



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Evaluación de la Antigenemia pp65 para
Citomegalovirus (CMV) en la detección y prevención
de síndrome y enfermedad por CMV, en niños con
trasplante renal. Experiencia en el Hospital Infantil de
México Federico Gómez

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARIANA CORTINA CORTÉS

TUTORES CLÍNICOS:

DR. RODOLFO NORBERTO JIMÉNEZ JUÁREZ

DRA. IRMA ESTHER DEL MORAL
ESPINOSA

TUTOR METODOLÓGICO:

DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA

MÉXICO D.F.

FEBRERO 2013



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

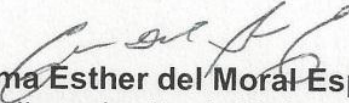
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

TUTORES DE TESIS



Dr. Rodolfo Norberto Jiménez Juárez
Médico Adscrito del Servicio de Infectología
Hospital Infantil de México



Dra. Irma Esther del Moral Espinosa
Médico adscrito de Nefrología
Hospital Infantil de México



Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Jefe de Departamento de Infectología
Hospital Infantil de México

México D.F.

Febrero 2013

AGRADECIMIENTOS

A Marco Arturo... Por mantenerse a mi lado día con día, por su apoyo incondicional y hacer de mí una mejor persona

A mi familia, mi padre, hermanas y hermanos... por brindarme fuerza en este camino

A los danzantes concheros ... por dar luz espiritual a mi vida

A mis hermanos y compañeros de Infectología: Yazmín, Carlos, Lester, Agustín, Edith, David... por todos los consejos, guardias, vivencias juntos

A Sarbelio Moreno y Rodolfo Jiménez por su guía, consejo y apoyo incondicional para el desarrollo de este trabajo

A Irma Esther del Moral e Isidro Franco por su esfuerzo en este proyecto

A Alfonso Reyes por la asesoría metodológica

A mis mejores maestros... los niños

ÍNDICE

| SECCIÓN | PÁGINAS |
|---|----------------|
| Resumen | 5-6 |
| Abstract | 7-8 |
| Introducción | 9-10 |
| Marco teórico | |
| 1. Antecedentes | 11-22 |
| 2. Pregunta de investigación | 23 |
| 3. Justificación | 24 |
| 4. Objetivos | 25 |
| 5. Hipótesis | 26 |
| Material y Métodos | |
| 1. Diseño de investigación | 27 |
| 2. Población y muestra | 27 |
| 3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación | 28 |
| 4. Definición conceptual y operativa de las variables | 28-33 |
| 5. Análisis estadístico | 33 |
| 6. Consideraciones éticas | 34 |
| Resultados | 35-40 |
| Discusión y limitaciones del estudio | 42-45 |
| Conclusiones | 47 |
| Referencias bibliográficas | 48-50 |
| Anexo | 51 |

RESUMEN

Título: Evaluación de la Antigenemia pp65 para Citomegalovirus (CMV) en la detección y prevención de síndrome y enfermedad por CMV, en niños con trasplante renal. Experiencia en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Antecedentes: La antigenemia pp65 para CMV ha sido utilizada para guiar el tratamiento anticipado y seguimiento de síndrome/enfermedad en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal. No contamos con un punto de corte estandarizado para el inicio de tratamiento anticipado en estos pacientes.

Objetivo: Establecer el mejor punto de corte para predecir síndrome/enfermedad por CMV en pacientes pediátricos con trasplante renal.

Material y métodos: Estudio de cohorte retrospectiva. Se revisaron todos los expedientes de niños que recibieron trasplante renal desde 1 de enero 2006 hasta 31 diciembre 2010 del Hospital Infantil de México Federico Gómez hasta 18 meses posterior al trasplante. Se revisó la exploración física, parámetros de laboratorio, antigenemia pp65 e información sobre tratamiento. Como estándar de oro se consideró la definición de Arias¹¹ en 2012 para síndrome o enfermedad por CMV. Se realizó una curva ROC para establecer el valor de corte óptimo para indicar un resultado positivo, sensibilidad, especificidad, LR+ y LR-.

Resultados: Se realizaron 146 trasplantes renales entre 2006 y 2010 de los cuales se incluyeron 131. La edad promedio al momento del trasplante renal fue de 14.01 años (DE 3.3699), 77 (58%) fueron varones. Se encontraron 33 pacientes (56%) con riesgo intermedio y 26 pacientes (44%) con riesgo elevado para CMV. Entre los sujetos que tuvieron síndrome/enfermedad por CMV, el tiempo promedio entre el trasplante renal y el inicio de los síntomas fue de 15 semanas. El área bajo la curva ROC de la antigenemia pp65 para predecir síndrome/enfermedad por CMV fue de 0.70. Un valor de antigenemia pp65 de al

menos 3 células/200,000 PMN (leucocitos polimorfonucleares) otorga sensibilidad de 85.7%, especificidad de 42.3%, con un LR+ 1.4857, LR- 0.3377. El valor de corte de al menos 4 células/200,000 PMN otorga la predicción más sensible y específica con un incremento en la RM para el desarrollo de síndrome/enfermedad por CMV con sensibilidad 71.4%, especificidad 55.7%, LR+ 1.6149, LR- 0.5123.

Conclusiones: El valor de corte de 4 células/200,000 PMN debe ser utilizado como guía para el tratamiento anticipado antiviral en pacientes pediátricos con trasplante renal. Sin embargo, la antigenemia pp65 para CMV tiene una sensibilidad y especificidad baja para predecir síndrome y enfermedad por CMV. Se requiere una prueba diagnóstica más sensible que nos permitirá establecer el riesgo individual de cada paciente como sería una PCR en tiempo real para realizar una estrategia preventiva exitosa en pacientes receptores de trasplante renal.

ABSTRACT

Title: The Best Cutoff Value to Predict Cytomegalovirus Syndrome or Disease in Pediatric Kidney Transplant Recipients.

Background: The pp65 cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay has been used to guide the pre-emptive therapy and follow-up of CMV syndrome/disease in pediatric kidney transplant recipients (PKTR). We do not have a standardized cutoff value to start preemptive treatment in PKTR.

Objective: To establish the best cutoff value to predict CMV syndrome or disease in PKTR.

Methods: All PKTR between January 1, 2006, and December 31, 2010 at Hospital Infantil de Mexico, Mexico City, were retrospectively reviewed for eighteen months following transplantation. Physical examination results, laboratory parameters, antigenemia and therapy information were reviewed. A receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed for plausible thresholds of positivity for CMV antigenemia testing to determine the optimal cutoff value that would indicate a positive result, sensitivity, specificity, positive likelihood ratio (LR+) and negative likelihood ratio (LR-).

Results: A total of 131 PKTR (146 eligible KTR) were included. Average age of transplantation was 14.01 years (1.16-18.75), 77 (58%) were male. Intermediate risk to develop CMV syndrome/disease was present in 33 patients (56%) and high risk in 26 patients (44%). The overall performance characteristics of the antigenemia assay in predicting CMV syndrome/disease included an area under the ROC curve of 0.70. Average time among transplantation and onset symptomatology was 15 weeks. An antigenemia test cutoff value of at least three positive cells per 200,000 PMN (polymorphonuclear leukocytes) provided a sensitivity of 85.7%, specificity of 42.3%, LR+ of 1.4857, LR- of 0.3377. The cutoff

value of at least four positive cells per 200,000 PMN provided the most sensitive and specific prediction, with increased odds of developing CMV syndrome/disease with sensitivity of 71.4%, specificity of 55.7%, LR+ of 1.6149, LR- of 0.5123.

Conclusions: Cutoff value of four positive cells per 200,000 PMN should be used to guide pre-emptive antiviral therapy in PKTR. Nevertheless, this assay has poor overall sensitivity and specificity to predict CMV syndrome/disease. Further study with other therapeutic tools such as real-time PCR must be evaluated to predict CMV syndrome/disease in PKTR.

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) es un agente causal frecuente de infecciones asintomáticas en pacientes inmunocompetentes; sin embargo puede producir enfermedad grave e incluso letal en pacientes inmunocomprometidos, en particular aquellos que están sometidos a trasplante de células hematopoyéticas o de órganos sólidos¹. Su incidencia en trasplante de órgano sólido para infección activa es del 36% y para enfermedad por CMV del 19%².

La enfermedad por CMV es una de las causas frecuentes de rechazo agudo al injerto³. La presencia de CMV latente tanto en donadores como en receptores de trasplante renal constituye una fuente de infección de CMV en aquellos pacientes receptores de trasplante renal.

En 2008 Hughes⁴ demostró que la diferencia de estatus de antigenemia para CMV entre donador y receptor de trasplante es una variable importante a considerar para el riesgo de infección, síndrome o enfermedad por CMV en una cohorte grande de receptores de trasplante renal.

Existen diferentes técnicas para detectar una infección por CMV: cultivo viral, antigenemia pp65, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y ensayos ARN-ADN híbridos para cuantificar la replicación viral. Sin embargo, la detección del antígeno pp65 en los leucocitos de sangre periférica mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) o antigenemia ha sido la técnica más utilizada para el monitoreo y tratamiento de la infección activa por CMV en pacientes inmunocomprometidos.

A pesar de que este método es sumamente sensible para la detección de la replicación viral y es uno de los instrumentos más utilizados en nuestro país, es

necesario estandarizar adecuadamente sus valores de corte para establecer de forma adecuada el momento de iniciar antiviral durante la terapia anticipada o tratamiento en los pacientes post-trasplantados.

Debido a la larga latencia de CMV, muchos pacientes post-trasplantados secretan el virus sin presentar enfermedad clínica, lo cual no significa que ameriten tratamiento con ganciclovir; por lo tanto, la detección sistémica de la replicación viral proporciona un método ideal para predecir aquellos pacientes que podrían desarrollar síndrome/enfermedad por CMV.

Hasta la fecha no se conoce la relación entre los valores de la antigenemia pp65 en pacientes receptores de trasplante renal para determinar síndrome y enfermedad por CMV en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIM FG).

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

Citomegalovirus

El CMV es un virus que pertenece a la familia Herpes virus y a la subfamilia *Betaherpesviridae*. Consta de un genoma con doble cadena lineal de ADN, con estructura icosaédrica con diámetro de 150 a 200 nm y contiene 235 pares de bases codificados aproximadamente por 165 genes.

El ADN del CMV se encuentra rodeado por tres capas: tegumento, cápside con 162 proteínas (capsómeros) y una envoltura externa rodeada por una bicapa lipídica. La cápside contiene a los tegumentos que consisten de tres fosfoproteínas: pp150, pp65 y pp 171.

La forma de transmisión es por medio de la saliva, contacto sexual, vía transplacentaria, alimentación al seno materno, transfusión sanguínea, trasplante de órgano sólido o transfusión de células madres hematopoyéticas progenitoras.

Posterior a la primoinfección durante la vida posnatal, la cual generalmente es asintomática, el virus permanece latente en la sangre periférica en el interior de múltiples células (linfocitos, monocitos, leucocitos). De forma ocasional algunos pacientes desarrollan un síndrome de mononucleosis infecciosa.

La infección por CMV tiene una distribución mundial e infecta a los seres humanos de todas las edades sin existir un modelo epidemiológico o estacional de transmisión.

Es importante reconocer que todo estado del huésped en el cual exista una depleción en la función de los linfocitos T provocará que el paciente presente mayor susceptibilidad a infección por CMV. La prevalencia de anticuerpos positivos para CMV en México es de aproximadamente el 80% en la población

adulta y se ha descrito que esta prevalencia se incrementa conforme a la edad y en estratos sociales menos favorecidos⁵.

De acuerdo con la tesis de Rojas Saavedra realizada en el HIM FG y publicada en 2010⁶ se encontró una incidencia de infección postrasplante renal por CMV de 100% en 1991 con una disminución hasta 28.5% en 2007 y el CMV fue el responsable de la pérdida del injerto en el 100% de los casos en 1991, 50% en 1997, 38% en 1998 y 20% en el 2003. De acuerdo con esta tesis ya no hubo pérdida del injerto asociada con infección por CMV desde el 2004.

Efectos del CMV en el Huésped

La infección primaria por CMV en pacientes sometidos a trasplante renal puede ser grave y ocurre de manera sintomática en el 8-32% de los pacientes. La infección suele aparecer en los primeros meses posteriores al trasplante (2-6 meses) pero ésta puede manifestarse años después del mismo.

Sus manifestaciones clínicas dependen principalmente del estado inmunológico del paciente, la edad y la vía de infección.

La serología para CMV en donadores y receptores del trasplante renal tiene un impacto elevado en la supervivencia del trasplante renal. Los órganos de donadores positivos para CMV se definen de alto riesgo (D+/R-) para la infección en los primeros 3 años posteriores al trasplante por lo cual se utiliza un tratamiento profiláctico en ellos⁷.

En los pacientes sometidos a trasplante renal se han descrito algunos factores de riesgo para la infección o reactivación por CMV dentro de los cuales encontramos: dosis elevadas de corticoesteroides, micofenolato mofetil, estimulación alogénica, coinfecciones por otros virus del grupo herpes, hipotermia intraoperatoria durante el trasplante, tiempo prolongado de isquemia durante el trasplante, estrés^{7,8,9}.

La reactivación de la infección del CMV es causa importante de morbimortalidad en pacientes de alto riesgo en el trasplante ya que posterior al mismo existe una deficiencia combinada cuantitativa y cualitativa de linfocitos T y B, lo cual se manifiesta como trastorno en la función de células T cooperadoras y síntesis de inmunoglobulinas, pero también en un daño en la respuesta de las células T citotóxicas¹⁰.

Otro factor a tomar en cuenta que condiciona mayor riesgo en el trasplante renal es el tipo de inmunosupresión que recibe el paciente, siendo los pacientes de mayor riesgo aquellos que han recibido anticuerpos antilinfocitarios policlonales, terapia con recambios plasmáticos o rituximab¹¹.

El CMV en pacientes receptores de trasplante renal se ha asociado además con efectos indirectos como son: a) mayor rechazo agudo del injerto y con disfunción crónica del injerto secundario a arterioesclerosis. b) riesgo incrementado de desarrollar nuevas infecciones oportunistas bacterianas, fúngicas o víricas c) diabetes *mellitus* d) enfermedad cardiovascular e) síndrome linfoproliferativo postrasplante relacionado con la activación del virus Epstein Barr. Los factores de riesgo para la aparición de estos efectos indirectos son la seropositividad para CMV, antigenemia positiva persistente de baja intensidad y enfermedad por CMV¹¹.

Infección por CMV: Detección de replicación viral mediante antigenemia pp65 o PCR para CMV sin manifestaciones clínicas.

Síndrome por CMV: Fiebre >38°C durante al menos 2 días en un periodo de 4 días acompañado de leucopenia, trombocitopenia, artralgias, mialgias y ocasionalmente elevación de las transaminasas. Es la forma más común de manifestación clínica y responde rápidamente al tratamiento antiviral¹¹.

Enfermedad por CMV: Replicación viral detectada mediante antigenemia pp65 o PCR para CMV asociada a sintomatología clínica (síndrome viral o enfermedad invasiva a un órgano específico). La enfermedad por CMV se considera tardía cuando aparece después del tercer a sexto mes postrasplante, generalmente al finalizar la profilaxis¹¹. Se comentan a continuación 2 enfermedades de importancia.

Neumonía por CMV: Se define como la presencia de enfermedad pulmonar aunada al hallazgo del virus en el lavado broncoalveolar o de muestras de tejido pulmonar. En la mayoría de los casos ocurre entre las semanas 5 y 13 con un máximo de incidencia en la semana 8, posterior al trasplante. La mortalidad por esta patología disminuye hasta 50% cuando se administra tratamiento antiviral y gammaglobulina hiperinmune específica¹⁰. Existen diversos factores de riesgo para desarrollar esta infección como lo son la deficiencia prolongada de actividad de linfocitos T citotóxicos específicos para CMV, los receptores seropositivos, pacientes de mayor edad, uso de ciclosporina y diagnóstico de la enfermedad¹⁰. El cuadro clínico se caracteriza por hipoxia e insuficiencia respiratoria ocasionada por daño citopático de la replicación viral y los mecanismos inmunopatógenos del hospedador.

Enfermedad gastrointestinal por CMV: Es la combinación de síntomas clínicos en tubo digestivo encontrando lesiones macroscópicas en la endoscopia (úlceras) y pruebas de infección en las biopsias. El cuadro clínico se presenta según la zona afectada en el tubo digestivo.

Detección de fosfoproteína de matriz pp65 (Antigenemia pp65)

El antígeno pp65 es una fosfoproteína de expresión temprana, la cual se encuentra en la matriz y se expresa en el periodo temprano de replicación viral. El valor predictivo de la antigenemia pp65 para detectar enfermedad o síndrome por CMV no es categórico, ya que existen ocasiones en las cuales existen pacientes

con enfermedad grave y cuentas bajas de antígeno o por el contrario pacientes completamente asintomáticos con cuentas altas de antígeno. Sin embargo por lo general existe una adecuada correlación clínico-laboratorial¹².

Esta técnica consiste en la identificación de la proteína de matriz pp65 del CMV humano en preparados de leucocitos en sangre. Se realiza mediante anticuerpos monoclonales dirigidos contra la proteína pp65, identificándola en el citoplasma de los leucocitos y al administrar fluoresceína y conjugarse con el anticuerpo, ésta se hace evidente¹³.

La mezcla de anticuerpos monoclonales se une al antígeno pp65 de los leucocitos fijados con formol y aquellos anticuerpos que no se unen se eliminan al lavarlos con solución salina de cebador fosfato. Posteriormente los anticuerpos conjugados de isotiocianato de fluoresceína se unen al complejo antígeno-anticuerpo y se observan de un color verde manzana fosforescente, el cual se excita por la luz ultravioleta permitiendo visualizar el complejo mediante microscopía de fluorescencia. La prueba se diagnostica como positiva mediante la fluorescencia nuclear. Cuando las células no están infectadas se observan con una tinción de contraste, la cual es de color rojo oscuro por la presencia de azul de Evans.

Esta prueba se utiliza para el diagnóstico de infección, síndrome o enfermedad por CMV, como criterio para iniciar el tratamiento anticipado y finalmente para monitorizar la respuesta al tratamiento de CMV.

El valor de corte positivo debe de analizarse cuidadosamente ya que los resultados son expresados como el número de células que expresan el antígeno del total de células empleadas en el método, las cuales se ajustan a una cifra constante, la cual puede ser de 150,000 a 200,000 células.

En algunas referencias se considera infección cuando existe > 1 célula/100,000 PMN y enfermedad con aquellos con ≥ 1 célula/100,000 PMN si el receptor es negativo para CMV y >10 células/100,000 PMN si el receptor era positivo para CMV previo al trasplante¹¹. A pesar de estos valores de corte, es más importante observar la cinética de dichos valores de corte más que la cantidad de células/100,000 PMN reportadas.

La prueba de antigenemia puede realizarse en 4-5 horas con una sensibilidad y especificidad que puede ser variable de acuerdo con el laboratorio en donde se procese. Sus ventajas son que tienen un costo accesible para la mayoría de los laboratorios y da un informe parcialmente cuantitativo¹⁴. Sin embargo no debemos olvidar que ya que la determinación de antigenemia pp65 de CMV se basa en la presencia de antígeno en células, se requiere de un número suficiente de granulocitos por lo cual su determinación puede ser difícil en pacientes en fase temprana de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénico, neutropenia grave o infección por virus de la inmunodeficiencia humana¹⁵. En estos pacientes es preferible realizar la determinación del virus mediante PCR cuantitativa.

Cultivo viral

Es el primer método diagnóstico que se llevó a cabo en fibroblastos humanos y se considera el diagnóstico de oro, al observar efectos citopáticos en las células o mediante la detección de antígenos que se producen en el tejido o por anticuerpos monoclonales marcados. Existen tres tipos de cultivos celulares: 1) estudio en placa, 2) determinación TCID50 y 3) cultivo rápido (*shell vial*)¹³.

El *shell vial* es un cultivo de tejidos a partir del cual podemos obtener resultados posterior a 16 a 24 horas de inoculación. A pesar de que la detección del virus mediante el aislamiento en leucocitos de sangre periférica tiene una buena correlación clínica, no es útil en pacientes receptores de trasplante renal para

instaurar la terapia anticipada, ya que la sensibilidad y especificidad de este método es baja en comparación con la antigenemia pp65¹⁴.

En general, los diferentes cultivos tienen baja sensibilidad, consumen gran cantidad de tiempo para su realización, se requieren de cultivos celulares en el laboratorio y personal capacitado y requieren en el caso del cultivo convencional de un tiempo de crecimiento de 2 a 3 semanas para confirmar el efecto citopático del virus e inferir la replicación viral. Debido a este tiempo prolongado, el cual no puede tomarse a la ligera en pacientes inmunocomprometidos, este método diagnóstico no es útil en la práctica diaria para la toma de decisiones terapéuticas en pacientes receptores de trasplante renal.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR) para detección de citomegalovirus

La reacción en cadena de la polimerasa que se utiliza para la amplificación selectiva de secuencias de ácidos nucleicos constituye una técnica sumamente sensible y específica para la detección de ADN viral de CMV. Sin embargo, una de sus desventajas es que no puede diferenciar entre replicación viral activa o latencia. Su sensibilidad y especificidad es comparable con la de la antigenemia.

Cualquier valor positivo de PCR de CMV se considera indicativo de infección sin embargo, aquellos pacientes con >500 copias en plasma en receptores de trasplante seronegativos y >1000 copias en plasma en receptores seropositivos se consideran sospechosos de enfermedad¹¹.

En el Hospital Infantil de México se utiliza una PCR en tiempo real a partir de la cual se pueden obtener resultados positivos en 30 a 40 minutos con detección de la región genómica de la glucoproteína B, con un límite de detección mínima de 200 copias a 1×10^6 .

Tratamiento

Actualmente existen tres fármacos que se utilizan tanto para la prevención como el tratamiento del CMV: ganciclovir, valganciclovir y foscarnet.

El ganciclovir es un profármaco que se fosforila a ganciclovir 5-monofosfato dentro de las células infectadas mediante una cinasa de timidina que es codificada por el gen UL97 viral. Dentro de las células del hospedero, las cinasas celulares fosforilan el fármaco a las formas difosfato y trifosfato, y éste inhibe la polimerasa de ADN viral por competencia con el trifosfato de desoxiguanosina, deteniendo la replicación viral. Su administración es por vía intravenosa ya que tiene una biodisponibilidad limitada por vía oral de aproximadamente 6%. La dosis de inducción es de 5mg/kg cada 12 horas y de mantenimiento de 5mg/kg/día¹⁶.

El valganciclovir es un profármaco de ganciclovir con biodisponibilidad oral del 60%. Es un fármaco que aún no está aprobado en niños de forma estandarizada para profilaxis o tratamiento de infección por CMV sin embargo, en adultos la dosis es de 900mg al día, la cual es comparable a la dosis de ganciclovir 5mg/kg/día¹⁶. Actualmente en el HIM FG se están llevando a cabo protocolos de profilaxis con este medicamento en pacientes receptores de trasplante renal con distintas duraciones de tratamiento.

El foscarnet es un análogo de pirofosfato que inhibe la polimerasa de ADN viral. Este fármaco no requiere la cinasa de timidina codificada por el virus para su activación. Es un agente farmacológico de segunda línea para tratamiento de infección por CMV resistente ya que es sumamente tóxico. La dosis de inducción es de 60mg/kg cada 8 horas de 14 a 21 días o 90mg/kg cada 12 horas por 14 a 21 días. La terapia de sostén va de 90 a 120mg/kg/día en una sola infusión¹⁶.

Existen diferentes modalidades de tratamiento de la infección por CMV postrasplante entre las cuales se describen:

Profilaxis

Se administra un fármaco antiviral de forma continua durante el periodo de mayor riesgo de la infección de acuerdo con el estado serológico pretrasplante (Pacientes D+/R-). Se realiza con ganciclovir IV, valganciclovir o ganciclovir oral. Es una técnica fácil de iniciar y al llevarla a cabo se puede espaciar el seguimiento virológico.

Una revisión de Cochrane 2008 publicada por Hodson¹⁷ et al. concluyó que al comparar la profilaxis con aciclovir, ganciclovir o valganciclovir contra placebo se disminuyó el riesgo de enfermedad por CMV en trasplante renal con un riesgo relativo RR 0.42 (95% IC 0.31-0.57). Este metanálisis mostró que la profilaxis disminuyó significativamente todas las causas de mortalidad en receptores de trasplante de órgano sólido con RR 0.63 (IC95%, 0.43-0.92). Asimismo el ganciclovir fue más eficaz que el aciclovir en la prevención de enfermedad por CMV sin otras diferencias clínicas relevantes con RR 0.37 (IC 95% 0.23-0.60).

La duración de la profilaxis se ha establecido clásicamente en 1-3 meses. El estudio IMPACT¹⁸ en 326 pacientes postrasplante renal de alto riesgo para la infección por CMV se comparó la profilaxis con valganciclovir 100 días frente a 200 días indicando una tasa de enfermedad tardía de 37% vs 16% respectivamente, sin embargo el tratamiento prolongado con valganciclovir aumenta el riesgo de toxicidad y puede favorecer la aparición de cepas de virus resistentes o CMV tardíos.

Algunos inconvenientes de la terapia profiláctica son la toxicidad, principalmente medular y renal, potenciada por la administración simultánea de fármacos con efectos tóxicos aditivos, así como la necesidad de mantener un acceso vascular por tiempo prolongado y resistencias farmacológicas. A pesar de su eficacia relativa, no existe evidencia suficiente que sustente que esta técnica es superior al

tratamiento anticipado y debido al riesgo de desarrollar resistencia al ganciclovir con la misma, en contextos como el de México, es posible que sea más prudente utilizar la terapia anticipada, ya que no se cuenta con otros tratamientos como foscarnet¹⁹. Actualmente el medicamento más utilizado en profilaxis es el valganciclovir.

Finalmente es importante reconocer que no existen estudios controlados específicos en la prevención de la infección/síndrome/enfermedad por CMV en la población pediátrica con trasplante renal.

Tratamiento anticipado

Consiste en monitorizar de forma periódica la posibilidad de infección mediante pruebas diagnósticas de replicación viral (antigenemia pp65 o PCR para CMV). Si las pruebas son positivas a partir de un punto de corte definido, se inicia el tratamiento antiviral hasta la resolución clínica y la negativización de la prueba. Esta técnica depende del apego del paciente para toma de la muestra, así como del método diagnóstico que sea empleado. Algunas ventajas teóricas sobre la profilaxis son las de dirigir la prevención sólo a pacientes con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, efectuar la prevención en el periodo de mayor riesgo, limitar la toxicidad, reducir costos y disminuir la selección de cepas resistentes²⁰.

De acuerdo con la revisión de Cochrane antes mencionada, el tratamiento anticipado frente a placebo redujo significativamente el riesgo de enfermedad por CMV con RR 0.29 (IC 95% 0.11-0.80) pero no de rechazo agudo ni mortalidad global¹⁷.

Debido a la técnica para realizar las pruebas diagnósticas, cada institución debe determinar el valor de corte para iniciar terapia anticipada, el cual varía de acuerdo al tipo de paciente, tipo de trasplante, órgano trasplantado, entre otros.

Vacunación para CMV

Recientemente se publicaron resultados de un ensayo clínico con una vacuna fabricada a partir de la glucoproteína B administrada con el adyuvante MF59. Este ensayo clínico se llevó a cabo en mujeres en puerperio, demostrando que la vacuna disminuyó las infecciones por CMV incrementando el optimismo del desarrollo de una vacuna con protección suficiente para CMV²¹. Actualmente se encuentran otras vacunas vs CMV en ensayos clínico, las cuales se enfocan en subunidades de la glucoproteína B, partículas de alphavirus, vacunas de ADN y vacunas vivas atenuadas. Existen a su vez diversas estrategias que se encuentran en sistemas preclínicos y modelos animales de infección²².

Diferentes protocolos de trasplante renal

Existen diferentes protocolos de trasplante renal llevados a cabo en el HIM FG que vale la pena revisar, ya que dentro de los mismos existen distintos esquemas de inmunosupresión los cuales pueden contribuir o no a la presentación de síndrome o enfermedad por CMV.

Tratamiento convencional

1. Dos dosis de basiliximab (anticuerpos monoclonales anti-receptor de interleucina 2) IV el día de la cirugía y en el 4^o. día de postoperatorio
2. Esteroides. Se dan 3 dosis IV de metilprednisolona a 10mg/kg en los primeros tres días post-trasplante renal, posteriormente se pasa a prednisona oral y la dosis se va disminuyendo progresivamente, hasta una dosis mínima de mantenimiento
3. Tacrolimus. Inicia en el periodo post-trasplante cuando la creatinina sérica es menor de 3mg/dl y se ajusta la dosis para tener niveles séricos de 5 a 10 ng/ml

4. Mofetilmicofenolato. Dosis 900mg/m²SC/día dividido en dos tomas. Inicia un día previo al trasplante renal y se ajusta la dosis según la cuenta leucocitaria sanguínea

Tratamiento SIN esteroides

1. Daclizumab (anticuerpos humanizados anti-receptor de interleucina 2) IV la primera dosis se administra 4 horas antes del trasplante, y posteriormente en forma semanal en las semanas 2,4,5,6,8,11,15,19 y 23 para alcanzar una dosis acumulada de 10mg/kg a los 6 meses post-trasplante.
2. Tacrolimus. Se inicia el día del trasplante a dosis de 0.15mg/kg dividido cada 12 horas, la dosis se ajusta para alcanzar los siguientes niveles en valle según el tiempo post-trasplante.
Semanas 1 y 2: 12-15ng/ml
Semanas 3-8: 10-12 ng/ml
Semanas 9-12: 8-10 ng/ml
Semanas 13-20: 5-7 ng/ml
Más de 20 semanas: 3-5 ng/ml
3. Mofetilmicofenolato. Dosis 900mg/m²SC/día dividido en dos tomas. Inicia el día del trasplante renal. La dosis se disminuye a 600 mg/m²SC/día a las dos semanas post-trasplante.

Seguimiento con biopsias del injerto renal

Debido a que se analizarán los hallazgos de biopsias renales junto con antigenemias positivas debemos tomar en cuenta que de manera estandarizada y como parte del seguimiento del injerto renal se realizan cuatro biopsias en un periodo de dos años: en el momento del trasplante, a los seis meses, a los 12 meses y a los 2 años post-trasplante. Asimismo, se realizan biopsias renales adicionales en caso de deterioro de la función renal.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el mejor punto de corte de la antigenemia pp65 para la detección de síndrome o enfermedad por CMV en niños que recibieron trasplante renal entre 2006 y 2010?

JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico de síndrome y enfermedad por CMV en pacientes sometidos a trasplante renal no puede realizarse incluyendo únicamente manifestaciones clínicas y requiere de un método auxiliar de laboratorio que sea seguro, confiable, disponible, sensible y específico.

La mayor limitación de la técnica de antígenemia pp65 para el diagnóstico de síndrome/enfermedad por CMV es la falta de criterios estándar para la interpretación de un mismo resultado entre laboratorios y que depende de un observador experimentado para su interpretación.

Debido a que en el HIM FG se utiliza esta prueba para el seguimiento y diagnóstico de infección por CMV en los pacientes sometidos a trasplante renal es fundamental establecer un punto de corte estandarizado para dicha institución con la finalidad de normar conductas diagnóstico-terapéuticas en todos los pacientes que se encuentran en esta situación clínica.

OBJETIVO

General:

Comparar los diferentes puntos de corte de la antigenemia pp65 para determinar su capacidad de detección de síndrome y enfermedad por CMV en niños sometidos a trasplante renal en el Hospital Infantil de México en el periodo 2006-2010.

Particulares:

Determinar la sensibilidad, especificidad, razón de verosimilitud positiva y negativa de diferentes puntos de corte de la antigenemia pp65 para predecir síndrome o enfermedad por CMV.

HIPÓTESIS

El mejor valor de corte de la antigenemia pp65 para predecir síndrome o enfermedad por CMV en receptores de trasplante renal se encuentra entre 4 y 6 células/200,000 PMN.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se revisaron los expedientes de forma retrospectiva de todos los receptores de trasplante renal registrados en la base de datos del HIM FG entre el 1 de enero de 2006 y 30 de diciembre de 2010, a partir de la fecha del trasplante renal hasta 18 meses posterior al mismo. Se seleccionaron los expedientes que fueron positivos para infección, síndrome o enfermedad por CMV. Posteriormente se recolectaron los datos en un formato base y se evaluó la información sobre la exploración física, parámetros de laboratorio, resultados de antigenemia para CMV, PCR y tratamiento otorgado.

Diseño del estudio:

Observacional, descriptivo, cohorte retrospectiva, de prueba diagnóstica

Población elegible:

Pacientes que hayan recibido trasplante renal en el HIM FG en el periodo comprendido del 2006-2010.

Población objetivo:

Pacientes que hayan recibido trasplante renal con enfermedad o síndrome por CMV en el HIM FG en el periodo comprendido del 2006-2010.

Cálculo del tamaño de la muestra:

Debido a que se trata de un estudio descriptivo, el cálculo del tamaño de la muestra es a conveniencia y se incluirán todos los pacientes que recibieron un trasplante renal en el HIM FG durante el periodo 2006-2010 y que cumplan con los criterios de inclusión establecidos.

Criterios de inclusión:

- Menor de 18 años
- Cualquier género
- Receptor de trasplante renal de 2006 a 2010 en el HIM FG
- Enfermedad o síndrome por CMV
- Seguimiento clínico y serológico para CMV durante 18 meses posteriores al trasplante renal

Criterios de exclusión:

- Todos los expedientes que no contengan información básica como fecha de trasplante y diagnóstico de la enfermedad o síndrome, tratamiento médico, evolución clínica.

Definiciones Operacionales:

Infección por CMV: Detección de replicación viral detectada mediante antigenemia pp65 o PCR para CMV sin manifestaciones clínicas¹¹.

Síndrome por CMV: Fiebre >38°C durante al menos 2 días en un periodo de 4 días acompañado de leucopenia, trombocitopenia, artralgias, mialgias y ocasionalmente elevación de las transaminasas. Es la forma más común de manifestación clínica y responde rápidamente al tratamiento antiviral¹¹.

Enfermedad por CMV: Replicación viral detectada mediante antigenemia pp65 o PCR para CMV asociada a sintomatología clínica (síndrome viral o enfermedad invasiva a un órgano específico). Cuando se trata de enfermedad se debe demostrar la presencia del virus en el órgano afectado mediante inclusiones virales en la histología, inmunohistoquímica, hibridación *in situ* o cultivo viral. Los

siguientes órganos son los más frecuentemente afectados por lo que se definen dichas entidades.

- a)** Enfermedad pulmonar por CMV: Presencia de enfermedad pulmonar aunada al hallazgo del virus mediante antigenemia PCR o cuerpos de inclusión en el lavado broncoalveolar o muestras de tejido pulmonar. Incluye las siguientes manifestaciones clínicas: fiebre, tos seca, deshidratación que progresa rápidamente a signos y síntomas de dificultad respiratoria, disnea e hipoxemia. A nivel radiográfico se pueden observar datos de neumonía intersticial bilateral.
- b)** Enfermedad gastrointestinal por CMV: Es la combinación de síntomas clínicos en tubo digestivo encontrando lesiones macroscópicas en la endoscopia (úlceras) y pruebas de infección en las biopsias. Es la manifestación clínica más frecuente de enfermedad por CMV. El cuadro clínico se presenta según la zona afectada en el tubo digestivo manifestado por esofagitis, gastritis, gastroenteritis, obstrucción pilórica, hepatitis, colecistitis, pancreatitis y colitis²³.

| Variable | Definición | Escala de medición y tipo de variable |
|---------------------------------|---|--|
| Edad | Tiempo de existencia desde el nacimiento definida en años | Numérica, continua |
| Género | Características biológicas de un varón o mujer | Dicotómica, categórica 1. Femenino 2. Masculino 3. |
| Causa de la insuficiencia renal | Motivo que llevó al riñón hacia la incapacidad de desarrollar sus funciones normales de forma adecuada. Puede referirse a una alteración a nivel glomerular o a nivel tubular | Politómica, categórica 1. Causa no determinada 2. Glomerulopatías a. Primarias (Alport, membrana basal delgada) b. Secundarias (Lupus) |

| | | |
|-----------------------------|--|--|
| | | eritematoso generalizado, Púrpura de Henoch-Shönlein |
| | | 3. Malformaciones urológicas |
| | | 4. Hipoplasia renal |
| | | 5. Agenesia renal |
| | | 6. Tumor de Wilms |
| Tipo de donador | Persona sana que cede un órgano (riñón) a otra persona que ha perdido la función de dicho órgano y que sean compatibles | Dicotómica, categórica 1. Vivo relacionado 2. Fallecido |
| Serología CMV donador | Presencia de anticuerpos IgG para CMV | Dicotómica, categórica 1. Positivo 2. Negativo |
| Serología CMV receptor | Presencia de anticuerpos IgG para CMV | Dicotómica, categórica 1. Positivo 2. Negativo |
| Riesgo de infección por CMV | Exposición para riesgo de infección por CMV Riesgo bajo: El receptor tiene anticuerpos IgG positivo y el donador es negativo Riesgo intermedio: Tanto el donador como el receptor tienen anticuerpos IgG positivos Riesgo alto: El receptor no tiene anticuerpos IgG y el donador es positivo | Politómica, categórica 1. Riesgo bajo 2. Riesgo intermedio 3. Riesgo alto |
| Fecha del trasplante | Tiempo en que se realizó el trasplante | Numérica, continua |
| Tiempo de isquemia fría | Tiempo en minutos en los cuales el injerto se mantuvo en isquemia fría durante el trasplante | Numérica, continua |
| Tiempo de isquemia caliente | Tiempo en minutos en los cuales el injerto se mantuvo en isquemia caliente durante el trasplante | Numérica, continua |
| Tiempo total de isquemia | Tiempo en minutos en los cuales el injerto se mantuvo en isquemia | Numérica, continua |

| | | |
|---|--|--|
| Valor de la antigenemia | fría y caliente durante el trasplante Número de células detectadas por 200,000 PMN en suero | Politémica, categórica 1. Una célula 2. Dos células 3. Tres células 4. Cuatro células 5. Cinco células Más de 5 células se codificaron de acuerdo con el número exacto |
| Desenlace del valor de antigenemia | Valor de antigenemia aunado a datos clínicos y/o de laboratorio de acuerdo a las definiciones estandarizadas | Politémica, categórica 1. Infección por CMV 2. Síndrome por CMV 3. Enfermedad por CMV |
| Biopsia renal asociada a la toma de antigenemia | Toma de Biopsia renal junto con antigenemia positiva para evaluación histopatológica | Dicotómica, categórica 1. Sí 2. No |
| Síndrome asociado a CMV | Fiebre >38°C durante al menos 2 días en un periodo de 4 días acompañado de leucopenia, trombocitopenia, artralgias, mialgias y ocasionalmente elevación de las transaminasas. | Dicotómica, categórica 1. Sí 2. No |
| Enfermedad asociada a CMV | Manifestación subjetiva u objetiva de enfermedad hepática, gastrointestinal, respiratoria, hematológica o neurológica de acuerdo con la definición para cada caso | Dicotómica, categórica 1. Sí 2. No |
| Estrategia para CMV | Profilaxis: 1. Donador positivo-Receptor negativo 2. Ganciclovir 5mgkgdía IV dividido en 2 dosis por 2 semanas 3. Posteriormente: Valganciclovir 900mg/día (15mgkgdía) en una dosis al día por 3 meses | Dicotómica, categórica 1. Profilaxis 2. Terapia anticipada |

4. Antigenemia pp 65 cada 2 semanas

Terapia anticipada

1. Receptor positivo
2. Antigenemia pp 65 cada 2 semanas

1. Ganciclovir
10mg/kg/día IV
dividida en 2
dosis por 2 a 4
semanas

2. Reducir la
inmunosupresión
, particularmente
dosis de MMF

3. Control de carga
viral
(antigenemia pp
65) a la semana.
Continuar el
tratamiento al
menos una
semana después
de que la
antigenemia es
negativa.

4. Puede continuar
profilaxis
secundaria con
Valganciclovir si
se encuentra en
el periodo de 90
días
postrasplante^{24,25}

Tratamiento
antiviral

Administración de fármacos vía oral o intravenosa con el objetivo de prevenir o tratar el síndrome o enfermedad por CMV

Politómica, categórica

1. Ganciclovir
2. Valganciclovir
3. Ganciclovir + valganciclovir

Tratamiento
inmunosupresor

Administración de fármacos vía oral o intravenosa con el objetivo de disminuir la respuesta inmune y el rechazo del injerto

Politómica, categórica

1. Inhibidor de calcineurina (tacrolimus, ciclosporina)
2. Esteroides (prednisona)

| | | |
|----------------------|--|--|
| | | 3. Inhibidor de la síntesis de purinas (azatioprina, mofetil micofenolato) |
| Terapia de inducción | | Politómica, categórica 1. Basiliximab 2. Daclizumab 3. Ninguna |
| Evolución | Historia natural o cambios esperados o no por una enfermedad con su desenlace | Politómica, categórica 1. Rechazo agudo del injerto 2. Rechazo crónico 3. En vigilancia 4. Pérdida del injerto 5. Defunción 6. Pérdida por mayoría de edad |
| Coinfección | Presencia de infección viral o bacteriana durante el periodo de seguimiento asociada con infección por CMV | Politómica, categórica 1. Herpes virus 2. Poliomavirus 3. Infección bacteriana 4. Ninguna |

Análisis estadístico

Se realizó el vaciado de la información en hoja de recolección específica y finalmente en una base de datos la cual es sometida a un proceso de codificación, tabulación y análisis mediante el paquete informático **IBM SPSS Statistics Versión 19.0.**

Se llevó a cabo un análisis descriptivo de la población con media, desviación estándar para las variables continuas y frecuencias relativas para las variables categóricas con descripción de proporciones. Se calculó el área bajo la curva operador receptor (ROC), sensibilidad, especificidad y razones de verosimilitud.

Se calcularon razón de momios (RM) y sus intervalos de confianza al 95%, para evaluar la asociación entre las variables de interés y la presencia de síndrome/

enfermedad por CMV por medio de la prueba de Chi² o prueba exacta de Fisher como se considerara más apropiado.

Para comparar variables cuantitativas, se dividió a los sujetos en dos grupos, de acuerdo con la presencia de síndrome/enfermedad por CMV y se utilizó la prueba de T de Student. Se consideró significancia estadística con una $p=0.05$.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con la Ley General de Salud de México, se considera un estudio sin riesgo. Dado que se trata de un estudio retrospectivo, la consideración ética en este caso es la confidencialidad de los datos recabados los cuales se usarán sólo con fines de investigación.

RESULTADOS

Características de la muestra

Se realizaron 146 trasplantes renales en 145 pacientes (en un paciente se realizó trasplante en 2 ocasiones) entre 2006 y 2010 de los cuales se incluyeron 131 pacientes. Se excluyeron 7 pacientes por no encontrarse la información completa para la base de datos, 5 expedientes estaban extraviados y 3 expedientes no contaban con medición de antigenemia pp65 documentada. Se llevó a cabo un seguimiento de 18 meses a partir del trasplante renal.

TABLA 1. Demografía de pacientes incluyendo la serología para CMV pretrasplante (n=131)

| | |
|--|----------------|
| Género, n (%) | |
| Femenino | 54 (42) |
| Masculino | 77 (58) |
| Edad, promedio (desviación estándar) | 14.01 (3.3699) |
| Serología para CMV pretrasplante, n (%) | |
| R+/D± (Riesgo intermedio CMV) | 101 (77) |
| R-/D+ (Riesgo alto CMV) | 30 (23) |

D Donador, serología CMV. R Receptor serología CMV al momento del trasplante (positivo [+] o negativo [-] para CMV)

La edad promedio al momento del trasplante renal fue de 14.01 años, 77 (58%) fueron varones.

Se desconocía la serología CMV pre-trasplante de 2 pacientes, sin embargo de acuerdo con los datos contenidos en el expediente y las estrategias llevadas a cabo en cuanto al tratamiento, éstos se consideraron de riesgo elevado para CMV.

TABLA 2. Riesgo de enfermedad por CMV de acuerdo con el año del trasplante renal

| | Año del trasplante | | | | | Total |
|-----------------------|--------------------|------|------|------|------|-------|
| | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | |
| Riesgo intermedio CMV | 17 | 18 | 28 | 20 | 18 | 101 |
| Riesgo alto CMV | 9 | 7 | 5 | 3 | 6 | 30 |
| Total | 26 | 25 | 33 | 23 | 24 | 131 |

Dentro de los pacientes que tuvieron síndrome o enfermedad por CMV se encontraron 33 pacientes (56%) con riesgo intermedio y 26 pacientes (44%) con riesgo elevado para CMV.

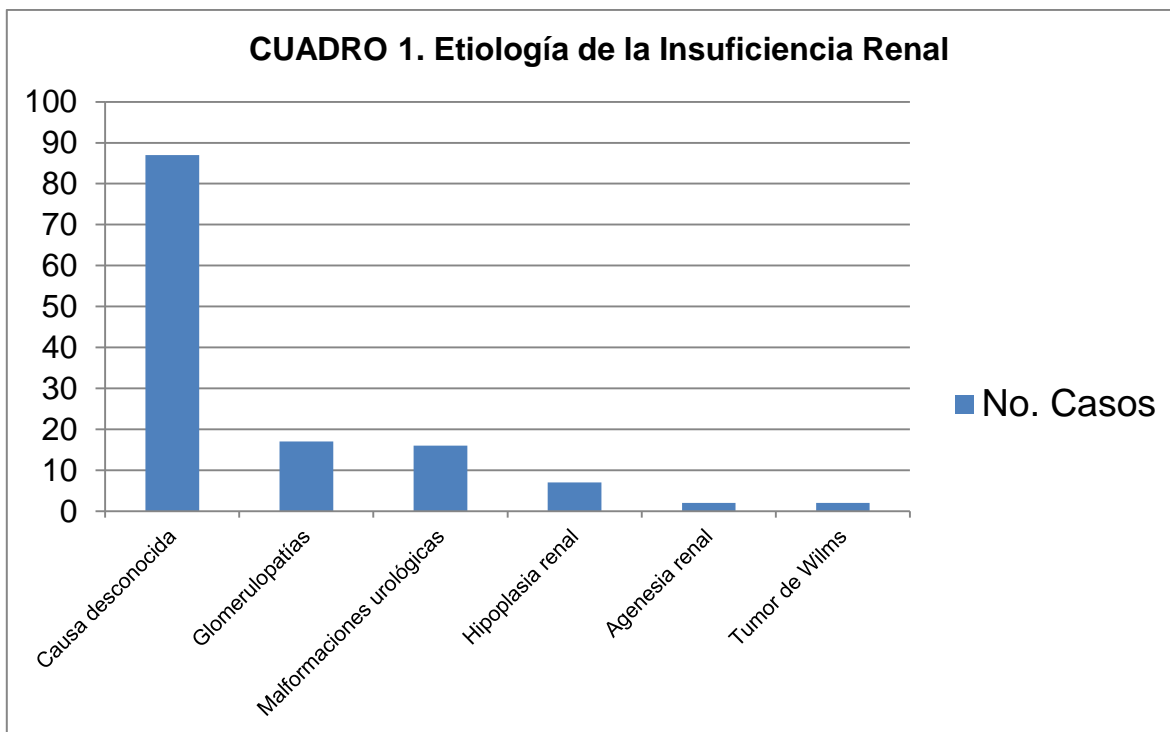
TABLA 3. Frecuencia de Antigenemia positiva (una o más células) y la presencia de Síndrome/Enfermedad por CMV de acuerdo con la serología pretrasplante renal

| Serología CMV, n (%) | Antigenemia positiva, n (%) | Síndrome/Enfermedad CMV, n (%) |
|----------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| R+/D±, 101 (77) | 60 (62) | 33 (56) |
| R-/D+, 30 (23) | 43 (38) | 26 (44) |
| Total, 131 (100) | 113 (100) | 59 (100) |

D Donador, serología CMV. R Receptor serología CMV al momento del trasplante (positivo [+] o negativo [-] para CMV)

Etiología de la Insuficiencia renal

La etiología desconocida fue la más prevalente con el 65.9% de los casos, seguida de las glomerulopatías, tanto primarias como secundarias en 12.9% y en tercer lugar las malformaciones urológicas con 12.1%.



Tipo de donador

En total hubo 84 donadores vivos relacionados (64%) vs 47 donadores fallecidos (36%). No hubo diferencias significativas entre el tipo de donador y la presencia de síndrome o enfermedad por CMV.

Estrategia de prevención para CMV

Con respecto al tipo de estrategia utilizada, 50 pacientes (37.9%) recibieron profilaxis de los cuales 21 (42%) tenían riesgo alto de infección para CMV. La terapia anticipada se llevó a cabo en 81 pacientes (61.4%) dentro de los cuales 9 (11%) tenían riesgo alto de infección para CMV.

Desempeño de la antigenemia pp65 para CMV

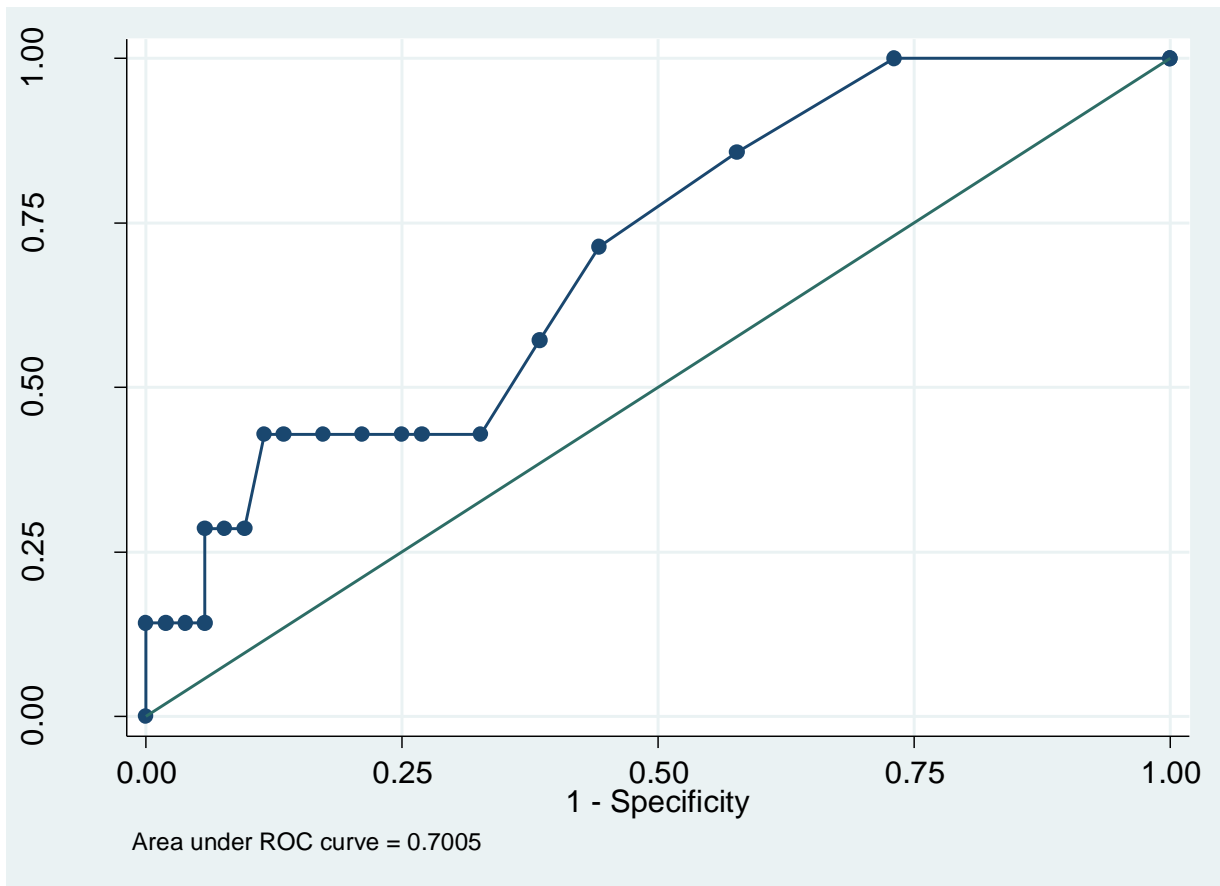
Un valor de antigenemia de al menos 3 células/200,000 PMN otorga sensibilidad de 85.7%, especificidad de 42.3%, razón de verosimilitud (LR) +1.4857 y LR-

0.3377. El valor de corte de al menos 4 células/200,000 PMN otorga sensibilidad 71.4%, especificidad 55.7%, LR + 1.6149, LR- 0.5123.

TABLA 4. Desempeño de la Antigenemia pp65

| Valor de corte Cél/200,000PMN | Sensibilidad | Especificidad | LR + | LR- |
|----------------------------------|--------------|---------------|--------|--------|
| ≥ 1 | 100.00% | 0.00% | 1.0000 | 0.0000 |
| ≥ 2 | 100.00% | 26.92% | 1.3684 | 0.0000 |
| ≥ 3 | 85.71% | 42.31% | 1.4857 | 0.3377 |
| ≥ 4 | 71.43% | 55.77% | 1.6149 | 0.5123 |
| ≥ 5 | 57.14% | 61.54% | 1.4857 | 0.6964 |

**Curva operador receptor (ROC) de Antigenemia pp65 para predecir
Síndrome/enfermedad por CMV**



El desempeño final de la antigenemia pp65 para predecir síndrome/enfermedad por CMV incluida en una curva ROC fue de 0.70. El tiempo promedio entre el trasplante renal y el inicio de los síntomas fue de 15 semanas.

Biopsia asociada a Antigenemia positiva

Se realizó en 21 pacientes, de los cuales 9 (42.8%) tenían riesgo intermedio para CMV y 12 (57.2%) pacientes de riesgo alto para CMV. No se encontró ningún dato histopatológico de enfermedad por CMV a nivel del injerto ni datos de rechazo asociados a CMV.

Se realizó la toma de PCR asociada a antigenemia en sólo 6 pacientes de las cuales 2 fueron negativas y otras 4 se relacionaron con infección y enfermedad por CMV.

Coinfecciones

Dentro de las coinfecciones virales, se presentaron infecciones por poliomavirus o virus BK en 22 pacientes (16.7%), de las cuales se asociaron a rechazo del injerto renal por BK exclusivamente en 10 pacientes. En 3 pacientes se encontró asociación de infección por CMV e infección por BK al mismo tiempo. En 1 paciente se encontró enfermedad gastrointestinal y hematológica por CMV asociada con parvovirus B19 y en 3 pacientes hubo infección por virus del grupo herpes. En total 9 pacientes (6.8%) tuvieron alguna infección bacteriana en conjunto con CMV. Finalmente en 1 paciente con enfermedad por CMV gastrointestinal se encontró resistencia a ganciclovir documentado por la mutación UL97.

Condiciones relacionadas al trasplante renal

Aunque no fue el objetivo del estudio, se evaluó el tiempo de isquemia fría, isquemia caliente e isquemia total al momento del trasplante, ya que a mayor tiempo de isquemia se supone un mayor riesgo de desarrollar síndrome o enfermedad por CMV.

TABLA 5. Tiempo de isquemia durante el trasplante

| Tiempo de isquemia | Síndrome/Enfermedad por CMV, minutos (DE) | p** |
|-----------------------------|--|------------|
| Tiempo de isquemia fría | 371.4 (536.14) | 0.900 |
| Tiempo de isquemia caliente | 56.4567 (15.157) | 0.000 |
| Tiempo total de isquemia | 416.85 (514.05) | 0.224 |

**T-Student

En total 10 pacientes no recibieron ningún tipo de inducción, 84 pacientes recibieron basiliximab y 4 de ellos desarrollaron síndrome/enfermedad por CMV. Asimismo 37 pacientes estuvieron con daclizumab y 2 de ellos tuvieron síndrome/enfermedad por CMV. Al comparar los esquemas de inducción y la posibilidad de tener síndrome/enfermedad por CMV no hubo asociación entre ellas ($p=1.0$).

Se reportó que 14 niños (10.6%) recibieron tratamiento sólo con ganciclovir, 40 niños (30.3%) con valganciclovir y 27 pacientes (20.5%) con ganciclovir + valganciclovir. De 81 pacientes con terapia anticipada, 3 recibieron tratamiento para síndrome o enfermedad por CMV con ganciclovir durante 14 días endovenoso y posteriormente continuaron con valganciclovir.

El tipo de tratamiento inmunosupresor se dividió de la siguiente forma: 107 pacientes (81%) recibieron tacrolimus, prednisona y mofetilmicofenolato, 22 pacientes (16.7%) recibieron tacrolimus y mofetilmicofenolato sin esteroides y 2 pacientes (1.5%) se encontraban inicialmente con tacrolimus, prednisona y mofetilmicofenolato en un protocolo de retiro de esteroides. No se encontró significancia estadística entre los diferentes esquemas de inmunosupresión y la presencia de síndrome/enfermedad por CMV ($p= 0.256$).

Se valoró la creatinina al inicio y al final de la enfermedad, ya que tiene gran asociación la presencia de enfermedad y la pérdida del injerto renal, encontrándose rechazo crónico en 31 pacientes (23.4%), rechazo agudo 14 pacientes (10.6%) y pérdida del injerto en 2 pacientes (1.5%), que podemos inferir que la presencia de enfermedad influyó en este desenlace. Sin embargo esta relación no fue estadísticamente significativa.

TABLA 6. Valores de creatinina

| Característica | Creatinina basal postrasplante | Creatinina al momento de infección por CMV | Creatinina posterior a Infección por CMV |
|-----------------------|---------------------------------------|---|---|
| Media | 1.033 | 1.195 | 1.1128 |
| Desviación estándar | 0.46077 | 0.55188 | 0.46933 |
| Moda | 1.10 | 0.90 | 0.90 |

**p=0.265

La mayoría de los pacientes receptores de trasplante renal se encuentran en vigilancia con un total de 65 pacientes 84.9% y 19 pacientes (49.2%) cumplieron la mayoría de edad por lo cual se continuó su seguimiento en otra institución.

DISCUSIÓN

Las manifestaciones clínicas del síndrome y la enfermedad por CMV pueden ser inespecíficas en pacientes receptores de trasplante renal, lo cual condiciona la necesidad de utilizar técnicas diagnósticas más sensibles y específicas. A pesar de que las técnicas diagnósticas para la detección de CMV han presentado un mejoramiento sustancial en los últimos años, su interpretación puede ser difícil por lo cual debemos analizar en conjunto la situación clínica del paciente y el tipo de muestra analizada, en este caso la antigenemia pp65.

El tiempo de aparición de la infección por CMV se asocia con el grado máximo de inmunosupresión, por lo cual los primeros 3 meses posteriores al trasplante renal son los de mayor riesgo de acuerdo con lo reportado en la literatura¹⁷. Esto concuerda con nuestro estudio, ya que observamos la mayor incidencia de síndrome por CMV a las semanas 5,10 y 12 y en caso de enfermedad por CMV entre la semana 4, 8 y 14 posterior al trasplante renal.

Este estudio sugiere que la presencia de al menos 3 células/200,000 PMN en la antigenemia pp65 es útil en la detección de síndrome o enfermedad por CMV. La probabilidad de que el resultado positivo de la antigenemia pp65 en un paciente con síndrome o enfermedad por CMV sea realmente positivo otorgó una LR (likelihood ratio o razón de verosimilitud) de +1.4857, comparado con la probabilidad de que el mismo resultado sea visto en un paciente asintomático. Asimismo, se obtuvo un LR - 0.3377 el cual refleja la probabilidad de que el resultado negativo de la antigenemia pp65 en un paciente sano sea realmente negativo.

El valor de corte de al menos 4 células/200,000 PMN otorga la predicción más sensible y específica para el desarrollo de síndrome/enfermedad por CMV con sensibilidad 71.4%, especificidad 55.7%, razón de verosimilitud (LR) + 1.6149, LR- 0.5123. La sensibilidad de la prueba no es la más óptima para un estudio de

prueba diagnóstica, aunque tiene utilidad clínica, hecho que también ha sido reportado por otros estudios^{24,25}.

De acuerdo con el consenso canadiense y las guías internacionales^{17,23}, se debe iniciar profilaxis en el periodo post-trasplante inmediato en aquellos pacientes con alto riesgo para CMV. Sin embargo, en nuestro estudio se encontró que se otorgaron 21 profilaxis en pacientes de alto riesgo y en este grupo se reportaron 2 casos (9.5%) con síndrome/enfermedad por CMV lo cual es elevado en comparación con 1-2.5% reportado en otros estudios. Hubo 9 pacientes de alto riesgo que recibieron terapia anticipada en lugar de profilaxis entre los cuales 1 caso (11%) presentó enfermedad por CMV. Se desconoce el motivo por el cual estos pacientes recibieron dicha estrategia en lugar de profilaxis.

Llama la atención que sin importar la serología basal para CMV al momento del trasplante, no hubo diferencia en la frecuencia de síndrome/enfermedad por CMV entre las estrategias para CMV, ya que de los 6 casos de síndrome/enfermedad por CMV la mitad se encontraba con profilaxis y la otra mitad con terapia anticipada. Este resultado concuerda con lo descrito por Dmitrienko en un estudio de 270 pacientes con riesgo elevado para CMV, donde hasta el 9% de los mismos presentaron enfermedad, mientras que en nuestro estudio esta cifra fue de 11% de pacientes²⁶.

Los 2 pacientes que presentaron enfermedad gastrointestinal tuvieron la identificación de cuerpos de inclusión virales en las biopsias de tubo digestivo.

Como parte del protocolo de trasplante existen diversas determinaciones de biopsia del injerto renal. Sabemos que el CMV es un virus con especial tropismo por el órgano injertado y en el caso de nuestros pacientes pueden desarrollar nefritis por CMV. No se encontró ninguna biopsia del injerto con datos histopatológicos de infección por CMV.

Con respecto a la terapia de inducción, sabemos que los inmunosupresores antilinfocitarios como los anticuerpos monoclonales se encargan de la producción y secreción de citocinas, particularmente del factor de necrosis tumoral desencadenando la respuesta inflamatoria y estimulando la replicación del CMV. Esto puede influir en la aparición de síntomas o enfermedad por CMV de forma general. En nuestra serie, a pesar de que el síndrome o enfermedad por CMV se presentó tanto en los pacientes que recibieron basiliximab y daclizumab, esto no es estadísticamente significativo. En el caso de aquellos pacientes con daclizumab donde hubiéramos esperado una mayor inmunosupresión, no se encontró mayor síndrome o enfermedad, lo cual podría explicarse ya que todos los pacientes que recibieron dicho medicamento se encontraban en el grupo de alto riesgo para CMV y recibieron profilaxis para CMV. Por lo tanto no se pudo establecer un mayor riesgo para síndrome/enfermedad por CMV asociado con estos medicamentos quizá explicado por una muestra pequeña de pacientes con síndrome/enfermedad.

Hubo pérdida del injerto en 2 pacientes, uno de ellos se encontraba en tratamiento de inducción con basiliximab y otro con daclizumab. La pérdida se asoció a coinfección por virus BK en un paciente, mientras que en el otro no se encontró la causa.

Se documentaron 6 casos de síndrome/enfermedad por CMV en pacientes que recibieron tacrolimus, mofetilmicofenolato y prednisona como terapia inmunosupresora, sin embargo no se encontró diferencia significativa entre el grupo que recibió esteroides contra el que no los recibió.

Por otro lado, la coinfección principalmente con virus del grupo herpes es un factor de riesgo para mayor replicación del CMV. En nuestro estudio no se encontró dicha asociación.

En la mayor parte de la literatura actual, no hay un estándar de oro como punto de corte de la antigenemia pp65. La mayoría de los estudios apoyan la presencia de síndrome/enfermedad con un valor entre 5-10 células/200, 000 PMN¹¹, sin

embargo este análisis apoya a que el mejor punto de corte es el de 4 células/200,000 PMN.

Un problema para poder generalizar el uso de esta prueba es que es observador dependiente. Para aquellos centros que tienen que enviar la muestra de antigenemia pp65 a otra institución, ésta debe procesarse en menos de 8 horas, lo cual es impráctico en el ámbito clínico.

Probablemente la baja incidencia de síndrome/enfermedad por CMV en nuestro grupo de pacientes en comparación con frecuencias más elevadas reportadas hasta en 40-60%, se pueda explicar gracias a la oportuna detección de células virales mediante la antigenemia pp65 semanal inicial y muy posiblemente debido al uso del valganciclovir en estos pacientes en años recientes, lo cual permite la administración eficaz y segura del antiviral de forma ambulatoria, favoreciendo el apego.

La limitante más importante de nuestro estudio fue la utilización de las definiciones para síndrome/enfermedad por CMV de forma retrospectiva lo cual pudo condicionar que algunos pacientes hayan sido clasificados de forma inapropiada. Este estudio fue limitado ya que no se contaba siempre con toda la información clínica sustentada en el expediente, la exploración física podía variar entre diferentes médicos, por lo cual la definición de síndrome/enfermedad por CMV pudo no estar completamente estandarizada.

Este estudio se realizó en una sola Institución de referencia para el trasplante renal por lo cual sus resultados tienen validez interna pero la validez externa está limitada por ser una prueba diagnóstica operador dependiente. Asimismo, un estudio prospectivo posiblemente hubiera resultado en una menor incidencia de síndrome/enfermedad por CMV.

Actualmente la técnica de elección para el diagnóstico de infección por CMV es la PCR cuantitativa en tiempo real. Desafortunadamente es un estudio caro, difícil

de realizar en la mayoría de las instituciones de nuestro país, por lo cual la antigenemia pp65 continúa siendo la técnica diagnóstica más utilizada para este diagnóstico.

CONCLUSIONES

Nosotros proponemos utilizar el valor de corte de 4 células/200,000 PMN como guía para el tratamiento anticipado para la prevención de síndrome/enfermedad por CMV en receptores de trasplante renal pediátrico, sin olvidar que dicha prueba tiene una sensibilidad y especificidad baja para predecir síndrome y enfermedad por CMV y por lo tanto, se requiere una prueba diagnóstica más sensible que nos permita evitar los falsos negativos y tener un desenlace adverso. Se tendrá que explorar ahora los nuevos métodos diagnósticos de biología molecular como es la PCR cuantitativa.

REFERENCIAS

1. Madi N, Al-Nakib W, Mustafa AS, Saeed T, Pacsa A, Nampoory MR. Detection and monitoring of cytomegalovirus infection in renal transplant patients by quantitative real-time PCR. *Med Princ Pract* 2007; 16: 268-73.
2. Salazar E M, Alba G A, Delucchi B A, Hunter M B, Godoy L J, Ferrario B M, et al. Cytomegalovirus infection and disease in pediatric solid organ transplantation. Experience in a Chilean multiorganic transplantation center. *Rev Chil Infectol* 2009; 26: 311-7.
3. Madhavan et al.: "pp65 antigenemia and real time polymerase chain reaction (PCR) based-study to determine the prevalence of human cytomegalovirus (HCMV) in kidney donors and recipients with follow-up studies.". *Virology Journal* 2010 7:322.
4. Hughes D, Hafferty J, Fulton L, Friend P, Devaney A, Loke J, Welsh KI, Handa A, Klenerman P: Donor and recipient CMV serostatus and antigenemia after renal transplantation: An analysis of 486 patients. *J Clin Virol* 2008, 41:92-95.
5. Casanova D, Zurita R, Sandoval J. Colitis por Citomegalovirus en Trasplante Renal. Resúmenes del XXIV Congreso Nacional de Nefrología y XL Reunión Anual de la Sociedad Mexicana de Nefrología del 11 al 14 de octubre de 2006. Cancún, Quintana Roo. México. *Nefrol Mex* 2006; 27(3) : 83-115.
6. Rojas Saavedra MK. Asociación entre la infección por Citomegalovirus y la pérdida del injerto en pacientes post-transplantados de riñón de 1991 a 2007 en el Hospital Infantil de México. Tesis para obtener el título de Pediatría Médica. Marzo 2010.
7. Gerstenkorn C, Balupuri S, Mohamed MA, Manas DM, Ali S, et al. The impact of cytomegalovirus serology for 7-year graft survival in cadaveric kidney transplantation- the Newcastle experience. *Transplant International* 2000; 13(1):S372-S374.

8. Barba EJR. Citomegalovirus y trasplante renal: Una combinación peligrosa. *Rev Mex Patol Clin* 2006; 53:52-61.
9. Fishman Jay A. Infection in Solid-Organ Trasplant Recipients. *N Engl J Med* 2007; 357:2601-2614.
10. Gandhi M, Khanna R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, emerging treatments. *Lancet Infect Dis* 2004;4:725-738.
11. Arias M, Campistol JM, et al. Citomegalovirus y trasplante renal: análisis de la evidencia y consenso de un grupo de trabajo. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. *Nefrología Sup Ext* 2012;3(1):1-27.
12. Gerard L, Leport C, Flandre P, Houhou N, Salmon-Cerón D, et al. Cytomegalovirus (CMV) Viremia and the CD4+ Lymphocyte Count as Predictors of CMV Disease in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 836-40.
13. Hodinka R. Human cytomegalovirus. In: Murray P et al. (eds.). Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2003; (2): 1304-1313.
14. Lawrence W. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infection and disease in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis* 2007;20:408-411.
15. Mazzulli T, Rubin RH, Ferraro MJ, Aquila RT, Doveikis SA, Smith BR, et al. Cytomegalovirus Antigenemia: Clinical Correlation in Transplant Recipients and in Persons with AIDS. *J Clin Microbiol* 1993; 31:2824-2827.
16. Lischka P, Zimmermann H. Antiviral strategies to combat cytomegalovirus infections in transplant recipients. *Current OP Pharmacology* 2008; 8:541-548.
17. Hodson EM, Craig JC, Strippoli GF, et al. Antiviral medications for preventing cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;16:CD003774.
18. Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, Blumberg EA, Punch JD, Limaye AP, et al. The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2010, 10:1228-37.

19. Olaya VA. Profilaxis y tratamiento de las infecciones virales. Capítulo 37. En: Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas en Pediatría. Principios Básicos. Editores de Textos Mexicanos. México, D.F. 2012. pp.431-439.
20. Alberú GJ, Soto RL, Díliz PH, Sierra MJG. Enfermedades infecciosas en receptores de trasplantes. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. 1998. pp 41-52.
21. Bernstein DI. Vaccines for cytomegalovirus. *Infect Disord Drug Targets*. 2011;11(5):514-25.
22. Sung H, Schleiss MR. Update on the current status of cytomegalovirus vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2010;9(11):1303-14.
23. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. Transplantation Society International CMV Consensus Group. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89:779-95.
24. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian Society of Transplantation Consensus Workshop on Cytomegalovirus Management in Solid Organ Transplantation Final Report. *Am J Transplant* 2005;5:218-27.
25. Green M, Avery RK, Preiksaitis J. Guidelines for the prevention and management of infectious complications of solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2004;4(Suppl 10):1-166.
26. Dmitrienko S, Yu A, Balshaw R, Shapiro RJ, Keown PA; Genome Canada Biomarkers in Transplantation Group. The use of consensus guidelines for management of cytomegalovirus infection in renal transplantation. *Kidney Int*. 2007;72(8):1014-22.

ANEXO
ABREVIATURAS

| | |
|--------|--|
| CMV | Citomegalovirus |
| D+ | Donador con serología positiva para CMV |
| D- | Donador con serología negativa para CMV |
| HIM FG | Hospital Infantil de México Federico Gómez |
| LR+/- | Razón de verosimilitud (Likelihood ratio) |
| PCR | Reacción en cadena de polimerasa |
| PMN | Polimorfonucleares |
| RM | Razón de momios |
| ROC | Curva Operador Receptor |