



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL INFANTIL TELETON DE ONCOLOGIA
RESIDENCIA EN ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA

CITOMEGALOVIRUS EN PACIENTES DE TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO CON DEPLECIÓN CON CICLOFOSFAMIDA

TESIS
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA

Presenta:
Dra. Edith Verónica Briseño Rebollar

Tutor:
Dr. Martín Pérez García
Adscrito al servicio de Trasplante de Células Progenitoras/Oncología Pediátrica del
Hospital Infantil Teletón de Oncología

Co tutores
Dra. Monserrat Hernández García
Adscrito al servicio de Trasplante de Células Progenitoras/Oncología Pediátrica del
Hospital Infantil Teletón de Oncología

Dra. Tanya Díaz Cadena
Adscrito al servicio de Infectología Pediátrica del Hospital Infantil Teletón de
Oncología

Asesor Metodológico
Dra. María del Carmen Esmer Sánchez
Subdirectora de Enseñanza e Investigación del Hospital Infantil Teletón de Oncología

Querétaro, Agosto 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dra. María del Carmen Esmer Sánchez

TITULAR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA
HOSPITAL INFANTIL TELETON DE ONCOLOGIA

Dra. Andrea Ellis Irigoyen

PROFESOR TITULAR DEL CURSO O DE ESPECIALIZACION EN ONCOLOGIA
PEDIATRICA
HOSPITAL INFANTIL TELETON DE

Dr. Martín Pérez García

ASESOR DE TESIS

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	4
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. MARCO TEORICO	5
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
5. PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	17
6. JUSTIFICACIÓN.....	17
7. HIPÓTESIS.....	18
8. OBJETIVOS	18
9. MATERIAL Y METODOS.....	19
10.RESULTADOS.....	22
11.DISCUSIÓN.....	33
12.CONCLUSIÓN.....	34
13.BIBLIOGRAFIA	35

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El trasplante haploidéntico es un tratamiento al que se recurre con frecuencia en pacientes oncológicos pediátricos. La infección por *Citomegalovirus* (CMV) postrasplante es causa importante de morbimortalidad, la seropositividad en escolares es de 30% y 80% en adultos siendo mandatorio incluir la serotipificación dentro de los estudios al binomio donador/receptor dado que el estado de inmunosupresión en el receptor es prolongado y se asocia con alto riesgo de infección/reactivación de virus. La infección por CMV puede ser primoinfección con receptor seronegativo y donador seropositivo o reactivación cuando el receptor es seropositivo. Asimismo puede documentarse replicación con la medición de cargas virales o enfermedad clínica. **MÉTODOS:** Estudio observacional, analítico, prospectivo y longitudinal. Se analizaron los resultados de IgG pre-trasplante y cargas virales por PCR para CMV en el postrasplante para comparar la frecuencia de infección/enfermedad por CMV de acuerdo al estatus serológico pre-trasplante del binomio donador/receptor en pacientes del programa de trasplante del Hospital Infantil Teletón de Oncología. **RESULTADOS:** Se incluyeron 12 pacientes en total, 8 hombres y 4 mujeres con mediana de edad 10.4 años, el estatus donador/receptor negativo fue en 3 binomios, quienes no mostraron primoinfección. El mayor porcentaje de casos fue el binomio positivo con 9 casos, la mediana de días de detección de copias CMV fue +21.5 (rango +17 a +40), con 9 reactivaciones y 4 de ellas con enfermedad manifestada como neumonitis.

CONCLUSIÓN: Un binomio CMV negativo en trasplante haploidéntico puede prevenir episodios de reactivación/enfermedad y podría disminuir la morbimortalidad no asociada a recaída así como los costos financieros asociados con el uso de antivirales.

2. INTRODUCCIÓN

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) se utiliza cada vez con mayor frecuencia como parte del tratamiento con intento curativo de entidades oncológicas malignas, los pacientes sometidos a trasplante requieren tratamiento inmunosupresor debido a tasas elevadas de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y por lo tanto mayor riesgo de infección y susceptibilidad a las mismas. El riesgo de infecciones en receptores de TCPH es resultado de una combinación de factores que se modifican de acuerdo con el tipo de trasplante, al tiempo transcurrido y a la presencia de complicaciones.

La infección por citomegalovirus (CMV) continúa siendo una complicación frecuente en los pacientes postrasplante. Los efectos se relacionan con altas tasas de replicación viral y se presentan en forma de infección o enfermedad por CMV.

3. MARCO TEÓRICO

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) en México es el padecimiento oncológico más frecuente con un total de pacientes en registro nacional de 12,765 casos del 2007 al 2015 y una incidencia de 79.8 por millón. Existen registros de años previos por regiones en la ciudad de México con incidencias variables en los años 90's de 5 a 8 por cada 100 mil habitantes; en el norte del país tasas de 31.8 por millón y recientemente en la región de Guadalajara incidencia de 7 a 10 casos por cada 100 000 hab.¹⁻⁴ La mortalidad asociada a esta patología a pesar de protocolos de tratamiento implementados en 55 instituciones médicas es 5.3 por cada 100,000 niños por año y de 8.6 por cada 100,000 en adolescentes de 15-18 años de edad.⁵

El pronóstico de los pacientes con LLA ha mostrado mejoría optimizando el tratamiento con terapia combinada con medicamentos (quimioterapia), radioterapia, terapia celular con células progenitoras hematopoyéticas (CPH) y/o terapia humoral (uso de anticuerpos monoclonales). Tratamientos ajustados de acuerdo a las

características clínicas de cada paciente, biología de las células leucémicas y respuesta a tratamiento.

Hunger y colaboradores identificaron la edad y cuenta de leucocitos como predictores confiables de pronóstico⁶, sin embargo, los grupos de asignación de riesgo al diagnóstico están definidos por los criterios de Centro Nacional de Cáncer-Roma (NCI-Rome por sus siglas en inglés)⁷. La respuesta al tratamiento al final de la inducción es una herramienta útil para predecir el riesgo de recaída y pronóstico, uno de los parámetros más importantes actualmente establecidos es la enfermedad mínima residual (EMR) que es útil en pacientes con alto riesgo de recaída y/o pobre pronóstico e incluso reemplaza factores de riesgo al diagnóstico y alteraciones citogenéticas^{8,9}.

Actualmente las indicaciones de trasplante se encuentran clasificadas en 2 grupos: Aquellos pacientes en primera remisión (CR1 Complete Remission 1) que son un grupo de pacientes con diagnóstico de LLA que iniciaron un protocolo de tratamiento y se encuentran sin evidencia clínica, hematológica, citogenética y/o molecular de enfermedad y aquellos que se encuentran en segunda remisión, (CR2 Complete Remission 2) siendo pacientes que una vez que alcanzaron la remisión de la enfermedad aparece nuevamente llamándose recaída y tras una segunda línea de tratamiento logran una segunda remisión. El grupo americano y europeo de trasplante emiten recomendaciones para cada grupo de pacientes mencionados anteriormente.

El trasplante en primera remisión no es usual en pacientes pediátricos con LLA, sólo algunos datos de muy alto riesgo como re arreglos del gen KMT2A que ocurre en 5-6% de los pacientes con LLA y principalmente en pacientes menores de 1 año, hipodiploidia grave (≤ 44 cromosomas) y/o con EMR positiva pueden beneficiarse de trasplante de CPH¹⁰.

La mayoría de los protocolos para el tratamiento de recaída en LLA incluye estratificar por riesgo de acuerdo a las características clínicas al diagnóstico y al momento de la recaída. El sitio de recaída, así como la duración de la primera

remisión han demostrado tener un valor pronóstico en la Supervivencia Libre de Evento (EFS por sus siglas en inglés) y Supervivencia Global (OS por sus siglas en inglés). La recaída aislada a médula ósea tiene peor pronóstico que aquella que es combinada o aislada a Sistema Nervioso Central (SNC) o testículo¹¹⁻¹³.

Las indicaciones de los grupos más importantes son del grupo americano de trasplante (ASBMT por sus siglas en inglés)^{12,13}.

Tabla 1. Indicaciones de Trasplante Grupo Norte América

CR1	<ul style="list-style-type: none"> • LLA con Hipodiploidia • Falla a la Inducción (Mas de 5% blastos en Médula en día 29) • Pobres respondedores EMR persistente al final de la consolidación o bloques de Alto Riesgo(Diferentes métodos, puntos de corte y puntos en el tiempo son usados para células B, T y LLA con Cromosoma filadelfia positivo)
CR2	<ul style="list-style-type: none"> • Recaída temprana a Médula ósea (Menos de 36 meses del diagnóstico) • Recaída Temprana Extramedular (Menos de 36 meses del diagnóstico) • Recaída tardía con EMR positiva al final de la reinducción • LLA con cualquiera de los siguientes: Cromosoma Filadelfia positivo o inmunofenotipo T
CR3	Cualquiera

El Grupo europeo de trasplante, toma en cuenta el tipo de trasplante o fuente para emitir sus recomendaciones¹⁴.

Tabla 2. Indicaciones de Trasplante en LLA Grupo Europeo de Trasplante

	Donador Relacionado 100%compatible	Donador NO relacionado (10/10 ó 9/10 INCOMPATIBLE EN DQB1)	Donador Alternativo (TRASPLANTE HAPLOIDENTICO)	Autólogo
CR1 (Bajo Riesgo)	GNR/II	GNR/II	GNR/III	GNR/II
CR1 (Alto Riesgo)	S/II	S/II	CO/II	GNR/II
CR2	S/II	S/II	CO/II	GNR/II
≥CR2	S/II	S/II	CO/II	GNR/II

ABREVIATURAS: **S**= TERAPIA ESTANDAR **CO**= CONSIDERAR **GNR**= NO RECOMENDADO. **NIVEL EVIDENCIA I**= EVIDENCIA DE AL MENOS UN ESTUDIO CLINICO ALEATORIZADO; **II**= EVIDENCIA DE AL MENOS UN ESTUDIO CLINICO NO ALEATORIZADO, COHORTE, CASOS Y CONTROLES; **III**= EVIDENCIA DE OPINIONES DE EXPERTOS.

Las fuentes de CPH en pediatría en niños incluyen células de médula ósea, células de cordón umbilical o de sangre periférica, se clasifican en relación con el receptor: donador relacionado o familiar (DR) o donador no relacionado no familiar (DNR). En el caso de los donadores relacionados o familiares se pueden considerar a los 100% compatibles y a los 50% compatibles o también llamados trasplante haploidéntico (TH).

Al seleccionar el donador varias características deben de considerarse aparte de la fuente de obtención de las células, tales factores son: edad del donador, diferencia de sexo entre donador y receptor, cuenta total de células (principalmente células madre hematopoyéticas CD34+ y número absoluto de linfocitos CD3+, estatus

serológico basal de citomegalovirus, grupo sanguíneo ABO y el criterio más importante es la compatibilidad de los antígenos leucocitarios humanos (HLA por sus siglas en inglés). Los donadores idénticos relacionados (100% compatibles) son preferidos ya que existe menos mortalidad relacionada a trasplante, menos enfermedad injerto contra huésped agudo (EICHa) y enfermedad injerto contra huésped crónico (EICHc). Además en con este tipo de donador obtenemos mayor supervivencia global y supervivencia libre de evento¹⁵⁻¹⁷.

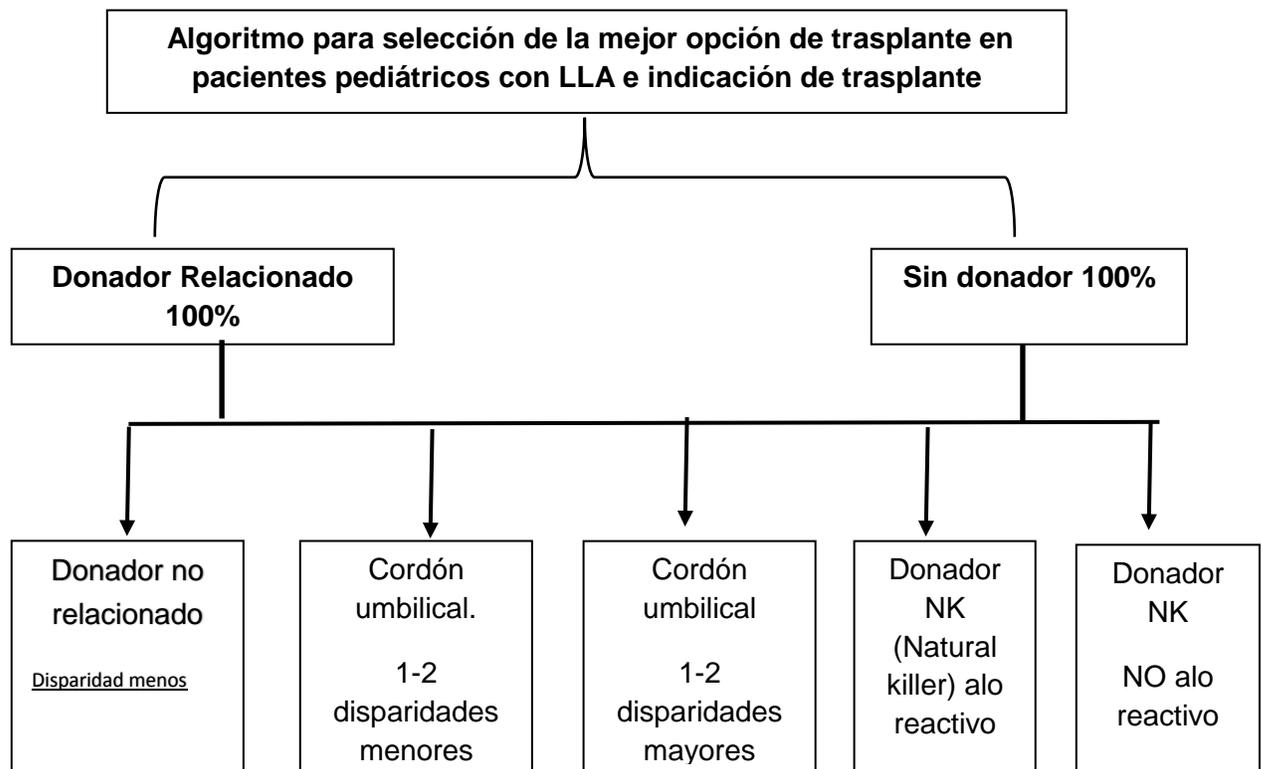


Fig 1.- Algoritmo De Opciones Terapéuticas En Pacientes Candidatos a Trasplante¹⁵

Los pacientes trasplantados requieren tratamiento inmunosupresor para evitar una de sus mayores complicaciones llamada Enfermedad Injerto contra Huésped (EICH) por lo tanto poseen mayor riesgo de infección y mayor tiempo de susceptibilidad a las mismas. Este riesgo es resultado de la combinación de factores que se modifican de acuerdo con el tipo de trasplante, al tiempo transcurrido y a la presencia de complicaciones.

- **Primera etapa (0 a 30 días)**

Factores relacionados con la infección:

- Neutropenia prolongada
- Mucositis secundaria al uso de agentes quimioterapéuticos utilizados

Por lo tanto, los gérmenes provenientes de la piel, cavidad oral y tracto gastrointestinal son los más frecuentes en esta etapa, predominan infecciones bacterianas y por *Candida sp.*

- **Segunda etapa (30 a 100 días)**

Existe deterioro de la inmunidad celular, las infecciones por citomegalovirus (CMV), *Pneumocystis jirovecii* y *Aspergillus sp.* se constituyen como los principales patógenos.

- **Tercera etapa (> 100 días)**

El deterioro persistente de la inmunidad celular y humoral, así como alteración en el sistema reticuloendotelial, condiciona un riesgo elevado de infecciones como CMV, varicela zoster, virus Epstein-Barr, virus respiratorios y organismos encapsulados (*S. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*), entre los más frecuentes¹⁸.

Una de las infecciones más frecuentes en pacientes que recibieron trasplante de médula ósea es ocasionado por el *Citomegalovirus* que pertenece a la familia Herpesviridae, compuesto por ADN de doble cadena lineal¹⁹. Tiene una prevalencia E.U.A 50-85% pacientes 40 años y en México 95 % mujeres embarazadas.

La seroprevalencia en la población mundial para CMV en el escolar es de 30%, alcanzando 80% en la población adulta; de tal forma que la serología en el donador y receptor es imprescindible para la estratificación del riesgo.

Se deben tomar en cuenta las siguientes definiciones:

- **Viremia:** Debe contarse con más de una determinación de PCR cuantitativa para CMV con > 500 copias/ml.
- **Infección por CMV:** Aislamiento o detección de proteínas virales en fluidos (sangre, orina, lavado bronquio-alveolar, líquido cefalorraquídeo) o tejido.
- **Infección primaria por CMV:** Detección de CMV por primera vez en un paciente con serología previa negativa.
- **Infección recurrente por CMV:** Paciente con evidencia previa de infección por CMV, en el cual no se había identificado el virus por al menos cuatro semanas durante la monitorización continua. Usualmente secundario a reinfección endógena (latencia viral) o exógena (hemoderivados).
- **Enfermedad por CMV:** Enfermedad de órgano terminal.
 - Probada: cuadro clínico compatible y la documentación de CMV en tejido por histopatología, cultivo viral o inmunohistoquímica
 - Posible: detección por PCR en tejido y sangre.

Durante la infección primaria por CMV se involucra la inmunidad innata y luego la adaptativa generando células T específicas para CMV para el control eficaz de la infección; el resultado natural de la infección primaria es el establecimiento de una infección latente subclínica de por vida en humanos. La infección latente se puede detectar en monocitos, macrófagos, linfocitos, células endoteliales y células progenitoras de médula ósea. La reactivación de CMV latente en estas células ocurre periódicamente durante toda la vida en respuesta a la inflamación, el estrés y la inmunosupresión.

En las personas inmunocompetentes los anticuerpos séricos de clase IgM frente a CMV son detectables 7-12 días después de la infección primaria, y tardan 2-3 semanas en alcanzar su nivel máximo. Después, decrecen paulatinamente hasta ser indetectables meses más tarde. No obstante, las IgM pueden persistir en el suero un año o más tras la primoinfección, aun en ausencia de infección activa (replicación del virus). Los anticuerpos de clase IgG pueden detectarse en el suero a las 4-6 semanas posteriores a la infección.

La infección por CMV en pacientes inmunocomprometidos como es el caso de pacientes sometidos a Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) ocurre a menudo durante los primeros 3 meses posteriores al trasplante, ya sea como infección primaria (receptores de trasplante seronegativo y células de donantes seropositivos a CMV) o como reactivación de infección latente (receptores CMV seropositivos).

Tabla 3. Riesgo de Infección/enfermedad de acuerdo al estatus serológico pre trasplante.

Estatus Donador/Receptor	Infección	Enfermedad
D-/ R-		1-2 % (con leucoreduccion)
D+/R-	30% (1ª adquisición)	< 5% con vigilancia y prevencion
D-/R+ D+/+	80% (reactivación)	20-35% (4-6% con profilaxis).
Ljungman, Blood 2003		
D.- Donador R.- Receptor		

Clínicamente puede involucrar el aparato gastrointestinal (gastritis, enteritis, colitis) y respiratorio (neumonitis). Además, el CMV está asociado con una mayor tasa de rechazo agudo y enfermedad del injerto contra huésped después del TCPH, así como otras enfermedades oportunistas (Pneumocystis jiroveci y aspergilosis pulmonar).

La inmunidad contra CMV se determina en todos los candidatos a trasplante y en sus donadores, utilizando la serología para detectar inmunoglobulina G (IgG) contra CMV; dependiendo del estado serológico pre-trasplante de CMV, los receptores de trasplantes son clasificados en alto riesgo, riesgo moderado o bajo riesgo.

Los pacientes de mayor riesgo son quienes son seropositivos antes del trasplante, aproximadamente 70% de ellos tienen reactivación de la infección, y sin tratamiento de 35 a 50% desarrollan enfermedad.

El uso de un régimen de acondicionamiento mieloablativo que suprime la inmunidad preexistente específica de células T para CMV, los deja inmunodeficientes cuando su CMV latente endógeno se reactiva después del trasplante; la intensidad de la mieloablación se correlaciona directamente con el riesgo de CMV²⁰.

A diferencia de la recuperación de otros linajes hematopoyéticos posteriores al trasplante, la recuperación de linfocitos es un proceso prolongado; en el restablecimiento las células NK son el primer subconjunto de linfocitos en recuperarse, seguido de las células T CD8, que a menudo alcanzan niveles supranormales dentro de 2 a 8 meses después HCT. Posteriormente, células B y finalmente CD4.

Se logra la recuperación total de los recuentos de células NK dentro de 1 a 2 meses después de HCT, las células B también son regeneradas a partir de células progenitoras linfoides, esta linfopoyesis de células B es altamente dependiente de una médula especializada que es susceptible a daños por el régimen de preparación y es sensible a los efectos tóxicos del tratamiento.

Por lo menos 1 año después del trasplante, todos los receptores de TCPH permanecen predispuestos a infecciones de bacterias encapsuladas y virus.

Respecto a su asociación con la infección por CMV se han elaborado recomendaciones en primer lugar previniendo la exposición en candidatos de TCPH, se analiza la presencia de anticuerpos IgG antes del trasplante para determinar el riesgo de infección primaria y reactivación posterior.

Previniendo la enfermedad y la recurrencia de CMV en los receptores de TCPH (todos los receptores de TCPH seropositivos para CMV y todos los receptores seronegativos a CMV con un donador CMV positivo) debe colocarse en un programa de prevención de enfermedades desde el momento del injerto hasta al menos 100 días después de TCPH.

Una estrategia de profilaxis contra la replicación temprana de CMV (es decir, <100 días después de HCT) para receptores alogénicos con factores de riesgo implica la administración de profilaxis durante todo el período desde el injerto hasta 100 días después del TCPH.

Fig 2.- Estrategias de tratamiento antiviral

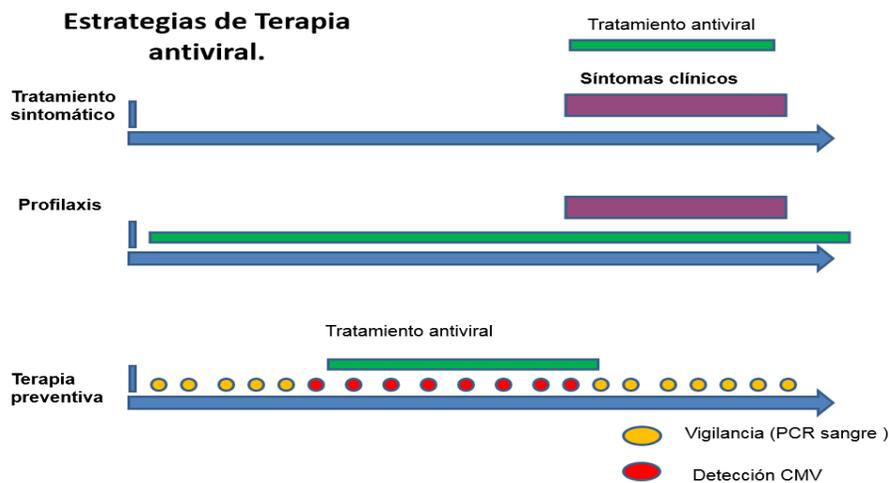


Fig 2.- Estrategias terapéuticas antivirales para CMV

Los fármacos más utilizados son el Ganciclovir, dosis altas de aciclovir y valganciclovir, han demostrado eficacia en estudios aleatorizados en la reducción del riesgo de infección por CMV después del TCPH.

En pacientes con enfermedad por CMV documentada antes del trasplante, debe retrasarse hasta que la enfermedad sea tratada adecuadamente y uso de profilaxis secundaria contra el CMV durante el TCPH.

La estrategia preventiva se dirige al tratamiento antiviral de aquellos pacientes que tienen evidencia de replicación de CMV después del TCPH. Requiere el uso de pruebas de laboratorio específicas para diagnosticar rápidamente la replicación de CMV y para permitir la inmediata administración de terapia antiviral. En receptores alogénicos con factores de riesgo se debe evaluar la presencia de CMV en muestras de sangre: 1 vez por semana o cada 10 días al menos durante los primeros 100 días después del TCPH.

Las pruebas de diagnóstico para determinar la necesidad de un tratamiento preventivo incluyen la detección del antígeno CMV pp65 en leucocitos (antigenemia), por reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa (PCR), o la detección de ARN de CMV.

El ganciclovir se usa a menudo como un medicamento de primera línea para terapia preventiva. Aunque foscarnet es tan efectivo como ganciclovir, actualmente es más común usado como medicamento de segunda línea. La terapia preventiva debe administrarse por un mínimo de 2 semanas. Si aún se detecta CMV después de 2 semanas de terapia, la terapia de mantenimiento puede ser dado hasta que CMV es indetectable o puede continuarse hasta el día 100.

Sin embargo, si el paciente desarrolla signos de enfermedad por CMV o si nivel de antigenemia o la carga de ADN del CMV continúa incrementándose después de más de 2 semanas de terapia, debe sospecharse CMV resistente y realizar un cambio de terapia.

Ganciclovir o foscarnet se pueden considerar como medicamento alternativo para terapia preventiva de segunda línea. Cidofovir, un análogo de nucleósido se puede considerar para la terapia preventiva de segunda línea, pero requiere control de la función renal.

Debido a que los receptores de TCPH pueden desarrollar 2 o más reactivaciones, los pacientes considerados en mayor riesgo de enfermedad tardía por CMV deben ser revisados rutinariamente para evidencia de activación de CMV siempre y cuando presente inmunodepresión persiste. Los factores de riesgo para la enfermedad tardía del CMV incluyen trasplante alogénico acompañado de enfermedad crónica de injerto contra huésped, uso de esteroides, recuentos bajos de CD4 (<50/mm³), uso de injertos de donantes seronegativos al CMV en receptores CMV seropositivos, y el uso de receptores no relacionados.

Estrategias para prevenir la enfermedad tardía del CMV en pacientes de alto riesgo incluyen el uso de vigilancia continua y terapia antiviral preventiva, así como profilaxis con medicamentos antivirales e inmunoterapia celular para pacientes con CMV y función del sistema inmune eficiente o ausente²¹.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección/enfermedad por *Citomegalovirus* es una de las complicaciones infecciosas más frecuentes que se presentan después de un Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad durante los primeros 100 días postrasplante. Existen reportes en la literatura sobre el tratamiento anticipado que disminuye en gran porcentaje las complicaciones relacionadas a corto y largo plazo, sin embargo, es necesario establecer grupos de riesgo de acuerdo al estatus serológico del binomio pre trasplante para ajustar los tiempos de seguimiento mediante PCR para CMV en pacientes con alto riesgo.

5. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Cuáles son los tipos de estatus serológico para CMV donador/receptor de los pacientes sometidos a trasplante haploidéntico de médula ósea?
- ¿Cuál es el tiempo promedio de replicación de citomegalovirus en el paciente trasplantado?
- ¿Cuál es incidencia de replicación/enfermedad de acuerdo a estatus serológico pre-trasplante?
- ¿Cuál es la frecuencia de mortalidad asociada a infección/reactivación de citomegalovirus?
- ¿Cuál es la incidencia de replicación/enfermedad por CMV en el pacientes con trasplante haploidéntico con estatus serológico donador/receptor negativo comparado con los grupos de serologías positivas?

6. JUSTIFICACIÓN

Actualmente el trasplante haploidéntico es una herramienta cada vez más utilizada para el tratamiento con intento curativo de los pacientes con diagnóstico de Leucemia linfoblástica aguda, del total de pacientes con indicación de trasplante solo el 25% cuenta con un donador relacionado 100% compatible, la seroprevalencia en la población mundial para CMV en el escolar es de 30%, alcanzando 80% en la población adulta; de tal forma que en los donadores de trasplante es frecuente presenta serología positiva para CMV.

La activación de CMV es un riesgo para morbilidad y mortalidad en este grupo de pacientes. La importancia de la detección y tratamiento oportuno de los pacientes postrasplante radica en la disminución de los días de hospitalización y costos de tratamiento derivados de los síntomas de la enfermedad en estadios avanzados.

7. HIPÓTESIS

La probabilidad de reactivación de citomegalovirus es mayor en el estatus del binomio positivo

La probabilidad de primoinfección en Donador/Receptor con serologías negativas es baja.

8. OBJETIVO

▪ **Objetivo general**

Comparar la frecuencia de infección/enfermedad por citomegalovirus de acuerdo a estatus serológico pre-trasplante del binomio donador y receptor.

▪ **Objetivos específicos**

- Describir la incidencia de la infección por citomegalovirus en los pacientes en el binomio donador/receptor de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con depleción con ciclofosfamida en el Hospital Infantil Teletón de Oncología
- Describir la incidencia de enfermedad por citomegalovirus en los pacientes en el binomio donador/receptor de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con depleción con ciclofosfamida en el Hospital Infantil Teletón de Oncología
- Describir la frecuencia de estatus serológicos para CMV de acuerdo a los binomios pre-trasplante en los dos grupos y cual es el más frecuente
- Obtener promedio de días de detección de copias de citomegalovirus
- Obtener la media de tiempo de tratamiento para obtener al menos dos cargas virales negativas
- Comparar la incidencia de infección/enfermedad en el grupo de donador/receptor negativo versus los grupos expuestos previamente al CMV.

9. MATERIAL Y METODOS

- **Diseño y tipo de estudio:**

Observacional Analítico, prospectivo, longitudinal

- **Población**

Pacientes pediátricos de 0 a 17 años con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda y con indicación de TCPH haploidéntico.

Población elegible

Pacientes pediátricos de 0 a 17 años atendidos en el Hospital Infantil Teletón de Oncología en el período comprendido 1º mayo del 2018 a 31 julio 2019.

- **Cálculo de la muestra**

A conveniencia, no aleatorizada, de asignación consecutiva

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión

- Pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda con indicación absoluta de trasplante de médula ósea
- Pacientes que por sus condiciones el donador más conveniente sea haploidéntico.
- Pacientes evaluados con serología pre-trasplante de células progenitoras hematopoyéticas tanto donador como receptor.

Criterios de Exclusión

- Disfunción orgánica múltiple

Criterios de eliminación

- Pacientes que no cuenten con cargas virales para CMV por al menos 2 meses de seguimiento entre una y otra

Ubicación del estudio

El estudio se llevará a cabo en el Hospital Infantil Teletón de Oncología (unidad de trasplante de células progenitoras).

VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Indicador	Tipo
Infección reciente CMV	Exposición reciente a CMV	IgM para CMV	Dicotómica Positivo Negativo	Cualitativa
Infección antigua CMV	Exposición anterior a CMV	IgG para CMV	Dicotómica Positivo Negativo	Cualitativa
RT PCR	Detección DNA viral con sistema automatizado copias genoma/ml	Número de copias	Positivo Mas de 500 Negativo Menos de 500	Dicotómica Positiva Negativa
Enfermedad por CMV	Evidencia de infección por CMV con síntomas y signos atribuibles	Afección clínica	Dicotómica Positiva Negativa	Dicotómica Positiva Negativa
Estatus D/R	Estado de portador en base a IgG		Cualitativa nominal D-/R- D+/R- D+/R+	Dicotómica Positiva Negativa

10. RESULTADOS

Tabla 4. Clasificación del estatus de CMV y riesgo del binomio Donador/Receptor

NO.	NOMBRE	FECHA DE TRASPLANTE	DÍAS POSTRASPLANTE 01 agosto 2019	ESTATUS SEROLÓGICO PRE TRASPLANTE	
				DONADOR	RECEPTOR
1	AMFD Masculino FN: 09.07.09 ga Exp 23	31.05.18	+457	IgG +	IgG -
2	MGO Femenino FN: 08.02.06 13 a Exp 417	31.08.18	+132*	IgG +	IgG -
3	JERD Masculino FN: 19.03.05 14 a Exp. 88	20.09.18	+314	IgG +	IgG +
4	ASF Masculino FN: 11.12.04 14 a Exp 293	27.09.18	+307	IgG +	IgG +
5	DIG Masculino FN: 26.09.12 6 a Exp 296	11.10.18	+293	IgG -	IgG -
6	EFGS Masculino FN: 08.07.12 6 a Exp 1725	20.12.18	+223	IgG -	IgG -
7	BICR Masculino FN: 12.03.06 13 a	22.03.19	+131	IgG +	IgG -

	Exp 2154				
8	ACVC Femenino FN: 07.05.04 15 años Exp 2131	09.05.19	+83	IgG -	IgG -
9	JJGV Masculino FN: 29.09.13 5 años Exp 2404	24.05.19	+68	IgG +	IgG +
10	YNF Masculino FN: 29.11.09 9 años Exp 2036	31.05.19	+62	IgG +	IgG +
11	JGPP Femenino FN: 19.02.14 5 años Exp 2009	20.06.19	+40	IgG +	IgG +
12	GJRG Femenino FN: 31.08.07 11 años Exp 262	29.06.19	+32	IgG +	IgG +
	RIESGO		Bajo ROJO	Intermedio Amarillo	Alto Rojo

El total de binomios incluidos fueron 12, bajo riesgo 3, riesgo intermedio 3 y riesgo alto 6 .

Tabla 5. Total de grupos binomio de acuerdo a estatus serológico

Estatus serológico Donador/Receptor	No. De pacientes n=12	%
Negativo/negativo	3	25
Positivo/positivo	6	50
Positivo/negativo	3	25
TOTAL	12	100

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

MESES POSTRASPLANTE

PACIENTE	PCR	MESES POSTRASPLANTE													
		JUN 18	JUL 19	AGOS 18	SEPT 18	OCT 18	NOV 18	DIC 18	ENE 19	FEB 19	MAR 19	ABRI 19	MAY 19	JUN 19	JUL 19
AMFD Fecha de trasplante 01.05.18 Día de detección de copias +39	RESULTADO PCR	<u>04.06.18</u> ND	<u>02.07.18</u> ND	<u>02.08.18</u> 28478	<u>03.09.18</u> ND	<u>01.10.18</u> 1937	<u>07.11.18</u> <100	<u>17.12.18</u> ND	<u>08.01.19</u> 360	<u>15.02.19</u> ND		<u>25.04.19</u> ND	<u>20.05.19</u> ND		<u>24.07.19</u> ND
		<u>11.06.18</u> ND	<u>09.07.18</u> 2540	<u>06.08.18</u> 16872	<u>10.09.18</u> 100	<u>08.10.18</u> ND	<u>12.11.18</u> ND		<u>14.01.19</u> 360						
		<u>18.06.18</u> ND	<u>16.07.18</u> 1053	<u>13.08.18</u> 1514	<u>17.09.18</u> ND	<u>15.10.18</u> 19780	<u>22.11.18</u> ND		<u>22.01.19</u> ND						
			<u>23.07.18</u> 136850	<u>20.08.18</u> 303	<u>24.09.18</u> 12075	<u>23.10.18</u> ND									
			<u>27.07.18</u> 97201	<u>27.08.18</u> ND		<u>30.10.18</u> 182									
			<u>30.07.18</u> 60338												
MGO Fecha de trasplante 31.08.18 Día de detección de copias +38	RESULTADO PCR				<u>02.09.18</u> ND	<u>08.10.18</u> 14038	<u>07.11.18</u> ND	<u>17.12.18</u> 28	-	-	-				
					<u>10.09.18</u> ND	<u>15.10.18</u> ND	<u>14.11.18</u> ND	<u>24.12.18</u> ND							
					<u>17.09.18</u> ND	<u>24.10.18</u> 670	<u>23.11.18</u> ND	<u>31.12.18</u> ND							
					<u>24.09.18</u> ND	<u>31.10.18</u> 840									
JERD Fecha de trasplante 20.09.18 Día de detección de copias +24	RESULTADO PCR				<u>17.09.18</u> ND	<u>01.10.18</u> ND	<u>13.11.18</u> ND	<u>10.12.18</u> ND				<u>27.04.19</u> ND	<u>13.05.19</u> ND		
					<u>24.09.18</u> ND	<u>08.10.18</u> <405	<u>30.11.18</u> ND	<u>28.12.18</u> ND							
						<u>15.10.18</u> 19554									
						<u>23.10.18</u> ND									
						<u>31.10.18</u> 213									

ASF Fecha de trasplante 27.09.18 Día de detección de copias +18	R E S U L T A D O P C R				<u>24.09.18</u> ND	<u>01.10.18</u> ND <u>08.10.18</u> ND <u>15.10.18</u> 1937 <u>22.10.18</u> ND <u>31.10.18</u> 780	<u>07.11.18</u> <100 <u>14.11.18</u> ND	<u>03.12.18</u> ND	<u>11.01.19</u> ND	<u>01.02.19</u> ND <u>11.02.19</u> 30479	<u>21.03.19</u> ND					
DIG Fecha de trasplante 11.10.18 Día de detección de copias -	R E S U L T A D O P C R					<u>08.10.18</u> ND <u>15.10.18</u> ND <u>24.10.18</u> ND	<u>23.11.18</u> ND		<u>22.01.19</u> ND							
EFGS Fecha de trasplante 20.12.18 Día de detección de copias -	R E S U L T A D O P C R							<u>17.11.18</u> ND	<u>14.01.19</u> ND		<u>11.03.19</u> ND	<u>03.04.19</u> ND		<u>06.06.19</u> ND		
BICR Fecha de trasplante 22.03.19 Día de detección de copias +40	R E S U L T A D O P C R										<u>25.03.19</u> ND	<u>01.04.19</u> ND <u>15.04.19</u> ND	<u>02.05.19</u> 179938 <u>13.05.19</u> 7140 <u>27.05.19</u> ND	<u>03.06.19</u> ND <u>10.06.19</u> ND <u>17.06.19</u> ND <u>24.06.19</u> ND		

ACVC Fecha de trasplante 09.05.19 Día de detección de copias -	R E S U L T A D O P C R											<u>17.04.19</u> ND <u>22.04.19</u> ND	<u>15.05.19</u> ND	<u>03.06.19</u> ND	<u>01.07.19</u> ND <u>30.07.19</u> ND
JJGV Fecha de trasplante 24.05.19 Día de detección de copias +30	R E S U L T A D O P C R												<u>27.05.19</u> ND	<u>24.06.19</u> 3190	<u>08.07.19</u> 7088 <u>22.07.19</u> ND <u>29.07.19</u> ND
YNF Fecha de trasplante 31.05.19 Día de detección de copias +24	R E S U L T A D O P C R													<u>03.06.19</u> 542 <u>10.06.19</u> 589 <u>17.06.19</u> ND <u>24.06.19</u> 1081	<u>01.07.19</u> 73899 <u>08.07.19</u> 37822 <u>22.07.19</u> 562 <u>29.07.19</u> 1287
JGPP Fecha de trasplante 20.06.19 Día de detección de copias +17	R E S U L T A D O P C R													<u>24.06.19</u> ND	<u>01.07.19</u> ND <u>08.07.19</u> 5874 <u>15.07.19</u> 1897 <u>22.07.19</u> 47441 <u>26.07.19</u> 838 <u>29.07.19</u>

GJRG	R														2889
Fecha de trasplante 29.06.19	E														<u>01.07.19</u>
Día de detección de copias +29	S														ND
	U														<u>08.07.19</u>
	L														ND
	T														<u>15.07.19</u>
	A														ND
	D														<u>29.07.19</u>
	O														55157
	P														
	C														
	R														

Tabla 6. Total de pacientes de acuerdo a sexo

TABLA DE ACUERDO A SEXO		
SEXO	PACIENTES	%
Masculino	8	66.6
Femenino	4	33.3
Total	12	100

Tabla 7. Distribución de pacientes de acuerdo a edad

DISTRIBUCION POR EDADES	
AÑOS	NO. DE PACIENTES
5	2
6	2
9	2
11	1
13	2
14	2
15	1
MEDIANA	10.4 AÑOS (Rango 5 a 15 años)

Tabla 7. Relación de pacientes de acuerdo a estatus serológico y día de detección de copias

DÍAS DE INFECCIÓN/ENFERMEDAD POSTRASPLANTE		
PACIENTE	ESTATUS SEROLOGICO DONADOR/RECEPTOR	DÍA POSTRASPLANTE DE PCR >500 copias por primera vez
AMFD	+/-	+39
MGO	+/-	+38
JERD	+/+	+24
ASF	+/+	+18
DIG	-/-	-
EFGS	-/-	-
BICR	+/-	+40
ACVC	-/-	-
JJGV	+/+	+30
YNF	+/+	+24
JGPP	+/+	+17
GJRG	+/+	+29
MEDIANA		21.5 DÍAS (Rango +17-+40)

Tabla 8. Detección positiva de copias de acuerdo con estatus serológico CMV

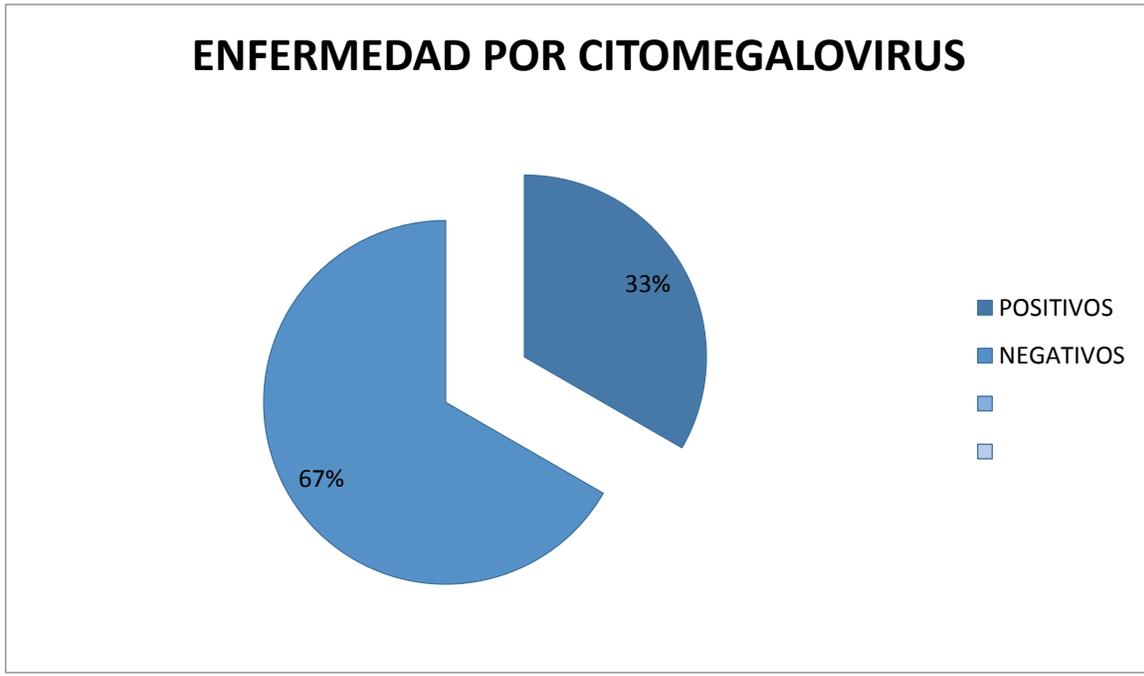
		<u>ESTATUS</u>		<u>Total</u>
		<u>NEGATIVO</u>	<u>POSITIVO</u>	
<u>CMV</u>	<u>NO</u>	<u>3</u>	<u>0</u>	<u>3</u>
	<u>SI</u>	<u>0</u>	<u>9</u>	<u>9</u>
<u>Total</u>		<u>3</u>	<u>9</u>	<u>12</u>

De los 12 binomios totales, 9 fueron serológicamente positivos, el 100% de ellos tuvo positividad de copias de CMV por PCR. En los 3 binomios negativos no se detectó ninguna copia.

<u>Pruebas de chi-cuadrado</u>					
	<u>Valor</u>	<u>df</u>	<u>Significación asintótica (bilateral)</u>	<u>Significación exacta (bilateral)</u>	<u>Significación exacta (unilateral)</u>
<u>Chi-cuadrado de Pearson</u>	<u>12.000^a</u>	<u>1</u>	<u>.001</u>		
<u>Corrección de continuidad^b</u>	<u>7.259</u>	<u>1</u>	<u>.007</u>		
<u>Razón de verosimilitud</u>	<u>13.496</u>	<u>1</u>	<u>.000</u>		
<u>Prueba exacta de Fisher</u>				<u>.005</u>	<u>.005</u>
<u>Prueba de McNemar</u>				<u>.^c</u>	
<u>N de casos válidos</u>	<u>12</u>				

Hay diferencia estadísticamente significativa de acuerdo con la prueba exacta de Fisher.

Gráfico 1. Porcentaje de enfermedad en pacientes con CMV positivo



Respecto al desarrollo de enfermedad por CMV 4 pacientes desarrollaron neumonitis.

Tabla 9. Desarrollo de enfermedad por CMV de acuerdo con estatus serológico

		ESTATUS		Total
		NEGATIVO	POSITIVO	
ENFERMEDAD POR CMV	NO	3	5	8
	SI	0	4	4
Total		3	9	12

Los binomios con estatus negativos no desarrollaron enfermedad (n=3), sin embargo de los 9 binomios con serología positiva solo 4 desarrollaron enfermedad manifestada como neumonitis.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2.000 ^a	1	.157		
Corrección de continuidad ^b	.500	1	.480		
Razón de verosimilitud	2.911	1	.088		
Prueba exacta de Fisher				.491	.255
Prueba de McNemar				. ^c	
N de casos válidos	12				

No se encuentro diferencia estadísticamente significativa.

11. DISCUSIÓN:

Actualmente la infección por CMV es una de las principales causas de morbilidad en los pacientes sometidos a TCPH. En esta revisión la presencia de reactivación de CMV fue similar en los grupos de alto riesgo reportados en la literatura.

Esta establecido que la seroprevalencia en la población mundial para CMV es de hasta 80% en la población adulta de tal forma que en los donadores de trasplante es frecuente presenta serología positiva para CMV. Por lo tanto, el binomio predominante en nuestro estudio fue el D/R positivo/positivo (50%), confiriéndole al receptor 80% de riesgo de reactivación.

Respecto al desarrollo de enfermedad secundaria a la infección por CMV 4 pacientes (33%) desarrollaron neumonitis su binomio de riesgo en un caso fue D/R +/- manifestándose como primoinfección en 3 pacientes fue D/R ++ como reactivación.

La incidencia general encontrada en la población estudiada de infección/reactivación de CMV fue de 9 pacientes (75%).

El promedio de días en que se realizó la detección >500 copias/ml de CMV fue de 21.5 días por lo que es necesario establecer que los binomios de alto riesgo se beneficiaran de un seguimiento más estrecho durante estos días con posibilidad de iniciar tratamiento anticipado.

Comparando el grupo de bajo riesgo D/R -/- en donde no se detectó infección por CMV con los binomios de alto riesgo en donde el 100% tuvo detección de copias de CMV.

12. CONCLUSIÓN:

Un binomio CMV negativo en trasplante haploidéntico puede prevenir episodios de reactivación/enfermedad y podría disminuir la morbimortalidad no asociada a recaída, así como los costos financieros asociados con el uso de antivirales.

Es importante la utilidad de este estudio debido a que nos permite establecer varios puntos de intervención clínica

- 1.- El seguimiento por técnicas de PCR puede ser más amplia en términos de frecuencia, con ello disminuir los costos asociados a esta técnica
- 2.- El uso de medicamentos como ganciclovir no se usan en pacientes en los cuales no hay evidencia de reactivación / enfermedad permitiendo la reducción de costos.
- 3.- Ante la toxicidad propia del virus y del uso de ganciclovir la posibilidad de evitar períodos de hospitalización prolongada así como de apoyo inmunológico es importante para lograr una buena supervivencia sin toxicidad.

13. BIBLIOGRAFIA

1. Rivera-Luna R, Velasco-Hidalgo L, Zapata-Tarrés M, Cárdenas-Cardos R, Aguilar-Ortiz MR. Current outlook of childhood cancer epidemiology in a middle-income country under a public health insurance program. *Pediatr Hematol Oncol*. 2017;34(1):43–50.
2. Mejía-Aranguré JM, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Paredes-Aguilera R, Flores-Aguilar H, Martínez-García MDC. Incidencia de las leucemias agudas en niños de la ciudad de México, de 1982 a 1991. *Salud Publica Mex*. 2000;42(5):431–7.
3. Rodríguez L, González-Llano O, Mancias C, Pompa T, González G, Sandoval A, et al. Observaciones sobre la incidencia de leucemias agudas en el Noreste de México. *Artículo Orig Rev Hematol Mex*. 2010;1111(22):78–81.
4. Tlacuilo-Parra A, Garibaldi-Covarrubias R, Romo-Rubio H, Soto-Sumuano L, Ruiz-Chávez CF, Suárez-Arredondo M, et al. Geographical distribution and cluster detection of childhood leukemia in the metropolitan area of Guadalajara, Mexico. *Rev Investig Clin*. 2017;69(3):159–65.
5. Rivera-Luna R, Zapata-Tarres M, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, Olaya-Vargas A, Finkelstein-Mizrahi N, et al. The burden of childhood cancer in Mexico: Implications for low- and middle-income countries. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2017;64(6):e26366. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.26366>
6. Hunger SP, Lu X, Devidas M, Camitta BM, Gaynon PS, Winick NJ, et al. Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: A report from the children's oncology group. *J Clin Oncol*. 2012;30(14):1663–9.
7. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll a J, Crist W, Gaynon P, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 1996;14(1):18–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8558195>
8. Borowitz MJ, Wood BL, Devidas M, Loh ML, Raetz EA, Salzer WL, et al. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232. *Blood*. 2015;126(8):964–72.
9. Pui C-H, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015;33(27):2938–48. Available from:

<http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2014.59.1636>

10. Maloney KW, Gore L. Agents in Development for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Drugs*. 2018;20(2):111–20.
11. Bailey LC, Lange BJ, Rheingold SR, Bunin NJ. Bone-marrow relapse in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2008;9(9):873–83.
12. Yanir AD, Martinez CA, Sasa G, Leung K, Gottschalk S, Omer B, et al. Current Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Pediatric Acute Lymphocytic Leukemia: Success, Failure and Future Perspectives—A Single-Center Experience, 2008 to 2016. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.03.001>
13. Majhail NS, Farnia SH, Carpenter PA, Champlin RE, Crawford S, Marks DI, et al. Indications for Autologous and Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2015;21(11):1863–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2015.07.032>
14. Sureda A, Bader P, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: Current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(8):1037–56.
15. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia? *Blood J*. 2012;120(14):2807–17.
16. Torío A, Pascual MJ, Vidales I, Ortiz M, Caballero A, Heiniger AI. Donor Selection Based on Killer Cell Immunoglobulin–Like Receptor (KIR) Genotype May Improve Outcome After T-Cell–Replete Haploidentical Transplantation. *Transplant Proc* [Internet]. 2018;50(2):679–82. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.09.070>
17. Chang YJ, Luznik L, Fuchs EJ, Huang XJ. How do we choose the best donor for T-cell-replete, HLA-haploidentical transplantation? *J Hematol Oncol* [Internet]. 2016;9(1):52–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-016-0265-2>
18. Locatelli F, Merli P, Pagliara D, Li Pira G, Falco M, Pende D, et al. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after $\alpha\beta$ T-cell and B-cell depletion. *Blood* [Internet]. 2017;130(5):677–85. Available from: <http://www.bloodjournal.org/lookup/doi/10.1182/blood-2017-04-779769>

19. Lang P, Teltschik HM, Feuchtinger T, Müller I, Pfeiffer M, Schumm M, et al. Transplantation of CD3/CD19 depleted allografts from haploidentical family donors in paediatric leukaemia. *Br J Haematol*. 2014;165(5):688–98.
20. Gonzalez-Llano O, Rodriguez-Romo LN, Mancias-Guerra Mdel C, Tarin-Arzaga L, Jaime-Perez JC, Herrera-Garza JL, et al. Feasibility of an outpatient HLA haploidentical stem cell transplantation program in children using a reduced-intensity conditioning regimen and CD3-CD19 depletion. *Hematology [Internet]*. 2014;19(1):10–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23601986>