por CMV en quienes reciben trasplante de órgano sólido. Esta eficacia es mayor en el caso de trasplante renal (incluso receptores seronegativos

de donadores seropositivos, parecen beneficiarse) y menor en las restantes modalidades de trasplante, en donde tal vez sólo los pacientes seropositivos (y no tratados con sueros antilinfocíticos) se beneficiarían de su uso. Un inconveniente importante de las preparaciones de Ig es su elevado costo. Los efectos secundarios son muy bajos y su administración es cómoda (en general seis a ocho dosis durante los primeros meses postrasplante (77).

JUSTIFICACION

- El diagnóstico de infección por CMV en pacientes trasplantados requiere demostración de replicación viral.

- Las pruebas serológicas exhiben una limitación inaceptable en pacientes trasplantados para el diagnóstico de reactivación viral o de una nueva infección.

- El método ideal debe ser seguro, rápido y ampliamente disponible.

- La rapidez y especificidad en el diagnóstico de infección por CMV es importante por las siguientes razones:

1- Si no se diagnostica oportunamente la infección por CMV, podría causar retraso en el inicio de un tratamiento oportuno, por la confusión clínica de infección por CMV con otras infecciones virales.

2- Las manifestaciones de infección por CMV pueden confundirse con signos de rechazo del trasplante.

3- La enfermedad por CMV puede desencadenar rechazo del órgano trasplantado, o enfermedad grave de diferentes órganos y sistemas, que incluso puede llevar a la muerte si no se diagnostica y trata oportunamente.

La detección oportuna y temprana del antígeno pp65, representa un método universalmente aceptado para el diagnóstico precoz de infección por CMV.

No se ha determinado en población mexicana los niveles de antigenemia pp65 que pudieran correlacionarse con la presencia de infección sintomática o asintomática por CMV.

OBJETIVOS

- 1- Determinar la prevalencia de infección y enfermedad por CMV en una población niños con trasplante de órganos sólidos.
- 2- Determinar la correlación entre la presencia clínica de infección por CMV y la determinación cuantitativa de la antigenemia pp65 en una población de niños con trasplante de órganos sólidos.
- 3- Evaluar el efecto de la profilaxis con Ganciclovir sobre la incidencia de infección asintomática y sintomática por CMV.

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un estudio clínico, observacional, transversal, descriptivo, retrospectivo y retrolectivo, donde se estudió a pacientes hospitalizados en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” en el periodo comprendido de 1999 al 2004.

Criterios de inclusión:

- 1- Pacientes trasplantados de órganos sólidos (renal, cardíaco, pulmonar y hepático).
- 2- Cualquier género y edad.
- 3- Tengan realizada mas de determinación de antigenemia pp65 y hayan sido monitorizados por lo menos durante 3 meses posterior al trasplante.
- 4- Hayan sido hospitalizado en el hospital Infantil de México del 1999 al 2004.

Criterios de exclusión:

- 1- Trasplantados de médula ósea.
- 2- Pacientes con VIH.
- 3- Expedientes clínicos incompletos.

Criterios de eliminación:

- 1- pacientes en quién no se haya realizado determinación de antigenemia pp65 de CMV.

Los datos fueron recolectados en una ficha de recolección de datos. Las fuentes de obtención de información: revisión del expediente clínico del cual se extraerán las variables del anexo I y resultados de prueba de antigenemia pp65 del laboratorio de virología. Se emplearon medidas de tendencia central; para la comparación de proporciones se utilizó la χ^2 ; para contrastar valores ordinales se utilizó la t de Student o la U- Mann Whitney (según distribución simétrica o asimétrica); y para la correlación se utilizó la r de Pearson.

Definición operativa de variables:

- 1- **Infección activa asintomática:** Se considerará cuando los datos clínicos y paraclínicos (Rx. de Tórax, pruebas de funcionamiento hepático o renal, estudio endoscópico, gasometría

arterial, estudio histopatológico de la biopsia del órgano afectado o autopsia) descartan la presencia de alteración orgánica y el resultado de antigenemia pp65 es positivo.

2- Infección activa sintomática o enfermedad por CMV: Se considerará cuando los datos clínicos y paraclínicos sugieren evidencia de enfermedad en algún órgano (síndrome CMV, neumonía, hepatitis, nefritis, enfermedad gastrointestinal o del SNC, miocarditis, entre otras), Pulmón (Neumonitis: Rx de tórax, opacidad intersticial y/o PaO₂ <50 mmHg), Hígado (Hepatitis, transaminasemia, con o sin bilirrubinemia, colestasis), Tubo digestivo (Esofagitis, gastroenteritis, colitis (Síntomas clínicos: dolor abdominal, náuseas y/o vómitos, diarrea o alteraciones en la endoscopia: eritema, mucositis o úlceras), Ojos (Retinitis, visión borrosa, hallazgos confirmatorios por oftalmoscopia); en las que se excluyeron otras causas y el resultado de antigenemia pp65 sea positivo

- Probable

- Definitivo (corroborado por pruebas histológicas)

**** Síndrome por CMV:**

- Probable: Uno o más de los siguientes: Fiebre >38°C, leucopenia, linfocitos atípicos >5%, trombocitopenia, elevación de transaminasas (>2 veces de lo normal) y antigenemia pp65 positivo.

- Definitiva: Anterior sin encontrar otras causas de signos o síntomas identificados.

3- Ausencia de infección: Serán aquellos casos en los que estarán ausentes todos los datos clínicos que se incluyen en las definiciones de enfermedad y la determinación de antigenemia pp65.

Prueba de antigenemia pp65

La antigenemia pp65 para citomegalovirus (CMV), es un método inmunohistoquímico que consiste en la tinción indirecta de polimorfonucleares con anticuerpos monoclonales dirigidos contra la fosfoproteína de 65 kDa del CMV (Clonab CMV; Biotest Diagnostics Corporation, Denville, NJ). Tanto la replicación como el ensamble de los nuevos virus, se lleva a cabo en el núcleo de las células, y la proteína blanco del anticuerpo es una de las denominadas estructurales o tardías y de las más abundantes en el espacio existente entre la envoltura y la

cápside, espacio denominado tegumento o matriz, por lo que el patrón de tinción esperado es de tipo nuclear, es una técnica cuantitativa y los resultados se expresan como el número de leucocitos que expresan el antígeno respecto a un número determinado de leucocitos que se colocan en el portaobjetos en el que se realiza la prueba (79).

La determinación cuantitativa de la antigenemia pp65 de CMV consiste en 4 pasos:

- 1-Aislamiento de los leucocitos y preparaciones de portaobjetos.
- 2-Fijación.
- 3-Tinción.
- 4-Lectura.

1.- Aislamiento de leucocitos y preparación de portaobjetos:

La cantidad mínima necesaria para la determinación es de 3 a 5 ml de sangre periférica y el anticoagulante de elección es el ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Para la separación de leucocitos, la muestra se deja sedimentar durante media hora a temperatura ambiente o se realiza una centrifugación a 1000 g durante 10 minutos. El plasma rico en leucocitos es separado en un tubo de centrifuga de 15 ml y es centrifugado a 3000 g durante 10 minutos para obtener el plasma libre de leucocitos, el botón de leucocitos es resuspendido con una solución de cloruro de amonio al 0.8 % y posteriormente lavados con amortiguador salino de fosfatos (PBS). Contar en cámara de Neubauer y ajustar a una suspensión de 2000, 000 de células por ml, agregar 100 microlitros (200,000 células) de la suspensión para cada portaobjetos y centrifugar a 2500 g durante 5 minutos en una citocentrifuga. (Hettich, Rotofix 32).

2.- Fijación:

Una vez obtenidas las laminillas, el botón de células se deja secar a temperatura ambiente y se continua con el procedimiento de fijación con una solución de formaldehído al 5%. Posteriormente, se aplica un tratamiento de permeabilización con Nonidet P-40, enjuagar con PBS.

3- Tinción:

Secar los portaobjetos al aire y prepararlos para la tinción, agregando 25 ul de anticuerpo anti-pp65 de CMV (Clonab CMV; Biotest Diagnostics Corporation, Denville, NJ) diluido 1:10 en PBS sobre el botón de células e incubar en cámara húmeda durante 35 minutos a 36.5°C. Sacarlas del la incubadora y colocarlas en un vaso de coplin con PBS frío durante 5 minutos. Secar al aire, prepararlas para agregar el anticuerpo fluoresceinado de cabra anti-IgG₁ de ratón (DAKO A/S, Denmark), agregando 40 ul de este anticuerpo (diluido 1:20 con PBS y para contrastar agregar colorante azul de evans a una concentración final del 2 %) sobre el botón de células e incubar en cámara húmeda durante 30 minutos a 36.5°C. Sacarlas del la incubadora y colocarlas en un vaso de coplin con PBS frío durante 5 minutos y en la oscuridad y secarlas al aire. Agregar una gota de solución de montaje (glicerol 9:1 con PBS) sobre el botón de células y colocar cuidadosamente un cubreobjetos sobre estas para evitar la formación de burbujas de aire que dificulten la observación.

3.- Lectura:

Leer con luz ultravioleta en microscopio de epifluorescencia (Olympus BX 41) recorriendo todo el botón de células y contando como positivas, todas aquellas células que presenten un patrón de fluorescencia nuclear. Reportar el número de células positivas por 200,000 células.

RESULTADOS

En el presente estudio se incluyeron 44 pacientes que recibieron trasplante de órgano sólido, en un periodo comprendido de Enero de 1999 a Marzo del 2005 en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” y que reunieron los criterios de inclusión.

En los 44 pacientes la edad promedio fue de 6 años (límites de edad 3 a 20 años), predominando el sexo masculino en el 59% (relación sexo masculino/femenino de 1.4:1) (Tabla 1 y figura 1).

El trasplante más frecuente en esta serie fue el renal, el cual se comprendió el 68% de la población de estudio, seguido del trasplante hepático en el 22% y el cardiaco en el 9% (Tabla N° 1 y figura 2).

En cuanto al periodo de seguimiento pos-trasplante fue de 3 años.

Tabla N° 1
CARACTERISTICAS DE LA POBLACION ESTUDIADA

Número de pacientes	44
Edad	3 a 20 á
Sexo (M: F)	1.4:1
Masculino	26
Femenino	18
Tipo de trasplante	
Cardiaco	4 (9%)
Hepático	10 (22%)
Renal	30 (68%)

En la población estudiada, el tipo de donador predominante fue el cadavérico en el 59% de los casos (Figura 3). En cuanto el riesgo de infección por CMV, 16 pacientes (36%) fueron de alto riesgo (D+/R-) o riesgo desconocido (D indeterminado/R negativo) y 28 pacientes (67%) fueron de riesgo habitual (D+/R +). De los pacientes de alto riesgo, recibieron profilaxis con Ganciclovir el 75% de los mismos (4/16) y entre los de riesgo habitual el 60% de los pacientes (17/28) (Tabla 2).

Tabla N° 2

TIPO DE DONADOR, RIESGO DE INFECCION POR CMV Y PROFILAXIS CON GANCICLOVIR DE LA POBLACION ESTUDIADA

N° de pacientes	44	
Tipo de donadores		
Donador vivo relacionado	18	(41%)
Cadavérico	26	(59%)*
Riesgo		
Alto (D +/R -) (D+ /R desconocido)	16	(36%)
Habitual (D +/R +)	28	(67%)
Pacientes sin profilaxis con GCV		
Alto riesgo	4/16	(25%)
Riesgo habitual	17/28	(60%)
Pacientes con profilaxis con GCV		
Alto riesgo	12/16	(75%)
Riesgo habitual	11/28	(40%)

*Además de los transplantados cardíacos, todos los hepáticos fueron cadavéricos, excepto uno; 5 de los transplantados renales fueron cadavéricos.

Veintidós pacientes (50%) durante el seguimiento presentaron uno o más episodios de infección por CMV (Figura 4); diez pacientes (23%) presentaron solo formas asintomáticas de infección por CMV, en tanto que en doce pacientes (27%) uno o más episodios resultaron sintomáticos (Tabla 3).

Tabla N° 3**PREVALENCIA DE INFECCION POR CMV EN LA POBLACION ESTUDIADA***

	No. de casos	Porcentaje
	N= 44	
Ausencia de infección CMV	22	50%
Infección por CMV	22	50%
Asintomática	10	23%
Sintomática (enfermedad)	12	27%

*En caso que un paciente haya tenido más de un episodio de infección por CMV, se considera como uno

Tabla N° 4**EPISODIOS DE INFECCION POR CMV**

N° de pacientes	44
N° de pacientes con infección por CMV	22 (50%)
N° de episodios totales de infección	46
N° De episodios asintomáticos	31 (67%)
N° De episodios sintomáticos	15 (33%)
N° De episodios/población total	1
N° De episodios de infección asintomática/población total	0.1
N° De episodios de infección sintomática/población total	0.34
N° De episodios/paciente*	2.1
N° De episodios asintomáticos/paciente*	1.4
N° De episodios sintomáticos/paciente*	0.7
N° De pruebas realizadas (Ag pp65)	431
N° De pruebas/paciente*	9.7

*El denominador lo forman pacientes con infección sintomática y/o asintomática por CMV.

Diez pacientes (23%) desarrollaron sólo formas asintomáticas de infección por CMV con una media de 2 episodios por paciente (límites 1-6) (tabla 10). Cinco pacientes de estos diez sólo presentaron un solo episodio de infección y los restantes dos o más episodios.

Doce pacientes (27%) desarrollaron en algún momento un episodio de infección sintomática por CMV; de estos, en seis pacientes el episodio de infección sintomática fue el único episodio; un paciente adicional presentó dos eventos sintomáticos de infección por CMV; finalmente, 5/12 (42%) desarrollaron en el curso evolutivo además del episodio de infección sintomática, uno o más episodios adicionales de infección asintomática por CMV.

En resumen, en la población de estudio hubo 46 episodios de infección de CMV en 22 pacientes, de los que fueron formas asintomáticas 31 episodios (67%) y formas sintomáticas 20 (43%) (Tabla N° 6).

Tabla N° 5
EPISODIOS DE INFECCION POR CMV

6

N° de paciente	Episodios de infección asintomática por CMV	Episodios de infección sintomática por CMV	Total
Infección asintomática CMV			
1	2		
2	1		
3	2		
4	2		
5	1		
6	3		
7	1		
8	6		
9	1		
10	1		
	20		20 Parcial
Infección sintomática CMV			
11		1	1
12		1	1
13	1	1	2
14	6	2	8
15	1	2	3
16		1	1
17	2	1	3
18		1	1
19		2	2
20		1	1
21		1	1
22	1	1	2
	11	15	26
Total de episodios infección por CMV (Sintomática+ asintomática)	31	15	46 total

El seguimiento para la detección precoz de la infección por CMV fue a través de la determinación de la antigenemia pp65. En la población estudiada el número de pruebas de antigenemia pp65 realizadas fue de 431, con una media de 9.7 pruebas por paciente, predominando el control de antigenemia en pacientes con infección por CMV; la media de pruebas en el grupo de pacientes con infección asintomática fue de 12.6 y en los pacientes con formas sintomáticas de 12.5 pruebas (Tabla N° 6).

Tabla N° 6
NUMERO DE PRUEBAS DE ANTIGENEMIA pp65 EN LA POBLACION DE ESTUDIO

	Ausencia	Infección asintomática	Enfermedad	Total
No. pacientes	22	10	12	44
No. de Ag pp65	154	126	151	431
No. Ag pp65/paciente	7	12.6	12.5	9.7
No. de episodios de infección		20	26	46

Al realizar el análisis de la correlación de la antigenemia pp65 con la forma sintomática o asintomática de infección por CMV, se observó que de los 17 pacientes que presentaron una antigenemia pp65 de uno, once (65%) presentaron una forma asintomática de infección; lo opuesto ocurrió con el grupo de pacientes con antigenemia pp65 >10; de los 9 pacientes que exhibieron este nivel de antigenemia, ocho (89%) presentaron formas sintomáticas ($p < 0.01$). Con respecto al grupo de pacientes con antigenemia pp65 entre 2 y 10, no hubo una correlación significativa con forma sintomática o asintomática de infección por CMV (tabla 7).

Tabla N° 7

CORRELACION ENTRE EPISODIOS DE INFECCION POR CMV Y NIVELES DE ANTIGENEMIA pp65

Niveles de Ag pp65	Infección asintomática CMV	Infección sintomática CMV
1 (n= 17)	11 (65%)	6 (35%)*
2-5 (n= 13)	4 (30%)	9 (69%)
6-10 (n= 7)	4 (57%)	3 (42%)
>10 (n= 9)	1 (11%)	8 (89%)

*p= 0.01 al comparar con el grupo con antigenemia >10; todas las otras comparaciones no alcanzaron significancia estadística.

Dentro de la población estudiada, de los 12 pacientes (75%) de alto riesgo que recibieron profilaxis con Ganciclovir, nueve pacientes (75%) desarrollaron en algún momento del seguimiento infección por CMV, la cual fue en el 78% de los casos sintomática; de los cuatro de alto riesgo que no recibieron profilaxis, el 100% desarrolló infección por CMV (p= 0.39), la cual fue sintomática en el 75% de los casos. En el grupo de riesgo habitual, la frecuencia de infección por CMV así como la frecuencia de formas sintomáticas durante el periodo de seguimiento fue similar en los pacientes que recibieron profilaxis comparado a los que no lo recibieron. En este sentido, la frecuencia de infección fue de 36% vs 29% (p= 0.51), y la frecuencia de infección sintomática del 25% vs 20% (p= 0.64), en los grupos con y sin profilaxis respectivamente (Tabla N° 8).

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Tabla N° 8

CORRELACION ENTRE PROFILAXIS CON GCV Y DESARROLLO DE INFECCION POR CMV

	N° de pacientes	Con profilaxis	Sin profilaxis
Pacientes con	16	12 (75%)	4 (25%)
ALTO RIESGO			
No. con desarrollo de infección		9 (75%)	4 (100%)
Asintomático		2 (22%)	1 (25%)
Sintomático		7 (78%)	3 (75%)
Pacientes con	28	11 (39%)	17 (61%)
RIESGO HABITUAL			
No. con desarrollo de infección		4 (36%)	5 (29%)
Asintomático		3 (75%)	4 (80%)
Sintomático		1 (25%)	1 (20%)

* Todas las comparaciones no alcanzaron significancia.

Sin embargo, al analizar la frecuencia de infección por CMV en los primeros 60 días postransplante en los pacientes de alto riesgo, de los doce pacientes en profilaxis con Ganciclovir, presentaron infección por CMV el 33% vs el 100% de los pacientes de alto riesgo que no recibieron profilaxis ($p < 0.05$). La frecuencia de infección sintomática en el grupo con profilaxis fue del 25% (3/12) vs 75% (3/4) en el grupo sin profilaxis ($p < 0.05$). Referente a los pacientes con riesgo habitual, la profilaxis con Ganciclovir no afectó el número de casos de infección (18% vs 6%, para los grupos con y sin profilaxis), ni la frecuencia de formas sintomáticas (9% vs 6%) ($p = 0.64$). Así como en el grupo de riesgo habitual 2 de 4 (50%) y del grupo sin profilaxis 1 de 5 (20%) episodios.

Tabla N° 9

CORRELACION ENTRE PROFILAXIS CON GCV Y DESARROLLO DE INFECCION POR CMV EN LOS PRIMEROS 60 DIAS POSTRASPLANTE

	N° de pacientes	Con profilaxis	Sin profilaxis
Pacientes con 16		12 (75%)	4 (25%)
ALTO RIESGO			
No. con desarrollo de infección		4/12 (33%)*	4/4 (100%)
Asintomático		1	1
Sintomático		3*	3
Pacientes con 28		11	17
RIESGO HABITUAL			
No. con desarrollo de infección		2/11 (18%)	1/17 (6%)
Asintomático		1	-
Sintomático		1	1

*p= 0.1 al comparar frecuencia de casos de infección por CMV y casos sintomáticos con profilaxis vs sin profilaxis; todas las demás comparaciones no alcanzaron significancia estadística.

DISCUSION

Desde que la prueba de la antigenemia se hizo por primera vez por Van Berg y colaboradores en 1988, la cual se utilizó como un marcador de enfermedad por Citomegalovirus en un grupo de pacientes trasplantados, muchos autores han realizado trabajos por su eficaz sensibilidad y especificidad, en diferentes tipos de trasplante (28, 29, 38). Es de importancia el señalar que la antigenemia pp65 ha mostrado una correlación muy estrecha con la determinación de carga viral de CMV así como la presencia de enfermedad (78).

El desarrollo de una prueba rápida que pueda detectar tempranamente la infección y predecir la ocurrencia de enfermedad por CMV permite establecer con seguridad si existe posibilidad de daño atribuible al virus y diferenciar las manifestaciones clínicas, que son muy similares de las manifestaciones de rechazo. Una prueba como la antigenemia pp65 también podría utilizarse en el monitoreo de la respuesta al tratamiento antiviral. Estas son, entre otras, las cualidades necesarias en una prueba ideal para el diagnóstico de enfermedad por citomegalovirus en la era actual, en la que los microorganismos emergentes como éste requieren ser identificados con mayor precisión y prontitud (28).

El diagnóstico temprano y oportuno de infección por CMV sin llegar a la enfermedad por CMV, es de crucial importancia. El diagnóstico temprano seguido de terapéutica antiviral preventiva en pacientes con riesgo de infección por CMV es uno de los principales compromisos a detectar y tratar en este tipo de pacientes, motivo por el cuál se requiere el apoyo de un examen útil, rápido y seguro como lo es la antigenemia pp65, examen cuantitativo para la detección de antígeno pp65 temprano del CMV.

La técnica de antigenemia pp 65 cuantitativa para el diagnóstico de infección activa por CMV, es altamente sensible y específica, puede darnos un estimado de la carga viral y puede utilizarse para monitoreo del tratamiento antiviral.

En pacientes trasplantados, es una prueba ideal para el diagnóstico de reactivaciones del CMV, incluso antes de la aparición de los síntomas, lo que permite instaurar la terapia antes de la reactivación clínica.

Ya que está demostrado que la serología y los cultivos no los podemos utilizar para el diagnóstico de infecciones o reactivaciones del CMV, la antigenemia representa una de las pruebas diagnósticas de elección en estos casos junto a la determinación de carga viral por PCR; teniendo la ventaja de no requerir equipo tan valioso y sofisticado.

La positividad de antigenemia pp65, desde 1 célula, en pacientes trasplantados de alto riesgo (D+ /R-) es una prueba temprana, para evitar el desarrollo de enfermedad por CMV en pacientes de alto riesgo, estandarizándose que todo paciente con infección por CMV (Ag pp65 >1 cel.) se deberá iniciar la terapéutica antiviral temprana con GCV.

En este estudio se empleó como estándar de diagnóstico de infección y enfermedad por CMV, al conjunto de manifestaciones clínicas y la presencia de positividad de una prueba de antigenemia pp65.

La infección por CMV en el periodo temprano del postrasplante es una de las complicaciones más comunes ocurriendo de un 20 a 75% (49, 53, 54, 55), las manifestaciones clínicas por CMV en receptores de órganos pueden tener un curso dramático, ocasionalmente llegando a ser fatal.

La prevalencia en infección por CMV en 44 pacientes trasplantados en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez" en un periodo de 1999 al 2005 fue de un 50%, cifra similar a estudios publicados (49, 53, 54, 55).

En nuestro estudio veintidós pacientes (50%) durante el seguimiento presentaron uno o más episodios de infección por CMV; diez pacientes (23%) presentaron solo formas asintomáticas de infección por CMV, en tanto que en doce pacientes (27%) uno o más episodios resultaron sintomáticos.

La infección por CMV ocurre de ordinario uno a cuatro meses después del trasplante y puede ser consecuencia de primoinfección en receptores sin contacto previo con el virus, de

reactivación de una infección latente o de superinfección con una cepa viral con características moleculares distintas a las de la cepa que portaba el individuo previamente infectado (18, 19). En ausencia de profilaxis entre el 25 y el 80% de los receptores de un trasplante de órganos sólidos desarrollarán una infección por CMV que será sintomática en 8 a 41 días % de estos pacientes. Siendo máxima la incidencia en los trasplantes de pulmón (33, 35, 36).

Al realizar el análisis de la correlación de la antigenemia pp65 con la forma sintomática o asintomática de infección por CMV, se observó que de los 17 pacientes que presentaron una antigenemia pp65 de uno, once (65%) presentaron una forma asintomática de infección; lo opuesto ocurrió con el grupo de pacientes con antigenemia pp65 >10; de los 9 pacientes que exhibieron este nivel de antigenemia, ocho (89%) presentaron formas sintomáticas ($p < 0.01$). En este estudio la cuantificación de la antigenemia pp65 y la presencia de infección sintomática parecen tener correlación, ya que las cifras más altas de antigenemia fueron observadas en aquellos pacientes en quienes el comportamiento clínico fue más grave y en los cuales, la infección por CMV se acompañó de manifestaciones clínicas. En general, los pacientes que tuvieron antigenemia pp65 positiva y que tenían infección sintomática por CMV, tenían un número de células antigénicas positivas mucho mayor que aquellos que sólo tenían manifestación leve.

Finalmente al determinar el efecto de la profilaxis con ganciclovir en pacientes transplantados se observó que la profilaxis no repercute en la incidencia global de infecciones por CMV, sin embargo cuando se analizaron las infecciones por CMV durante los primeros 60 días posttrasplante, la incidencia de infección e infección sintomática fue menos en el grupo de alto riesgo que recibieron profilaxis con ganciclovir (33% vs 100% y 25% vs 75% respectivamente).

CONCLUSIONES

1-La prevalencia de infección por CMV en los transplantados de nuestro hospital fue del 50% (uno de dos pacientes).

2- Uno de cada cuatro pacientes transplantados (27%) presentaron un episodio o más de infección sintomática por CMV.

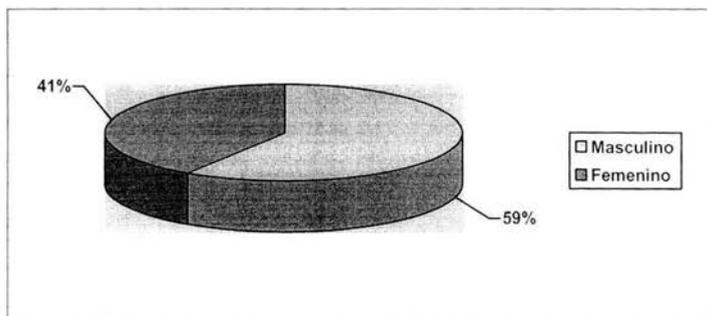
3- Se observó una correlación positiva entre nivel de antigenemia pp65 y presencia de forma sintomática por CMV.

4- En la población estudiada, la profilaxis con ganciclovir en pacientes de alto riesgo de infección por CMV disminuye la incidencia global de infección por CMV, y más importante los casos sintomáticos, pero sólo en los primeros 60 días postransplante.

ANEXOS

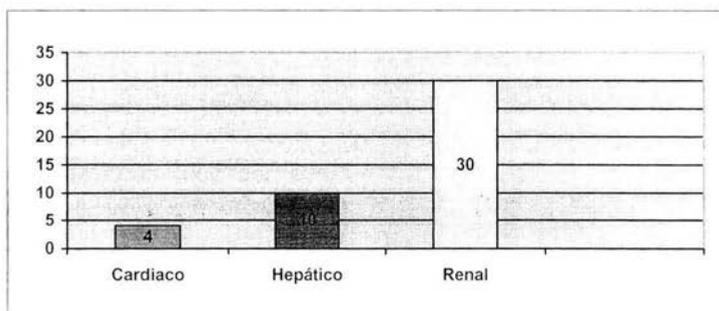
Anexo N° 1 (Figura N° 1)

Distribución por sexo



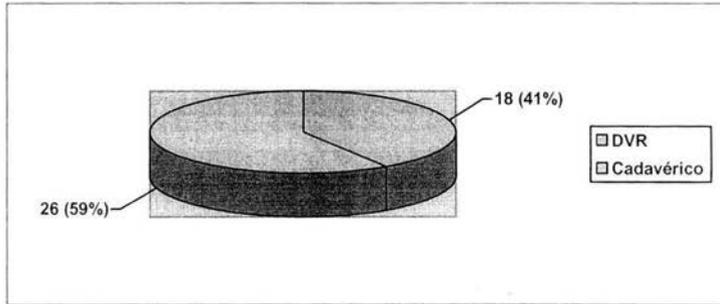
Anexo N° 2 (Figura N° 2)

Número de pacientes y tipo de trasplante



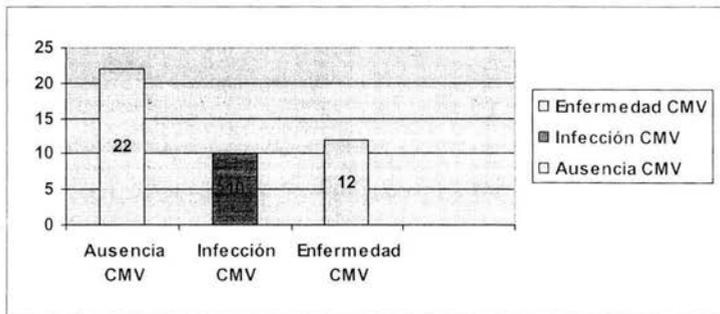
Anexo N° 3 (Figura N° 3)

TIPO DE DONADOR



Anexo N° 4 (Figura N° 4)

PREVALENCIA DE INFECCION POR CMV



Anexo N° 1 (Tablas)

LISTA DE PACIENTES CON AUSENCIA DE INFECCION POR CMV

No.	Sexo	Edad	Tipo	Riesgo	T. Clásica	Duración Profilaxis	Controles Ag pp65
1	M	8	Renal	D +/R +	No		4
2	M	13	Renal	D +/R +	No		9
3	M	15	Renal	D +/R +	No		6
4	F	14	Renal	D +/R +	No		4
5	M	7	Hepático	D +/R +	No		6
6	F	7	Renal	D +/R +	No		4
7	F	13	Renal	D +/R +	No		5
8	M	8	Hepático	D +/R +	No		8
9	M	11	Renal	D +/R +	No		0
10	M	8	Hepático	D +/R +	No		13
11	F	18	Hepático	D +/R +	No		9
12	F	14	Hepático	D +/R +	No		7
13	F	6	Hepático	D +/R des	Sí	3m	3m
14	F	19	Renal	D +/R -	Sí	6m	6m
15	F	4	Renal	D +/R -	Sí	3m	8
16	M	15	Renal	D +/R +	Sí	14d	8
17	F	13	Renal	D +/R +	Sí	3m	6
18	F	4	Renal	D +/R +	Sí	3m	11
19	F	13	Renal	D +/R +	Sí	6m	9
20	M	18	Renal	D +/R +	Sí	7m	5
21	M	14	Renal	D +/R +	Sí	7m	5
22	M	13	Renal	D +/R +	Sí	7m	3

Anexo N° 2

LISTA DE PACIENTES CON INFECCION ASINTOMATICA POR CMV

No.	Sexo	Edad	Tipo	Riesgo	T. clásica	Duración	Tiempo	Ag pp65	Lab.	Tto.
1	M	18	R	D+/R+	No		4 meses	2	NL.	No
2	M	3	C	D+/R-des	Sí	14 días	4 días	1	NL.	Sí
3	F	5	H	D+/R-	No		9 días	1	NL.	Sí
4	M	6	R	D+/R-	Sí	3 meses	4 meses	1	NL.	No
5	F	5	H	D+/R+	No		1a 2m	1	NL.	Sí (Pb. Sx Info. VEB)
6	F	11	R	D+/R+	No		1a 4m	3	NL.	No
7	M	14	C	D+/R+	No		1a 7m	1	NL.	No
8	M	20	R	D+/R+	Sí	6 meses	12 días	5		
9	F	13	R	D+/R+	Sí	14 días	4 meses	2	NL.	No
10	F	13	R	D+/R+	Sí	14 días	9 meses	1	NL.	No

Anexo N° 3

LISTA DE PACIENTES CON ENFERMEDAD POR CMV

No.	Sexo	Edad	Tipo	Riesgo	T. clásica	Tiempo	Ag pp65 (n°)	Cuadro	Lab.	Biopsia	Tto.
1	M	10	Cardiaco	D+/R-des	No	1 mes	14	Datos neumónicos	L10 Cr. 1.8(0.8)	Biopsia car. Rechazo agudo	Si
2	F	7	Cardiaco	D-des/R+	No	1m 1 s	118	Tos, estertores = neumonía	L22	Biopsia pulm. Efecto citopático y PCR + CMV	Si
3	M	14	Renal	D+/R-	Si	1 m 15 d	4	Fiebre	L14%		Si
4	M	17	Renal	D+/R-	Si	5 meses	317	Perdida peso, palidez, astenia	L4700 34 Cr. 2.8(2)	Biopsia: rechazo agudo	Si
5	M	14	Renal	D+/R-	Si	1 mes	55	Fiebre, faringitis	L4100 L10 Plaq.22000 1.7(1.3)	Biopsia: infiltrado linfocitario	Si
6	M	15	Renal	D+/R-	Si	1 m 2s	10	Fiebre	L13 Cr 1.7(0.3)		Si
7	M	11	Renal	D+/R-	Si	2 años	7	Fiebre, palidez, hiporexia	L3100 L25 Cr 1.6(1.3)		Si
8	M	4	Hepático	D+/R-	No	1m 1s	8	Afebril, hiporexia	Plaq 77000		Si
9	F	6	Hepático	D+/R-	No	1m 15d	1	Afebril	L25500 L20 TGO 315(48) TGP568(78)	Biopsia: pb. daño citopático viral + rechazo agudo sec.	Si
10	M	11	Renal	D+/R-	Si	3 meses	4	Afebril	L3300 L23 1.8(0.6)		Si
11	F	11	Renal	D+/R+	Si	2 meses	32	Afebril	L3700 L22% Cr 1,4(0.7)		Si
12	M	11	Renal	D+/R-	Si	4 meses	80	Afebril	L3700 L22% Cr1,4(0.7)		Si

Anexo N° 4

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

No. de paciente _____

Nombre del paciente _____

No. de registro _____

Servicio _____

Sexo _____ Edad _____

Diagnóstico de base _____

Tipo de trasplante _____ Fecha _____

Fecha de realización _____

Antecedente de rechazo _____ Fecha _____

Serología previa al trasplante para CMV

Donador _____

Receptor _____

Tratamiento con Ganciclovir

Sí _____ No _____

Tiempo de inicio postrasplante _____

Fecha de la sospecha diagnóstica de infección por CMV _____

Manifestaciones clínicas _____

Laboratorio

Hemoglobina _____

Leucocitos _____

Diferencial _____

Plaquetas _____

TGO _____

TGP _____

Creatinina _____

Antigenemia pp65 (# de células/200 000) _____

Cultivo viral (sí se hizo) _____

Serología (IgM) (sí se hizo) _____

Evolución clínica posterior _____

Controles de leucocitos _____

Controles de antigenemia pp65 _____

BIBLIOGRAFÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Zhang LJ, ANFP P, Rutherford C, et al. Detection of citomegalovirus, DNA, RNA, and antibody in normal donor blood. *J Infect Dis.* 1995; 171: 1002- 1006
2. Martín SS, Avilés SE, Beltrán F. Prevalencia de anticuerpos fijadores de complemento contra citomegalovirus en varias comunidades mexicanas. *Bol Méd Hosp Infant Méx.* 1978; 1: 13- 17
3. Patel R, Surydman DR, Rubin RH, et al. Citomegalovirus prophylaxis in solid organ transplant recipients. *Transplantation.* 1996; 61: 1279- 1289
4. Myers JD, Flournoy N, Thomas ED. Risk factors for citomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis.* 1986; 153: 478- 488
5. Masur H, Whicleup SM, Cartwright C, et al. Advances in the management of AIDS-related CMV retinitis. *Ann Intern Med.* 1996; 125: 126- 136
6. Patrick R Murray, Ken S Rosenthal, George S Kobayashi. *Microbiología Médica.* Cuarta edición. 2002. Capítulo 51, pags. 468- 489
7. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. *Microbiología Médica.* 2000. Capítulo 38, pags. 484- 494
8. Mandell G, Bennett J, Dolin R. *Enfermedades infecciosas. Principios y Práctica.* 5ª edición. 2002. Vol. 2. Capítulo 127, pags., 1939- 1954
9. Patel R, Paya CV. Infections in solid organ transplant recipients: an overview. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 10: 86- 124

10. Kontoyiannis DP, Rubin RH. Infection in the organ transplant recipient. *Infect Dis Clin North Am.* 1995; 9: 811- 822
11. Rubin RH. Impact of CMV infection in organ transplant recipients. *Rev Infect Dis.* 1990; 12: S754
12. Rifkind D, Goodman N, Hill RB, JR. The clinical significance of CMV infection in renal transplant recipients. *Ann Intern Med.* 1967; 66: 1116
13. Wang NS, Huang SN, Thurlbeck WM. Combined *Pneumocystis carinii* and CMV infection. *Arch Pathol.* 1970; 90: 529
14. Chtaterjee SN, Fiala M, Weiner J et al. Primary CMV and opportunistic infections. Incidence in renal transplant recipients. *JAMA.* 1978; 240: 2446
15. Rand KH, Pollard RB, Merigan TC. Increased pulmonary superinfections in cardiac transplant patients undergoing primary CMV infection. *N Engl J Med.* 1978; 298: 951
16. Peterson PK, Balfour HH, Jr, Marker SC et al. CMV disease in renal allograft recipients. A Prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation *Medicine.* 1980; 59: 283
17. Paya CV, Wiesner RH, Hermans PE et al. Risk factors for CMV and severe bacterial infections following liver transplantation. A prospective, multivariate time- dependent analysis. *J Hepatol.* 1993; 18: 185
18. Chou S. Reactivation and recombination of multiple cytomegalovirus strains from individual organ donors. *J Infect Dis.* 1989; 160: 11- 15

19. Simley ML, Wodlaver GG, Groosoman RA et al. The role of pretransplant immunity in protection from cytomegalovirus disease following renal transplantation. *Transplant*. 1985; 40: 157- 161
20. Chou S, Norman, DJ. Effect of OKT3 antibody therapy on cytomegalovirus reactivation in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 1985; 17: 2755- 2756
21. Preiksaitis JK, Brown L, McKenzie M. The risk of cytomegalovirusinfection in seronegative transfusion recipients not receiving exogenous immunosuppression. *J Infect Dis*. 1988; 157: 523- 529
22. Ho. M, Suwansirikul S, Dowling JN. The Transplanted kidney as a source of cytomegalovirus infection. *N Engl Med*. 1975; 293: 1109- 1012
23. Dummer JS. Cytomegalovirus infection after liver transplantation: Clinical manifestations and strategies for prevention. *Rev Infect Dis*. 1990; 12(S): 767- 775
24. Dummer JS, White LT, Ho M et al. Morbidity of cytomegalovirus infections in recipients of heart or heart- lung transplants who received cyclosporine. *J Infect Dis*. 1985; 152: 1182- 1191
25. McCaughan GW, McDonald JA, Davies S, Painter DM, Clinicopathological approach to human liver allograft dysfunction. *J Gastroenterol Hepatol*. 1989; 4: 467- 477
26. Shuster EA, Beneke JS, Tegmeier GE et al. Monocolonal antibody for rapid laboratory detection of CMV infections: characterization and diagnostic aplication. *Mayo Clin Proc*. 1985; 60: 577- 585
27. Erice A, Holm MA, Gill PC et al. CMV antigenemia assay is more sensitive than shell vial cultures for rapid detection of CMV in polimorphonuclear blood leukocyte. *J Clin Microbiol*. 1992; 30: 2822- 2825

28. Van den Berg AP, Klimpmaker IJ, Haagsma EB at. Antigenemia in the diagnosis and monitoring of active CMV infection after liver transplantation. *J Infect Dis.* 1991; 164: 265- 270
29. Van der Bij W, Schirm J, Torensma R, Van Son WJ, Tegzass AM. The TH. Comparison between viremia and antigenemia for detection of CMV en Blood. *J Clin Microbiol.* 1988; 26: 2531- 2538
30. Smith TF, Shelley CD. Detection of IgM antibody to CMV and rapid diagnosis of this virus infection by the shell vial assay. *J Virol Methods.* 1988; 21: 87- 96
- 31). Koskinen PK, Nieminen MS, Mattila SP, Hayri PJ. Lautenschlager IT. The correlation between symptomatic CMV infection and CMV antigenemia in heart allograftrecipients. *Transplantation.* 1993; 55- 547
32. A Moreno Galdó, S liñan Cortés, N Cobos Barroso, S Gartner. Complicaciones pulmonares relacionadas con la inmunosupresión en los niños trasplantados de órganos sólidos. *Annales of Pediatrics.* 2001
33. Snyderman DR. Epidemilogy of infections complications after solid-organ transplantation. *Clin Inf Dis.* 2001; 33(Suppl 1): 5- 8
34. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 1998; 338: 1741- 51
35. Van der Bij W, Speich R. Infectious complications after luna transplantation. *Eur Respir Mon.* 2003; 26: 193- 207

36. Bueno J, Ramil Green M. Current management strategies for the prevention and treatment of cytomegalovirus infection in pediatric transplant recipients. *Pediatr Drugs*. 2002; 4: 279- 90
37. Ho M. *Cytomegalovirus: Biology and infection*. 2nd ed. New York; Plenum Press; 1991; 249- 256
38. Boeckh M, Bowden RA, Goodrich JM, et al. Transplantation and HIV. *Transplantation*. 1990; 49: 354
39. The TH, Van der Ploeg M, Van der Berg AP, et al. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes: A review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Tranplantation*. 1992; 54:
40. Ence A, Holm MA, Gill PC, et al. Cytomegalovirus antigenemia assay is more sensitive than shell vial cultures for rapid detection of CMV in polymorphonuclear blood leukocytes. *J Clin Microbiol*. 1992; 30: 2822
41. Demmler G. J. Cytomegalovirus. En Feigin R. D., Cherry J. D. Editors. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 5th edition. W. B. Saunders. Philadelphia. 2004
42. Sunwen Chou. Neutralizing antibody responses to reinfecting strains of CMV in transplant recipients. *J Infec Dis*. 1989; 160: 16- 21
43. Souha S. Kanj, Ata I. Sharara, Pierre- A. Clavien et al. Cytomegalovirus infection following liver transplantation: Review of the literature. *Clin Inf Dis*. 1996; 22: 537- 49
44. Apperley JF, Goldman JM. Cytomegalovirus: biology, clinical features and methods for diagnosis. *Bone Marrow Transplant*. 1988; 3: 353- 64

45. Betts RF, Freeman RB, Douglas RG Jr, Talley TE, Rundell B. Transmisión of cytomegalovirus infection with renal allograft. *Kidney Int.* 1975; 8: 385- 92
46. Fiala M, Payne JE, Berne TV, et al. Epidemiology of cytomegalovirus infection after transplantation and immunosuppression. *J Infect Dis.* 1975; 132: 421- 425
47. Cohen JI, Corey GR. Cytomegalovirus infection in the normal host. *Medicine (Baltimore)* 1985; 64: 100- 114
48. M. Eddlesiton, S. Peacock, M. Juniper, et al. Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients
49. Patel R, Paya CV. Infections in solid organ transplantation recipients. *Clin Micro Rev.* 1997; 10: 86- 124
50. Andrew D. Badley, Robin Patel, Daniel F. Portela, et al. Prognostic Significance and risk factors of untreated cytomegalovirus viremia in liver transplant recipients. *J Infect Dis.* 1996; 173: 446- 449
51. J. Allen McCutchan. Cytomegalovirus infection of the Nervous System in patients with AIDS. *Clin Inf Dis.* 1995; 20: 747- 54
52. Isabelle Pellegrin, Isabelle Garrigue, Didier Ekouevi, et al. New molecular assays to predict occurrence of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. *J Infect Dis.* 2000; 182: 36- 42
53. Nevins TE, Dunn DL. Use of Ganciclovir for cytomegalovirus infection. *J Am Soc Nephrol.* 1992; 2(Suppl): S270- 3
54. Farrugia E, Schwab TR. Management and prevention of cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Mayo Clin Proc.* 1992; 67: 879- 90

55. Hibberd PL, Tolkoff- Rubin NE, Cosimi AB, et al. Symptomatic cytomegalovirus disease in the cytomegalovirus antibody seropositive renal transplant recipient treated with OKT3. *Transplantation*. 1992; 53: 68- 72
56. J. M Cisneros, P. Muñoz, J. Torre- Cisneros, et al. Pneumonia after heart transplantation: a multiinstitucional study. *Clin Inf Dis*. 1998; 27: 324- 331
57. Austin JH, Schulman LL, Mastrobattista JD. Pulmonary infection after cardiac transplantation: clinical and radiologic correlations. *Radiology*. 1989; 172: 259- 65
58. Gorenssek MJ, Stewart RW, Keys TF, Metha AC, et al. A multivariate analysis of risk factors for pneumonia following cardiac transplantation. *Transplantation*. 1988; 46: 860- 865
59. Tanabe K, Tokumoto T, Ishikawa N, ET AL. Comparative study of cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay, polimerasa chain reaction serology and shell vial assay in the early diagnosis KH and monitoring of CMV infection after renal transplantation. *Transplantation*. 1997; 64: 1721- 1725
60. Brumback Brenda G, Bolejack S. N, Morris M. V. et al. Comparison of culture and the antigenemia assay for detection of cytomegalovirus in blood specimens submitted to reference laboratory. *J Clin Microbiol*. 1997; 35: 1819- 1821
61. Marsano I, Perillo R. P, Flye M. W., et al. Comparación of cultura and serology for the diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney and liver transplant recipients. *J Infect Dis*. 1990; 161: 454- 461
62. McCutchan J.A. Cytomegalovirus infections of the the Nervous System in patients with AIDS. *Clin Infect Dis*. 1995; 20: 747- 753

63. Bossart W., Bienz K., Wunderli W., et al. Surveillance of cytomegalovirus after solid-organ transplantation comparison of pp65 antigenemia assay with a quantitative DNA hybridization assay. *J Clinical Microbiol.* 1997; 35: 3303- 4
64. P. Schafer, Tenschert W, Gutensohn K, et al. Effect of delayed processing on results of quantitative PCR for cytomegalovirus DNA in leukocytes compared to results of an antigenemia assay. *J. Clin Microbiol.* 1997; 35: 741- 744
65. Gaetta A., Nazzari C., Angeletti, et al. Monitoring for cytomegalovirus infection in organ transplant recipients : analysis of pp65 antigen, DNA and late mRNA in peripheral blood leukocytes. *J Med Virol.* 1997; 53: 189- 196
66. Robert T.C., Brennan D.C., Buller R. S., et al. Quantitative polymerase chain reaction TO predict occurrence of symptomatic cytomegalovirus infection and assess response to ganciclovir therapy in renal transplant recipients. *J Infect Dis.* 1998; 178: 626- 635
67. Veal Nary, Payan C., Fray D, Sarol L., et al. Novel DNA assay for cytomegalovirus detection: comparison with conventional culture and pp65 antigenemia assay. *J Clin Microbiol.* 1996; 34: 3097- 3100
68. Meyers JD, Reed EC, Shepp DH et al. Acyclovir for prevention of cytomegalovirus infection and disease after allogenic marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1998; 318: 70- 75
69. Van der bij and Rudolf Speich. Management of cytomegalovirus infection and disease after solid- organ transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001; 33(1): S33-7
70. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 1998; 338: 1741- 51

71. Rubin RH, Wollfson JS, Cosimi AB, et al. Infection in the renal transplant recipient. *Am J Med.* 1981; 70: 405-411
72. Rubin RH. The indirect Effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. *JAM.* 1989; 261: 3607-3609
73. Falagas ME, Snyderman DR. Recurrence cytomegalovirus disease in solid-organ transplant recipients. *Transplant Proc.* 1995; 25(1); 34-37
74. Rubin RH. Preemptive therapy in immunocompromised hosts. *N Engl J Med.* 1991; 324: 1057-1059
75. Couchoud C, Cucherant M, Haugh M, et al. Cytomegalovirus prophylaxis with antiviral agents in solid organ transplantation a meta-analysis. *Transplantation.* 1998; 65: 641- 7
76. Plotkin SA, Starr SE, Friedmann HM, et al. Effect of Towne live virus vaccine on cytomegalovirus disease after renal transplant. *Ann Intern Med.* 1991; 114: 525- 531
77. Glowacki LS, Smaill FM. Use of immune globulin to prevent symptomatic cytomegalovirus disease in transplant recipients: a meta analysis. *Clin transplan.* 1994; 8: 10-18
78. Mazulli T., Rubin R. H., Ferraro M.J., Aquila R.T et al. Cytomegalovirus Antigenemia: Clinical Correlation in transplant recipients and in persons with AIDS. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 2824- 2827
79. Van der Bij W, Torensma R, van Son WJ, Anema J, Tegzess AM, The TH. Rapid immunodiagnosis of active cytomegalovirus infection by monoclonal antibody staining of blood leucocytes. *J Med. Virol* 1988; 25: 179-188.