

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Evaluación de la Inmunodeficiencia Secundaria en Trasplante
de Órgano Sólido: Detección y Reconstitución**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Maricela Jiménez López

Director

Javier Alberto Carbone Campoverde

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

*“Evaluación de la Inmunodeficiencia Secundaria en Trasplante de Órgano Sólido.
Detección y Reconstitución”.*

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Maricela Jiménez López

DIRECTOR

Prof. Dr. Javier Alberto Carbone Campoverde



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Medicina

Título de la tesis: *“Evaluación de la Inmunodeficiencia Secundaria en Trasplante de Órgano Sólido. Detección y Reconstitución”.*

Doctorando: Maricela Jiménez López

Director: Prof. Dr. Javier Alberto Carbone Campoverde

*Este trabajo se ha realizado con la financiación de los proyectos del Instituto de Salud
Carlos III, Fondo de Investigación Sanitaria (FIS),
FIS 050839, FIS 081430, FIS 1101323, FIS 1501472
otorgados a Javier Carbone
Cofinanciados por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)
“una manera de hacer Europa”*

*Trabajo realizado en el Servicio de Inmunología
Hospital General Universitario Gregorio Marañón
Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón
Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL de la Facultad de Medicina de la
Universidad Complutense de Madrid*

Agradecimientos y dedicatorias

*A mis padres,
Gracias por enseñarme a buscar el silbido apacible después de la tormenta.
Por creer en mí siempre, aún cuando yo no lo hacía.*

*A Ricardo,
Gracias por enseñarme que tengo alas para volar más lejos de lo que pensaba.*

*A mi Director y Tutor en esta tesis,
Gracias por apoyarme siempre, y hacer tiempo para este trabajo, aún en los tiempos
de crisis.*

Índice

Resumen	- 8 -
Abstract.....	- 11 -
Introducción	- 14 -
<i>Sistema inmunitario e inmunodeficiencia.</i>	<i>- 14 -</i>
<i>Inmunodeficiencia secundaria o adquirida.</i>	<i>- 15 -</i>
<i>Inmunosupresión en el trasplante de órgano sólido.....</i>	<i>- 16 -</i>
<i>Infecciones en el trasplante de órgano sólido</i>	<i>- 17 -</i>
<i>Infecciones en el trasplante renal.....</i>	<i>- 21 -</i>
<i>Infecciones en el trasplante cardíaco.....</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Infecciones en el trasplante hepático.</i>	<i>- 24 -</i>
Hipótesis de trabajo y Objetivos.	- 26 -
<i>Hipótesis de trabajo.....</i>	<i>- 26 -</i>
<i>Objetivos generales.....</i>	<i>- 26 -</i>
Material y Métodos:.....	- 27 -
<i>Metodología de laboratorio.....</i>	<i>- 28 -</i>
Análisis estadístico:	- 33 -
Resultados.....	- 34 -
Tabla 1. Características de la población estudiada	- 34 -
Tabla 2. Media de tiempo de espera y hospitalización (Media, +/- DE).....	- 35 -
<i>Identificación de valores de corte para biomarcadores inmunológicos.....</i>	<i>- 35 -</i>
Tabla 3. Perfil Inmunológico pretrasplante por tipo de trasplante	- 36 -
(Media, +/- DE).....	- 36 -
Tabla 4. Perfil Inmunológico en el seguimiento post-trasplante a 7 y 30 días por tipo de trasplante. (Media, +/- DE)	- 37 -
Tabla 5. Hemograma y Bioquímica pretrasplante por tipo de trasplante	- 38 -
(Media +/- DE).....	- 38 -
Tabla 6. Hemograma y Bioquímica en el seguimiento a 7 y 30 días por tipo de trasplante. (Media, +/- DE).....	- 39 -
<i>Resultados Globales del Estudio 1.</i>	<i>- 40 -</i>
Tabla 7a. Resultados globales. Hemograma y bioquímica en el seguimiento a 7 y 30 días post-trasplante. (Media, +/- DE)	- 41 -
Tabla 7b. Resultados globales. Perfil inmunológico en el seguimiento en el seguimiento a 7 y 30 días post-trasplante. (Media, +/- DE)	- 42 -
<i>Infecciones en el post trasplante.....</i>	<i>- 43 -</i>
Tabla 8a. Resultados globales para variables descriptivas, infectados vs no infectados.....	- 43 -
Tabla 8b. Resultados globales para variables descriptivas, infección o reactivación de CMV.	- 44 -
Figura 1a. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de infección.....	- 45 -
Figura 1b. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación de CMV.	- 46 -
Figura 1c. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección.....	- 47 -
Figura 1d. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación de CMV.	- 47 -
Figura 1e. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección.....	- 48 -
Figura 1f. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación del CMV.	- 48 -
Eventos de infección post trasplante en análisis de Kaplan Meyer	- 49 -
Figura 2a. Curvas Kaplan-Meyer: Factores inmunológicos asociados a Infección.....	- 49 -

Figura 2b. Curvas Kaplan-Meyer: Factores bioquímicos asociados a Infección	- 50 -
Figura 2c. Curvas Kaplan-Meyer: Hipogammaglobulinemia asociada a Infección	- 50 -
Mortalidad en el post trasplante	- 51 -
Tabla 8c. Resultados globales, variables descriptivas para mortalidad post trasplante.	- 51 -
Figura 3a. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de exitus.....	- 52 -
Figura 3b. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de exitus.	- 53 -
Figura 3c. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de exitus.....	- 54 -
Supervivencia en el post trasplante.	- 55 -
Figura 4a. Curvas Kaplan-Meyer: Factores clínicos asociados a exitus.....	- 55 -
Figura 4b. Curvas Kaplan-Meyer: Factores inmunológicos asociados a exitus.....	- 56 -
Figura 4c. Curvas Kaplan-Meyer: Factores bioquímicos asociados a exitus.....	- 57 -
Resultados por tipo de trasplante.....	- 58 -
Estudio 1. Multicéntrico de trasplante de órgano sólido.....	- 58 -
Trasplante renal.	- 58 -
Tabla 9. Indicación del trasplante renal	- 58 -
Trasplante hepático.....	- 59 -
Tabla 10. Indicación del trasplante hepático por centro hospitalario.	- 59 -
Análisis de supervivencia, Kaplan Meyer.....	- 61 -
Figura 5. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante hepático. Factores asociados a infección.	- 62 -
.....	- 63 -
Figura 6. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante hepático. Factores asociados a Exitus.....	- 63 -
Trasplante cardíaco	- 64 -
Tabla 11. Indicación del trasplante cardíaco.....	- 64 -
Análisis de supervivencia, Kaplan Meyer.....	- 66 -
Figura 7. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante cardíaco. Factores asociados a Infección.	- 67 -
Figura 8. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante cardíaco. Factores inmunológicos asociados a exitus.	- 68 -
Regresión logística en estudio de trasplante de órgano sólido.....	- 69 -
Tabla 12a. Regresión logística para factores de riesgo para infección post trasplante.	- 69 -
Tabla 12b. Regresión logística para factores de riesgo para infección por CMV en el post trasplante	- 70 -
Tabla 12c. Regresión logística para factores de riesgo para exitus en el post trasplante	- 71 -
Escalas Inmunológicas (Immunoscores).....	- 72 -
Tabla 13a. Escala de riesgo para infección global post trasplante de órgano sólido.	- 72 -
Figura 9. Curva COR score para seleccionar un punto de corte de score de riesgo de infección: .-	- 73 -
Tabla 13b. Escala de riesgo para infección por CMV post trasplante	- 73 -
Tabla 13c. Escala de riesgo para exitus post trasplante de órgano sólido	- 74 -
Estudio 2. Estudio multicéntrico de trasplante renal.	- 75 -
Tabla 14. Indicación del trasplante renal	- 75 -
Tabla 15. Microorganismos en las infecciones post trasplante.....	- 76 -
Discusión:.....	- 78 -
Conclusiones.	- 89 -
Referencias bibliográficas:.....	- 90 -
Anexo 1. Secondary antibody deficiency is associated with development of infection in kidney transplantation: Results of a multicenter study.	- 97 -
Anexo 2. Relación de centros trasplantadores contactados para participar en el estudio prospectivo multicéntrico.....	- 110 -

Resumen:

Introducción:

El trasplante de órgano sólido (TOS) es una terapia actualmente bien establecida para los pacientes con enfermedades graves y terminales. La combinación del estado de inmunosupresión basal, riesgos quirúrgicos, uso de asistencias circulatorias y complicaciones del trasplante, predisponen a esta población a complicaciones y secuelas infecciosas de importancia clínica, por lo que el diagnóstico temprano y específico es esencial para resultados clínicos adecuados. Tal diagnóstico podría beneficiarse de la medicina personalizada con monitorización inmunológica como herramienta complementaria.

Hipótesis y objetivos:

La medición de los biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos es útil para identificar pacientes que se encuentran en riesgo de infecciones en el periodo post TOS. Los objetivos de este trabajo son evaluar el uso de biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos de inmunodeficiencia secundaria que influyen en la predicción de infecciones en pacientes con TOS en distintos centros hospitalarios.

Material y Métodos:

Se trata de dos estudios prospectivos, observacionales, multicéntricos internacionales. Se realizó un seguimiento clínico de 6 meses para la identificación de eventos infecciosos, con puntos de medición pretrasplante, día 7 y 30, incluyendo la identificación de características clínicas, biomarcadores de inmunidad humoral (IgG, IgA, IgM, subclases de IgG, anticuerpos específicos anti-polisacárido de neumococo [anti-PPS] y anti-CMV, complemento C3 y C4) y celular (Linfocitos T CD3+, subpoblaciones de linfocitos T CD4+, T CD8+, B CD19+ y CD3-CD16/56+NK), hematológicos y bioquímicos (perfil renal, hepático y nutricional). Con la información obtenida se calcularon escalas ("inmuno scores") para el riesgo de infección y muerte en estos pacientes.

Resultados:

Estudio 1. Se realizó el seguimiento a 538 pacientes, de 3 grupos de trasplante (8 renales, 222 hepáticos y 308 cardíacos). Durante el seguimiento a 6 meses se encontraron 298 casos de pacientes con infección post trasplante y 144 eventos de exitus. Se realizó la comparación entre pacientes que desarrollaron eventos de infección

con aquellos que no los presentaron. Entre las variables que aumentan significativamente el riesgo de infección, se encontró disminución del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25% (p 0.005) a los 7 días post trasplante; disminución de C3 < 60 mg/dl (p 0.017), de linfocitos T CD4+ (#) < 400 células/μl (p 0.041) y del nivel de células NK < 50 células/uL (p 0.043) a los 30 días post trasplante. Entre las variables que aumentan significativamente el riesgo de exitus se encontró, la disminución de valores pretrasplante de C4 < 20 mg/dl (p 0.006), de IgG3 < 0.20 g/L (p 0.041); del porcentaje de linfocitos T CD3+ (%) < 70 % (p 0.036) a los 7 días post trasplante; y de C3 < 80 mg/dl (p 0.007), de C4 < 20 mg/dl (p 0.009), y de linfocitos NK (%) < 10 % (p 0.017) a los 30 días post trasplante. En este estudio multicéntrico se ha confirmado que la hipogammaglobulinemia IgG < 600 mg/dl durante el primer mes es un factor de riesgo de infección.

Estudio 2. Multicéntrico internacional de trasplante renal de 250 pacientes en 3 centros en España y 1 de Chile. Se encontraron 76 eventos de infección post trasplante. En las variables inmunológicas, destacamos que la combinación de hipogammaglobulinemia IgG < 700 mg/dl y niveles bajos de IgG anti-polisacárido de neumococo (anti-PPS) < 10 mg/dl se asoció con riesgo de infección bacteriana recurrente en modelo multivariable de regresión. Durante el seguimiento, 23 (9.2%) pacientes desarrollaron enfermedad por CMV. En el modelo de regresión logística multivariable tras ajuste por variables clínicas la combinación de hipogammaglobulinemia IgG a los 30 días post trasplante con niveles bajos de anticuerpos específicos anti-CMV al día 7 post trasplante fue un marcador independiente de desarrollo de enfermedad por CMV.

Discusión y Conclusiones:

En el estudio multicéntrico de trasplante de órgano sólido, la disminución de niveles de subpoblaciones linfocitarias de células T CD3+, T CD4+ y T CD8+ durante los primeros 30 días post trasplante se asociaron a un mayor riesgo de infecciones. En estos pacientes también se encontró relación con la disminución pretrasplante de monocitos como factor de riesgo para el desarrollo de infecciones, lo cual podría ser un biomarcador más accesible para validar en todos los centros.

En el estudio multicéntrico de trasplante renal, la deficiencia secundaria de anticuerpos fue un factor de riesgo para infecciones bacterianas recurrentes y de enfermedad por CMV. La combinación de hipogammaglobulinemia IgG con un nivel bajo de anticuerpos específicos (anti-PPS y anti-CMV) fue un biomarcador relacionado a la

infección por bacterias recurrentes y CMV, respectivamente. Además, la hipogammaglobulinemia IgG resultó un factor independiente como biomarcador de riesgo para las infecciones bacterianas recurrentes. Futuros estudios deberán plantearse para confirmar el papel de estos biomarcadores de forma aislada y combinada.

Se han identificado varias escalas inmunológicas (“immunoscores”) que se asocian con el riesgo de desarrollo de infecciones globales y específicamente por CMV. En el caso de la escala construida y propuesta para riesgo de infecciones globales, se identificó un puntaje relacionado a mayor riesgo, siendo las variables incluidas parámetros de la inmunidad humoral y celular en los primeros 30 días y parámetros de rutina de bioquímica (PCR) que pueden valorarse en una analítica sanguínea convencional. En cuanto a la infección por CMV del post trasplante, se encontró también mayor riesgo a más puntos en la escala construida, y las variables incluyeron parámetros correspondientes a alteraciones de la inmunidad humoral como hipocomplementemia C3 e hipogammaglobulinemia IgG grave en los primeros 30 días del post trasplante junto a niveles altos de PCR. Los resultados de este trabajo dan una pauta para continuar la validación de biomarcadores de riesgo de infección general y en específico por CMV en otras poblaciones a nivel nacional e internacional de forma que puedan validarse “immunoscores” para esta población de pacientes que se puedan usar en la rutina.

La evaluación cautelosa en estudios posteriores de la eficacia y seguridad de intervenciones clínicas o terapéuticas, como la terapia intravenosa con inmunoglobulinas o la terapia prolongada con antimicrobianos, guiadas en parte por esta información, es necesaria para considerar su uso en la práctica clínica diaria para el mejor manejo individualizado de los pacientes.

Abstract:

Background:

Solid organ transplantation is currently a well-established therapy for patients with terminal diseases. The combination of immunosuppression, surgical risks, circulatory assistances, and transplant complications predispose this population to infectious complications and sequelae of clinical importance, because of this, early and specific diagnosis is essential for adequate clinical results and could benefit from personalized medicine with immunologic monitoring.

Hypothesis and objectives:

Measurement of immunological, hematological, and biochemical biomarkers are useful to identify patients who are at risk of infections in the post-transplant period. The main objective of this study is to evaluate the use of immunological and biochemical biomarkers of secondary immunodeficiency that influence the prediction of infections in patients with solid organ transplants in different hospital centers.

Materials and Methods:

This thesis includes two prospective, observational, international multicenter studies. A 6-month clinical follow-up was carried out to identify infectious events, with measurement points at pre-transplant, days 7 and day 30, including the identification of clinical characteristics, biomarkers of humoral immunity (IgG, IgA, IgM, IgG subclasses, specific antibodies anti pneumococcal polysaccharides and complement C3, C4) and cellular (T CD3+, T CD4+, T CD8+, B CD19+ and NK CD3-CD16/56+ lymphocyte subpopulations, hematological (complete blood count) and biochemical (renal, hepatic, and nutritional profiles). With the information obtained, scales ("immune scores") were calculated for the risk of infection and death in these patients.

Results:

Study 1. 538 patients from 3 transplant groups (8 kidney recipients, 222 liver recipients and 308 heart recipients) were included. 298 cases of post-transplant infection events and 144 death events were found. Among the significant risk factors for post-transplant infection, we found decreased values of CD8+ lymphocytes (%) <25% (p 0.005) at 7 days post-transplant; decreased C3 < 60 mg / dl (p 0.017), T CD4+ lymphocytes (#) < 400 cells / μ l (p 0.041) and of NK cell counts < 50 cells/uL (p 0.043) at 30 days post-transplant. Significant risk factors for death were decreased values of

C4 < 20 mg / dl (p 0.006), IgG3 < 0.20 g / L (p 0.041) pretransplant; T CD3+ lymphocytes (%) < 70% (p 0.036) at 7 days post-transplant; decreased C3 < 80 mg / dl (p 0.007), C4 < 20 mg / dl (p 0.009), and NK lymphocytes (%) < 10% (p 0.017) at 30 days post-transplant. In this multicenter study we have confirmed that IgG hypogammaglobulinemia < 600 mg/dL during the first month after transplantation is a risk factor of infection.

Study 2. In the multicenter kidney transplant study, 250 patients were evaluated in 3 centers in Spain and one in Chile. 76 cases (30.4%) of post-transplant recurrent bacterial infection were found. Among the immunological variables, the combination of IgG hypogammaglobulinemia (IgG <700 mg / dl) and low specific anti-pneumococcal polysaccharide antibodies (anti-PPS <10 mg) was independently associated with development of recurrent bacterial infections. During the follow-up, 23 (9.2%) patients developed CMV disease. In the multivariate logistic regression, the combination of IgG hypogammaglobulinemia and lower anti-CMV IgG titers (<10,000 units) was independently associated with risk of CMV disease.

Discussion and conclusions:

In this thesis, the analysis carried out with the post-transplant variables suggests a series of immunological, hematological, and biochemical biomarkers, which, in combination with the clinical context of the patient, can effectively predict the risk of post-transplant infectious complications and mortality in the patient.

In the multicenter solid organ transplant study, decreased levels of T CD4+, and T CD8+ lymphocyte subpopulations during the first 30 days post-transplantation were associated with an increased risk of infections. In these patients, a relationship was also found with the decrease in pre transplant monocytes as a risk factor for the development of infections, which could be a biomarker accessible to all centers.

In the international multicenter kidney transplant study, secondary antibody deficiency was a risk factor for recurrent bacterial infections and CMV disease. In this work, the combination of hypogammaglobulinemia with a low level of specific antibodies (anti-PPS and anti-CMV) was observed as biomarker of immunity related to infection by recurrent bacteria and CMV, respectively. Furthermore, IgG hypogammaglobulinemia was an independent factor as a risk biomarker for recurrent bacterial infections. Future studies should consider confirming the role of these biomarkers in isolation and in combination.

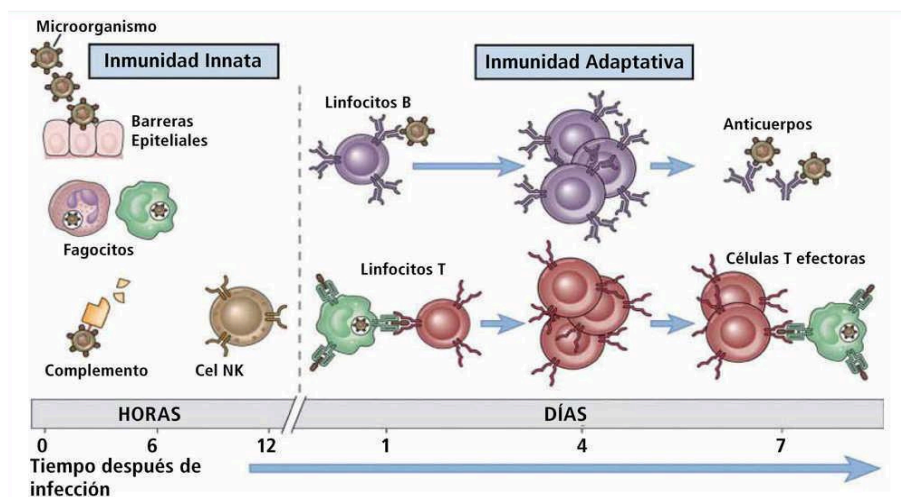
Several immunological scales (“*immunoscores*”) have been identified that are associated with the risk of developing global infections and specifically CMV. In the case of the scale constructed in this thesis for global infections, a higher score was related to higher risk of infections. The variables included parameters of cellular and humoral immunity in the first 30 days such as IgG, C3, T CD4+ lymphocytes and markers such as C reactive protein which can be evaluated in a regular analysis. Regarding post-transplant CMV infection, a higher risk was also found with a higher score on the constructed *immune score*. In this case the variables studied also included parameters corresponding to cellular immunity such as NK cells. Although in this case, the presence of humoral immunity variables such as C3 hypocomplementemia and IgG hypogammaglobulinemia in the first 30 days after transplantation were found to be significant. The results of this work provide a guideline to continue the validation of risk biomarkers of general and specific CMV infection in other populations at a national and international level so that an “*immune score*” can be validated for this population of patients.

Careful evaluation in subsequent studies of the efficacy and safety of the use of this information for clinical or therapeutic interventions, such as intravenous immunoglobulin therapy or prolonged antimicrobial therapy, for the management of these secondary immunodeficiency status is necessary to consider its incorporation into daily clinical practice in transplant centers.

Introducción

Sistema inmunitario e inmunodeficiencia.

El sistema inmunitario es el resultado de millones de años de evolución y de adaptación de la respuesta biológica a patógenos que amenazaban la supervivencia de los primeros seres vivos y que se ha vuelto más compleja con las diferentes necesidades de defensa inmunológica que se ha requerido a través de los años. El sistema inmunitario tiene una gran capacidad de reconocimiento y respuesta debido a la gran variabilidad de células que lo conforman, puede actuar por neutralización, opsonización, fagocitosis y lisis humoral y celular. La respuesta inmunitaria a las infecciones es la función más característica del sistema inmunitario, la infección por microorganismos y parásitos genera reacciones en el paciente que son resultado de la virulencia del patógeno y la respuesta inmunitaria, aunque es posible que una deficiencia en el sistema inmunológico sea la causa de complicaciones graves en algunos pacientes (1, 2, 9). El establecimiento de los procesos infecciosos depende de propiedades del patógeno y del huésped, la patogenicidad es relativa y resulta del balance entre la virulencia y los recursos inmunitarios del hospedador, cuando ésta última resulta inapropiada o deficiente pueden producirse infecciones oportunistas, crónicas o reactivación de infecciones latentes. La inmunidad innata incluye células asociadas a respuestas Th1 y Th2 como los linfocitos NK y los mecanismos de la inmunidad adquirida incluyen las respuestas de anticuerpos por linfocitos B y T CD4+ y CD8+ principalmente (1), los cuales se han considerado como potenciales biomarcadores para su uso en la práctica clínica en el periodo post quirúrgico temprano y tardío.



Células en la respuesta inmunitaria. (Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology. Elsevier 6a edición. Disponible en línea en www.studentconsult.com)

Clásicamente, la falta o defecto en la función inmunitaria, es decir, las inmunodeficiencias, se ha caracterizado por pacientes que presentan un número excesivo de infecciones. Las inmunodeficiencias pueden ser el resultado de un defecto congénito de la inmunidad o secundarias a otros procesos, como es el caso de lo que observamos en los pacientes trasplantados con fármacos inmunosupresores (1). La mayoría de las inmunodeficiencias congénitas son el resultado de defectos que alteran los niveles o la función de los agentes que forman parte de la respuesta inmunitaria como la producción de inmunoglobulinas o complemento, las vías de señalización de leucocitos o la regulación de la respuesta inmunitaria.

Por otro lado, las inmunodeficiencias adquiridas, que implican la mayoría de los pacientes en nuestra población de estudio, son adquiridas y pueden ser causadas por infecciones, enfermedades crónicas como la insuficiencia renal o la diabetes mellitus, alteraciones en la nutrición que causen hipoproteinemia o tratamientos con fármacos inmunosupresores como hemos mencionado previamente (1). Las herramientas diagnósticas que se utilizan actualmente para la detección de las inmunodeficiencias incluyen la evaluación con métodos cuantitativos y cualitativos de las células del sistema inmunitario y las moléculas solubles de la inmunidad, el hemograma, el análisis de subpoblaciones, de expresión de receptores o citocinas y la capacidad de activación celular. Además, también se utiliza la medición de títulos de anticuerpos específicos ante antígenos vacunales como parte de la evaluación de la función del sistema inmunitario (1, 3).

Inmunodeficiencia secundaria o adquirida.

Este tipo de inmunodeficiencia es más común que la congénita por que puede ser causada por una gran variedad de mecanismos patogénicos. La inmunodeficiencia secundaria puede ocurrir por una complicación biológica de otra enfermedad, de forma iatrogénica por terapias farmacológicas o resultar de infecciones que afectan al sistema inmunológico. Las enfermedades que pueden complicarse con inmunodeficiencia secundaria incluyen la malnutrición, las neoplasias y las infecciones. La malnutrición proteico-calórica resulta en alteraciones en la respuesta inmunológica celular y humoral, los fundamentos de este tipo de inmunodeficiencia no están bien definidos, sin embargo, es razonable concluir que el aporte deficiente de nutrientes afecta la maduración y función de las células del sistema inmunológico. Los pacientes oncológicos son susceptibles de infección por las alteraciones de la respuesta celular y humoral que se produce con la alteración del desarrollo celular en la médula ósea o por la producción

tumoral de sustancias que interfieren con el desarrollo y función de los linfocitos. Por otra parte, existen varios tipos de infecciones que pueden resultar en inmunodeficiencia, como la infección por VIH y el HTLV-1. (4)

La inmunodeficiencia iatrogénica se debe usualmente a terapias con fármacos que inactivan funcionalmente o causan la muerte de las células de la inmunidad innata y los linfocitos. Este tipo de tratamientos se usan usualmente para prevenir el rechazo en pacientes trasplantados. (4)

Inmunosupresión en el trasplante de órgano sólido.

Los receptores de trasplante requieren tratamiento de forma indefinida con inmunosupresores, la mayoría con esquemas de fármacos en combinación para permitir la sinergia o para minimizar los efectos adversos. La complicación más importante de esta terapia son las infecciones y el desarrollo de neoplasias. En la siguiente tabla se describen algunos fármacos utilizados en la terapia post trasplante (5).

FÁRMACO	MECANISMO DE ACCIÓN	EFECTOS ADVERSOS MAYORES
Agentes anti-proliferativos. (Azatioprina, Micotenolato mofetilo)	Inhibición de la proliferación de linfocitos mediante el bloqueo de la síntesis de ADN. Puede ser directamente citotóxico a dosis altas.	- Aumento de la susceptibilidad a infecciones. - Leucopenia. - Hepatotoxicidad.
Inhibidores de la calcineurina. (Ciclosporina, Tacrolimus)	Inhibición de la señalización de células T y previene la activación de linfocitos. Bloquea la transcripción de citocinas.	- Aumento de la susceptibilidad a infecciones. - Hipertensión. - Nefrotoxicidad. - Diabetogénico (Tacrolimus) - Hipertrofia gingival, hirsutismo (Ciclosporina).
Glucocorticoides.	Disminución de la fagocitosis y liberación de enzimas proteolíticas. Disminución de la activación y proliferación de linfocitos. Disminución de la producción de citocinas y anticuerpos.	- Aumento de la susceptibilidad a infecciones. - Síndrome de Cushing. - Osteoporosis. - Hiperglucemia - Hipertensión. - Obesidad centrípeta.
Globulina anti-timocito (ATG).	Anticuerpos contra proteínas en la superficie celular que disminuye o bloquea las células T.	- Aumento de la susceptibilidad a infecciones.

Basiliximab.	Anticuerpo monoclonal dirigido contra CD25 (cadena IL-2Ra) que se expresa en células T activadas	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de la susceptibilidad a infecciones. - Efectos gastrointestinales.
Belatacept.	Inhibe selectivamente la activación de células T bloqueando CTLA4.	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de la susceptibilidad a infecciones. - Efectos gastrointestinales. - Hipertensión. - Anemia, leucopenia.

Fármacos inmunosupresores usados comúnmente en la terapia post-trasplante de órgano sólido. Marshall SE, Johnston SL (2018). Chapter 4: Clinical immunology on Davidson's Principles and Practice in Medicine. 23a ed, Elsevier. pp 61-90.

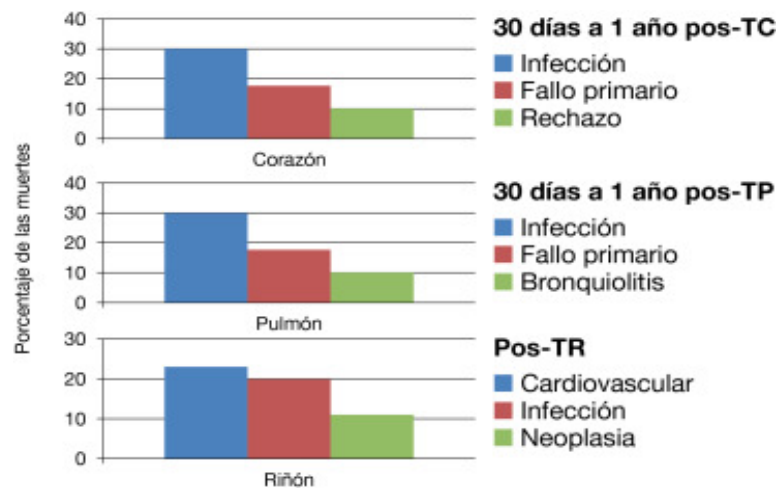
El objetivo principal de la terapia inmunosupresora en los receptores de trasplante es evitar el rechazo del aloinjerto. Actualmente existen diferentes protocolos para el manejo de la inmunosupresión, sin embargo, la terapia con inhibidores de la calcineurina es el eje del tratamiento en la mayoría de los protocolos y la tasa de rechazo agudo ha disminuido considerablemente en los últimos años con esta terapia. (5, 6) El rechazo en el trasplante ocurre por que el injerto aumenta la expresión de antígenos HLA y de mediadores inflamatorios que aumenta la respuesta inmunológica del receptor. El sistema inmunológico responde a la discordancia de HLA entre el donante y el receptor con un complejo procesos que incluye a células presentadoras de antígeno y linfocitos T. La terapia de inducción es la inmunosupresión inicial y comienza durante el trasplante en el quirófano, convencionalmente con anticuerpos anti-CD25 o globulinas anti-timocito. Posteriormente, en el periodo perioperatorio, se iniciará la terapia de mantenimiento que comúnmente contiene inhibidores de la calcineurina, micofenolato y corticoides y que deberá alargarse para mantener al paciente en un estado de inmunosupresión. (6)

Infecciones en el trasplante de órgano sólido

Desde el primer trasplante renal en humanos realizado con éxito en 1954, el campo del trasplante de órganos sólidos ha pasado por avances relevantes que nos han llevado a una mejor comprensión de los mecanismos del sistema inmunitario subyacentes que permiten resultados que permiten al paciente una mejor calidad de vida. En los últimos años se ha avanzado de forma importante en el campo de la inmunosupresión en el post trasplante, y esto nos ha llevado a prestar atención en el desarrollo de infecciones en este periodo que siguen siendo una de las primeras causas de complicaciones y mortalidad en etapas tempranas y tardías (7).

Los adelantos en técnicas quirúrgicas en las pautas inmunosupresoras han tenido un papel esencial en los resultados de los trasplantes, han mejorado la supervivencia en estos pacientes disminuyendo las complicaciones por rechazo. Sin embargo, las infecciones actualmente son consideradas como una gran barrera en la supervivencia y la calidad de vida en los pacientes que han tenido un trasplante de órganos sólidos (TOS). En general, los eventos infecciosos post trasplante ocupan los primeros lugares como causa de complicaciones tras el trasplante sobre todo durante el primer año (7, 8).

Además, las infecciones siguen siendo una causa de gran relevancia que contribuye a la mortalidad en los pacientes post trasplantados, en la literatura se ha reportado que son responsables de alrededor del 24% de muertes durante el primer año en los trasplantados de riñón y corazón, el 34% en trasplante de pulmón y el 32% en el trasplante de hígado (7).



Causas de muerte en el post- trasplante de órgano sólido.

(Sarmiento E, Carbone J. Capítulo 5: Inmunoterapia de la inmunodeficiencia secundaria en el trasplante de órgano sólido en Inmunoterapia de enfermedades de base Inmunológica. pp 57-72. Elsevier España, 2018.

La evaluación inicial de los pacientes para detectar infecciones debe consistir en la anamnesis y la exploración física, además de los antecedentes y sus características demográficas, además de revisar las pruebas de cribado inicial de donante y receptor ya que éstas son fundamentales para reducir el riesgo de infección post trasplante (7). Los factores de riesgo para las infecciones después del trasplante pueden presentarse: antes (en el receptor o donante), durante o después del trasplante (9). Se pueden diferenciar los tipos de infecciones y los patógenos involucrados por el tiempo transcurrido posterior al trasplante. En el periodo pretrasplante, los factores que afectan el riesgo de infecciones son las enfermedades previas (persistentes, subyacentes o

enfermedades que empeoran después del trasplante), la colonización previa, infecciones latentes previas que pueden reactivarse (tuberculosis, CMV, VHS, etc.), el estado de nutrición y la edad del receptor (7, 9).

En el donante es especialmente importante identificar las infecciones latentes o activas previas a la extracción que pueden expresarse en el receptor por la inmunosupresión en el postoperatorio (9). Los factores intraoperatorios incluyen: el tipo de cirugía, el uso de drenajes, el tiempo quirúrgico, la hemorragia y la lesión por isquemia-reperfusión (9).

En el post trasplante, los inmunosupresores son el principal factor de riesgo para los eventos de infección (7, 9). El tiempo de aparición de infecciones puede relacionarse con los patógenos causales y esto da la pauta para el uso de estrategias profilácticas en cada etapa. Los avances en la supervivencia del injerto y del paciente en el post trasplante han ido avanzando a la par de la reducción de las infecciones y la mortalidad a causa de estas (7).

La frecuencia, el tipo de infección y el microorganismo causante tras el trasplante tiene un patrón de aparición que ya ha sido estudiado en estos pacientes, por lo que en la evaluación de las infecciones también debe considerarse el tiempo transcurrido desde el procedimiento quirúrgico (7). Las infecciones tempranas (0-30 días), usualmente se deben a factores del pre-trasplante, complicaciones quirúrgicas, infecciones hospitalarias, colonizadores pretrasplante, y infecciones derivadas del donante (7, 9). En este periodo se incluyen a bacterias Gramnegativas y Grampositivas (incluyendo patógenos multiresistentes), hongos (especies de *Candida* u otras oportunistas), virus del herpes simple y virus respiratorios nosocomiales. Los tipos más frecuentes en este periodo de tiempo son aquellas asociadas a catéteres vasculares, la neumonía nosocomial, la colitis por *Clostridium difficile* y las infecciones de la herida quirúrgica (7, 9).

En el período intermedio (1 - 6 meses), aparecen infecciones por efectos de la inmunosupresión por fármacos, por patógenos latentes que se han reactivado en el receptor, como la *Nocardia*, micobacterias (tuberculosas y no tuberculosas), CMV, VEB, Varicela-zoster, virus BK y otros respiratorios; y oportunistas, como *Pseudomona spp* y *Pneumocystis jirovecii* (9). Las tasas de infecciones quirúrgicas en estos pacientes disminuyen después de los 30 días y aumentan las infecciones oportunistas asociadas a los cuidados hospitalarios y la inmunodepresión (7, 9).

En este periodo, la infección más destacable a mencionar es la enfermedad por CMV que aparece usualmente entre las 4 y 6 semanas post trasplante, sin embargo, su aparición y su frecuencia se ha modificado con el uso reciente de profilaxis antiviral sistémica que usualmente se administra dentro de los primeros 3 a 6 meses después del procedimiento. El factor de riesgo más importante en estos pacientes para la enfermedad por CMV es la discordancia en las serologías entre el donante (D+) y el receptor (R-), ya que estos receptores no tienen una reserva de células T CD8+ ni de anticuerpos específicos para el CMV por lo que presentan porcentajes altos de viremia e infección sintomática. (7). Es importante destacar que en pacientes post trasplantados que llevan terapias inmunosupresoras, el CMV sigue siendo una de las infecciones más importantes y con gran mortalidad, esto se debe a que el control inmunológico del CMV depende de varios mecanismos inmunitarios como los linfocitos NK como primera línea de defensa y los linfocitos T CD4+ y T CD8+, que se encuentran alterados por estas terapias y representan una oportunidad de investigación y prevención y tratamiento precoces de infecciones (7).

Después de los 6 meses, la mayoría de los pacientes recibe esquemas de tratamiento inmunosupresivo estable y se vuelve susceptible de infecciones adquiridas en la comunidad (aunque tienen riesgo de patógenos oportunistas durante toda la vida), influenciadas nuevamente por las comorbilidades preexistentes, complicaciones de cada paciente y la tasa de infecciones de cada trasplante, ya que, por ejemplo, los receptores de corazón, riñón e hígado tienen tasas más bajas de infección tardía comparado con otros trasplantes como páncreas y pulmón (7,9). Los pacientes con disfunción del injerto o complicaciones que ameritan reintervenciones tienen más riesgo de infecciones en este periodo tardío, además de otras manifestaciones tardías que pueden deberse a infecciones virales reactivadas o crónicas como el herpes zóster. En este periodo también hay que poner atención a la aparición de las neoplasias cutáneas y aquellas asociadas a infecciones virales como los síndromes linfoproliferativos por VEB que aparecen después del primer año (7).

La identificación de individuos susceptibles de infección y su seguimiento es importante ya que la respuesta inflamatoria asociada a la invasión de microorganismos puede resultar disminuida o enmascarada en pacientes inmunosuprimidos (9). La bacteremia por diversos focos de infección (mayormente por infección de vías urinarias) es más frecuente en estos pacientes. El riesgo de infección se determina por la sinergia de dos factores principales: la exposición y el denominado “estado neto de inmunosupresión” (“*net state of immunosuppression*”) que es una medida de la

susceptibilidad a la infección. Este estado se compone de factores como el esquema de terapias inmunosupresoras, enfermedades de base, complicaciones en el injerto, dispositivos invasivos (vasculares, sondas, drenajes, etc.), e infecciones concomitantes con virus inmunomoduladores (CMV, VEB, HHV, VHB, VHC, etc.). (7,9)

En estos pacientes, la monitorización inmunológica actualmente se centra mayormente en el seguimiento de los niveles de fármacos inmunosupresores y en la detección de infecciones de forma temprana (9). La inmunodepresión por fármacos en estos pacientes es uno de los factores más evidentes y relevantes que pueden contribuir a infecciones en los receptores (7,9). Sin embargo, esto puede no ser suficiente. La modificación de protocolos de inmunosupresión y los esquemas de profilaxis antibiótica suelen establecerse por las características clínicas, hematológicas y serológicas de los pacientes.

Es probable que la monitorización de las alteraciones de la inmunidad humoral y celular sea necesaria para prevenir eventos infecciosos en el post trasplante y debería implantarse de forma sistemática en el trasplante de órganos sólido (8). La deficiencia en la inmunidad humoral, en particular la hipogammaglobulinemia es un biomarcador estudiado en la literatura y el principal evaluado en los ensayos de inmunoterapia en nuestro grupo y en otros centros como factor de riesgo para infecciones bacterianas y por CMV en el post trasplante renal y cardíaco (8). En nuestro grupo se realizó un estudio multicéntrico en que se evaluó la deficiencia de IgG, C3 y C4 en los primeros 30 días post trasplante y se confirmó que estas inmunodeficiencias se encuentran en mayor riesgo de desarrollar infecciones graves globales bacterianas o enfermedad por CMV (3, 8).

Infecciones en el trasplante renal.

El trasplante renal (TR) es una terapia establecida actualmente para los pacientes con enfermedad renal terminal, que mejora notablemente su supervivencia y calidad de vida (9, 10). La función y supervivencia del injerto se han mejorado con la introducción de fármacos inmunosupresores, pero también se han presentado nuevos retos como la infección en el post trasplante (10).

La combinación del estado de inmunosupresión y los potenciales riesgos quirúrgicos y complicaciones técnicas del trasplante, predisponen a esta población a secuelas infecciosas de importancia clínica. Los factores de riesgo que se han reportado

más frecuentes fueron la obesidad (un índice de masa corporal igual o mayor de 30 kg/m²), las fugas urinarias, la reintervención en la misma incisión, la inmunosupresión con micofenolato y el antecedente de diabetes mellitus. Las infecciones urinarias son las causas más frecuentes de infección y fiebre en el post trasplante, sobre todo en los primeros 6 meses del seguimiento, teniendo más riesgo aquellos pacientes que requieren el uso de materiales de endoprótesis (11). Aunque algunos trasplantados siguen teniendo complicaciones infecciosas incluso después de este tiempo y esto se relaciona con inmunosupresión post trasplante excesiva o disfunción del injerto (7, 11).

En los pacientes receptores de trasplante renal, la mayoría de las infecciones, incluidas las bacteremias, tienen como foco de origen el aparato urinario, en general, la mayoría corresponden a cistitis no complicadas, y en menor proporción, a pielonefritis del injerto. Estas infecciones se han asociado en la literatura con disfunción del injerto a largo plazo y a menor supervivencia en los primeros 3 años. Además de los patógenos usuales, deberá ponerse atención a microorganismos poco frecuentes como la tuberculosis urinaria, la infección por *Mycoplasma hominis* o por *Corynebacterium urealyticum*, y la infección del aloinjerto por virus BK que no produce sintomatología clínica sistémica (7).

El diagnóstico temprano y específico es esencial para conseguir resultados clínicos adecuados y beneficiarse de la medicina personalizada mediante la monitorización inmunológica de cada paciente (9, 10). La inmunidad humoral tiene un papel importante en todos los escenarios de infección (10). En los pacientes con enfermedad renal crónica y portadores de trasplante renal (TR), los valores circulantes de inmunoglobulinas se ven afectados por distintos factores como la malnutrición, la inflamación crónica por las terapias de sustitución de la función renal y por el tratamiento inmunosupresor (10).

Existen diversos estudios en la literatura que reportan el impacto que tiene el TR en los valores de IgG, la cual llega a descender hasta el 52% en el primer mes post trasplante, lo cual conlleva una mayor incidencia de infecciones que afectan la función del injerto y la supervivencia de los pacientes (10). *Fernández-Ruiz et al*, ha reportado una asociación con la hipogammaglobulinemia (HGG) y la incidencia de bacteremia y episodios de pielonefritis aguda y en trabajos previos de *Carbone et al* se ha fortalecido esta asociación demostrando el descenso de la incidencia de infecciones con la aplicación de inmunoglobulina intravenosa (Ig IV) en pacientes con trasplante cardiaco (12). El sistema de complemento también se ve afectado en estos pacientes,

encontrando en algunos estudios a C3 el más útil por su función como convergencia de las vías de activación, y siendo éste identificado como factor de riesgo para infección global en los diferentes periodos del seguimiento (12,13).

Infecciones en el trasplante cardíaco.

Según el registro de la *International Society for Heart and Lung Transplantation* (ISHLT 2016) las infecciones son la primera causa de muerte entre los 30 días y el primer año post trasplante (7, 8). En el periodo pretrasplante, los dispositivos mecánicos de asistencia del ventrículo izquierdo (DAVI) se emplean de forma alternativa al trasplante y las infecciones de estos dispositivos son frecuentes (de la vía de alimentación, el punto de salida, el bolsillo, del dispositivo, etc.), pueden asociarse a diseminación hematológica y su tratamiento plantea dificultades de cara al trasplante, aunque no se consideran como una contraindicación para el trasplante. Los datos disponibles sugieren que el uso de antibióticos pre y post trasplante se asocian a una disminución de recaídas (7).

Las infecciones más frecuentes en el post trasplante de este tipo son las neumonías (tempranas por bacilos gramnegativos y *S. aureus*, y tardías por neumococos, *H. influenzae* y virus de la gripe) que pueden aparecer hasta en el 80% de estos pacientes, infecciones urinarias, por virus herpes y las infecciones invasivas por hongos (7, 8). La bacteriemia aparece en un 5-10% de estos pacientes, la fuente más frecuente es la neumonía y las infecciones por catéteres, pueden presentarse en cualquier momento del seguimiento del post trasplante, aunque el estado de inmunodepresión determina el riesgo de patógenos oportunistas en estos pacientes (7, 8). La mediastinitis y las infecciones de herida quirúrgica son complicaciones particulares que se presentan en el postoperatorio de los receptores de trasplante cardíaco y pulmonar con una incidencia de 2.5% y los microorganismos involucrados son similares a otros pacientes sometidos a cirugías cardíacas, aunque se han descrito infecciones por *M. hominis*, *Legionella*, *Aspergillus*, mucormicosis y *Nocardia*. Hay algunos factores que se han encontrado en la literatura como predisponentes a la mediastinitis como el tratamiento inmunosupresor y la diabetes mellitus (7, 8). Los pacientes receptores de trasplante cardíaco también tienen frecuentemente traumas en la válvula tricúspide y el endocardio del ventrículo derecho producidos iatrogénicamente por la toma de biopsias en el seguimiento post trasplante, que les ocasiona un riesgo adicional de complicaciones post operatorias por endocarditis (7).

Los episodios de infección durante las primeras semanas tras el trasplante es un factor de riesgo de muerte a los 5 años, es decir, que las infecciones antes del alta hospitalaria podrían ser factores que incrementen la mortalidad y por tanto prevenibles con ajustes en el tratamiento y con medidas profilácticas con inmunoterapia (15). Se ha descrito en estos pacientes la relación entre la hipogammaglobulinemia (HGG) y el riesgo de infecciones graves que precisan tratamiento hospitalario (16).

Infecciones en el trasplante hepático.

Las infecciones post trasplante hepático son las complicaciones más comunes y son la primera causa de muerte en este grupo de pacientes durante el primer año y una de las causas más frecuentes de mortalidad en períodos precoces post trasplante. Este grupo de trasplantados tienen una frecuencia de infección superior a otros grupos como los trasplantes renales o cardíacos, las infecciones aparecen en el post trasplante del 59-68% de los pacientes y alrededor de la mitad se producen en las 2 primeras semanas (7, 17, 18)

En cuanto a la etiología, los focos de origen más relevantes son el abdomen, la vía biliar, la herida quirúrgica, las neumonías, bacteremias o infecciones de vías vasculares. El trasplante hepático se diferencia de otros en la duración de la cirugía, la dificultad del procedimiento y la frecuencia de complicaciones hemorrágicas, además de que, por la fisiopatología de la enfermedad hepática, los pacientes tienen un mal estado nutricional y dificultades metabólicas (7).

Las infecciones pueden dividirse en dos grupos, el primero relacionado con la intervención quirúrgica y las medidas invasivas (principalmente bacterianas por enterobacterias, pseudomonas y estafilococos) que aparecen en el periodo inmediato. El punto más débil de estos procedimientos son las anastomosis biliares y vasculares, que dan lugar a complicaciones como abscesos hepáticos, colangitis por estenosis biliar, peritonitis biliar u otras infecciones intraabdominales secundarias a isquemia hepática causada por trombosis arterial u obstrucción y estasis biliar por estenosis de la anastomosis del conducto biliar (7). El segundo grupo son las infecciones causadas por microorganismos oportunistas y que se encuentran relacionadas con inmunodeficiencias (principalmente fúngicas y bacterias como el CMV) (17). Los receptores de trasplante hepático tienen una tasa de infecciones fúngicas de un 15-42% con una mortalidad de

25-82%, los factores de riesgo son la enfermedad renal, el fallo hepático fulminante, la cirugía prolongada o el trasplante y la colonización por *Candida* pretrasplante (7, 19).

En la actualidad, la supervivencia de los pacientes trasplantados de hígado es de alrededor del 90% al año del trasplante y ha presentado un ascenso gradual en los últimos años, esto probablemente se deba a los avances en el tratamiento de las recurrencias de hepatitis C con los nuevos tratamientos antivirales, aunque es interesante que las complicaciones cardiovasculares ahora ocupan un lugar importante en la mortalidad post trasplante por el aumento de los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica con síndrome metabólico (17). La calidad de vida en el post trasplante es buena en la mayoría de los casos, sin embargo, en un 10-20% de los pacientes esta calidad de vida se ve disminuida por las complicaciones entre las cuales se encuentran las infecciones (17).

Nuestro grupo de investigación ha reportado en otros trabajos la prevalencia, características y el impacto de inmunodeficiencias en el trasplante de órgano sólido, con el propósito de identificar biomarcadores como la hipogammaglobulinemia o la hipocomplementemia, con potencial para introducirse como una práctica habitual en la práctica clínica diaria (12, 14, 20). Este trabajo de investigación pretende apuntar a una mejor estrategia para el seguimiento inmunológico que intenta centrarse en encontrar marcadores específicos para la predicción de riesgo de infección y prevenir de esta forma fallos en la función del injerto, complicaciones postoperatorias graves y la mortalidad por infecciones en esta población (10).

A pesar de los avances actuales en la cirugía y la terapia inmunosupresora, las infecciones siguen siendo un problema importante asociado a la mortalidad, este estudio multicéntrico presenta variables inmunológicas (humorales y celulares), clínicas y bioquímicas que se asocian a un mayor riesgo de infección y mortalidad en el post trasplante que pueden usarse como biomarcadores en la práctica clínica diaria de centros hospitalarios donde se realizan trasplantes de órgano sólido para detectar de forma precoz e iniciar tratamiento y medidas adecuadas y eficaces para evitar complicaciones y mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Hipótesis de trabajo y Objetivos.

Hipótesis de trabajo.

La medición de los biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos son útiles para identificar pacientes que se encuentran en riesgo de eventos infecciosos severos en el periodo post trasplante de órgano sólido.

Objetivos generales.

Principal:

Evaluar el valor de los biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos de inmunodeficiencia secundaria que influyen en la predicción de infecciones en pacientes trasplantados, para generar evidencia que apoye la inclusión de éstos en los protocolos de evaluación de los receptores antes y después del trasplante.

Secundarios:

- Establecer un punto de corte para los biomarcadores para el riesgo de infecciones en el post trasplante.
- Determinar si existe relación con condiciones clínicas preexistentes y el riesgo de infecciones en el post trasplante.
- Establecer perfiles de riesgo para eventos de infecciones severas en el post trasplante.

Material y Métodos:

Se trata de dos estudios prospectivos, observacionales, multicéntricos internacionales. Se realizó el cálculo del tamaño muestral con nivel de confianza al 95%, potencia estadística 80% e incidencia de los eventos infecciosos de 30%, obteniendo una población mínima necesaria de 163 pacientes sometidos a trasplante, para ambos estudios lo cual se cumplió. Se invitó la participación de los centros hospitalarios nacionales e internacionales y se realizó el reclutamiento de los pacientes durante el período de 2018 a 2020 complementando datos recogidos previamente en bases de datos hasta completar el tamaño muestral (bases de datos desde 2002).

Se ha realizado el seguimiento de las cohortes de los 2 estudios en tiempos distintos por lo que se han separado para reportar los resultados en este trabajo de tesis doctoral.

El Estudio 2 es un estudio multicéntrico de trasplante renal internacional cuyos resultados han sido publicados recientemente (Anexo 1). Complementa bien la evaluación de biomarcadores del estudio 1 ya que este estudio multicéntrico internacional solo pudo incluir unos pocos trasplantes renales debido a la pandemia COVID19.

Los criterios de inclusión incluyeron: pacientes adultos sometidos a trasplante de órgano sólido, autorización para participación en el estudio mediante consentimiento informado. Los criterios de exclusión incluyeron: inmunodeficiencia primaria conocida previa, terapia con inmunoglobulina IV en los 6 meses previos al reclutamiento, enfermedades infecciosas oportunistas presentes en el momento del reclutamiento.

Estudio 1. Se invitó a participar en este estudio a varios centros hospitalarios de distintos países, pero por varias razones no fue posible la participación efectiva de todos ellos. Debido a la crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19 durante el 2020 - 2021, se suspendió o disminuyó la actividad de trasplante en varios de los centros hospitalarios incluidos en el seguimiento en este protocolo y ello motivó que solo se pudiera completar el estudio con 2 centros del estudio internacional. El Anexo 2 detalla los centros hospitalarios invitados a participar en nuestro protocolo.

Se realizó un seguimiento clínico de 6 meses para la identificación de eventos infecciosos (presencia en cultivo de un microorganismo patógeno, sintomatología

derivada de la invasión del microorganismo o de la respuesta inmunológica del huésped, y que requiere tratamiento hospitalario/ intravenoso). En este estudio, todos los centros participantes utilizaron la misma pauta de inmunosupresión. Se analizaron puntos de medición pre-trasplante, día 7 (D7) y día 30 (D30) incluyendo la identificación de características clínicas, biomarcadores de inmunidad humoral (IgG, IgA, IgM, C3, C4) y celular (estudio de población de linfocito T (CD3+) y sus subpoblaciones principales CD4+, CD8+, CD19+B and CD16/56-NK) en porcentaje y números absolutos; hematológicos (hemograma) y bioquímicos (perfil renal, hepático y nutricional). Se han seleccionado estos marcadores ya que son pruebas realizadas rutinariamente en otros escenarios, están disponibles fácilmente, los resultados pueden obtenerse de manera rápida y a bajo costo y pueden ser reproducibles en diferentes centros hospitalarios.

Estudio 2. El estudio multicéntrico internacional de trasplante renal no se vio afectado por la pandemia COVID-19 ya que temporalmente incluyó reclutamiento en una fase anterior. Incluyó 3 centros en España y 1 de Chile. En este estudio se evaluó el rol como biomarcador de los niveles de IgG, IgA, IgM, C3, C4 (determinados por nefelometría o turbidimetría) y de anticuerpos específicos anti-CMV y anti-polisacárido de neumococo (por ELISA comercial). Por primera vez se analiza el rol combinado de la hipogammaglobulinemia IgG con nivel bajo de anticuerpos específicos. Se decidió utilizar para este segundo estudio la enfermedad CMV y la presencia de infecciones bacterianas recurrentes como los eventos de infección más relevantes a evaluar.

La reciente definición de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) de hipogammaglobulinemia con deficiencia de formación de anticuerpos como indicación inmunológica para el uso de inmunoglobulinas intravenosas justificó tal definición de tal manera que este estudio se alinea con la actual forma de seleccionar pacientes para inmunoterapia.

Metodología de laboratorio.

A continuación, se describen las técnicas y métodos de cuantificación utilizadas en este estudio.

- 1) **Nefelometría. Parámetros estudiados:** IgG, IgA, IgM, Complemento C3 y C4, y subclases de IgG.

La nefelometría se define como la detección de la energía lumínica dispersa o reflejada hacia un detector que no se encuentra en el camino directo del haz luminoso.

Las mediciones se realizan a menudo en un determinado ángulo en relación con dicho haz. Es un procedimiento analítico que se basa en la dispersión de la radiación que atraviesan las partículas de materia. Cuando la luz atraviesa un medio transparente en el que existe una suspensión de partículas sólidas, se dispersa en todas direcciones y como consecuencia se observa turbia. La intensidad depende de: el número de partículas suspendidas, su tamaño, su forma, los índices refractivos de la partícula y del medio dispersante, y la longitud de onda de la radiación dispersada. Concentración: Mayor sea el número de partículas, mayor es la dispersión. 2. Tamaño de la partícula: Factores como el pH, la velocidad y orden de la mezcla, concentración de los reactivos, duración del estado de reposo y la fuerza iónica. 3. Longitud de onda: Generalmente las muestras se iluminan con luz blanca, pero si están coloreadas, se debe escoger una porción del espectro electromagnético en la que la absorción del medio se reduzca al mínimo. El instrumento usado en la nefelometría, el nefelómetro. Es un tipo de instrumento fotométrico para la determinación de proteínas específicas en diferentes fluidos biológicos. Este método es apropiado para ensayos cuantitativos que usan complejos antígeno-anticuerpo y para medir la cantidad de proteínas en fluidos.

2) **Turbidimetría. Parámetros estudiados:** IgG, IgA, IgM, Complemento C3 y C4.

La turbidimetría es una técnica analítica de medición que determina cuánto se atenúa un haz de luz que se traslada a través de una suspensión. Esta atenuación se produce gracias a los fenómenos de absorción y dispersión que experimenta la luz debido a las partículas. Con esta metodología se suelen deducir las dimensiones de las partículas presentes en una suspensión mediante la medición de la turbidez que hay en esta. Este procedimiento se usa para cuantificar la absorción y dispersión de la luz: se demuestra su dependencia de las dimensiones de las partículas y de la concentración de estas en la suspensión. Los métodos analíticos basados en la turbidimetría poseen ciertas ventajas, como, por ejemplo: cortos tiempos de análisis, simplicidad experimental, costos reducidos (con relación a otros procesos), ausencia de daño a la muestra y eliminación de la necesidad de calibrar. El fundamento de la turbidimetría es la medición de la intensidad de la radiación lumínica que se transmite a través de un medio constituido por partículas que manifiestan cierta dispersión, las cuales poseen un índice de refracción distinto al de la suspensión donde se encuentran. En esta técnica la luz atraviesa un filtro, por lo que se produce una radiación de la que se conoce su longitud de onda; después, esta radiación atraviesa una cubeta en la que se encuentra una solución y es recolectada por una celda de naturaleza fotoeléctrica. Así se obtiene una cuantificación de la luz que se ha absorbido. Se puede decir que la turbidez de un fluido se debe a la presencia de partículas que se encuentran finamente divididas en

suspensión; por lo tanto, al hacer que un haz de luz atraviese una muestra que posee cierta turbidez, se observa la disminución de su intensidad debido a la dispersión. Por otro lado, la cantidad de radiación lumínica que se ha dispersado es dependiente de la distribución de las dimensiones de las partículas y su concentración, y se mide a través de un dispositivo llamado turbidímetro. La estructura de los turbidímetros está constituida por una fuente de radiación lumínica, una lente que permite enfocar y conducir un haz de luz a través de un fluido y un dispositivo de naturaleza fotoeléctrica encargado de detectar y estimar la cantidad de radiación lumínica que se ha dispersado.

3) **ELISA. Parámetros estudiados:** Cuantificación del nivel de anticuerpos IgG específicos anti-CMV e IgG anti-polisacárido de neumococo (23 serotipos).

ELISA es el acrónimo en inglés para enzimoimmunoanálisis de adsorción. Se trata de un examen de laboratorio comúnmente usado para detectar anticuerpos en la sangre.

3a) **ELISA anti-CMV.** Se trata de un ELISA indirecto para la determinación cuantitativa de anticuerpos anti-CMV IgG, en suero o plasma humano. Los anticuerpos anti-CMV IgG presentes en la muestra se unen al antígeno inactivado de CMV que está marcando la placa sólida del ELISA. Tras un paso de lavado de la placa, se añade un conjugado. Tras una incubación y nuevo lavado de la placa, se añade sustrato. Se produce entonces una reacción quimioluminiscente o cromatográfica que se mide con un colorímetro. El resultado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-CMV IgG presentes en la muestra. Conjugado: Anticuerpo de conejo conjugado con peroxidasa (fragment F(ab) para IgG humana. Sustrato: tetrametilbencidina. Colorímetro: longitud de onda 450/650. Reactivo utilizado: Enzygnost Anti-CMV IgG, Siemens, Marburg, Germany.

3b) **ELISA anti-polisacárido de neumococo.** Para la evaluación de potenciales biomarcadores de riesgo de la inmunidad humoral específica para desarrollo de infecciones bacterianas recurrentes se utilizó un KIT ELISA de IgG e IgG2 anti-polisacárido de neumococo multivalente que en los pocillos de la placa sólida tienen 23 serotipos de *pneumococcus pneumoniae*. Los serotipos en la placa son los mismos que contiene la vacuna pneumovax 23 (Serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, Page 3 2 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F y 33F). Los anticuerpos anti-neumococo son un biomarcador surrogado de la evaluación de la capacidad de formación de anticuerpos anti-antígenos bacterianos timo independientes. Reactivo utilizado: VaccZyme™ Binding Site, Birmingham, United Kingdom.

- 4) **Citometría de Flujo. Parámetros estudiados:** Cuantificación del nivel de células T CD3+, CD4+, CD8+, células B CD19+, y de células Natural Killer NK (CD3-CD56+/CD16+).

La citometría de flujo es una técnica de análisis que permite identificar y cuantificar a diferentes subpoblaciones celulares simultáneamente, así como obtener gran información de ellas dependiendo de las proteínas que se expresen en su citoplasma o en la superficie. El citómetro de flujo mide el tamaño y la granularidad de las células, así como la fluorescencia relativa de la misma asociada a un anticuerpo monoclonal que se dirige específicamente a las dianas de las células que interesa identificar. Esta información se determina usando un sistema óptico acoplado a un procedimiento electrónico que graba la manera en que la célula dispersa el haz de luz y emite fluorescencia. Un citómetro de flujo, aparato que se utiliza en esta metodología, se encuentra compuesto por tres principales sistemas, el de fluidos, el óptico, y el electrónico.

El sistema de fluidos se encarga de transportar a las células una a una hacia el haz de luz; el sistema óptico, compuesto por láseres y detectores que registran la luz emitida por la célula, y un sistema electrónico que recibe las señales luminosas y las codifica en gráficos. Su principal función es alinear y transportar a las células dentro de una cámara de flujo hacia el haz de luz; por tanto, es necesario que la muestra se encuentre suspendida en un fluido. Esto se consigue mediante una propiedad hidrodinámica, que consiste en la inyección de la muestra en el centro de una corriente de fluido envolvente, el cual puede ser agua o un buffer de fosfatos. Esto se logra porque la presión de la muestra es mayor que la presión del líquido envolvente. Gracias a este sistema, las células pueden ser alineadas en “fila india”, y de esta manera se asegura que el haz de luz incida sobre una célula a la vez.

El sistema óptico está compuesto por láseres y filtros, que se encargan de iluminar a las células y dirigir las señales resultantes hacia los detectores apropiados. Las células, al ser incididas por el láser, tendrán la capacidad de dispersar la luz de acuerdo con su tamaño y su granularidad, así como por la fluorescencia que emita un fluorocromo asociado al anticuerpo monoclonal que se usa para marcar a la célula. En caso de que la luz se disperse frontalmente, se obtendrá un parámetro denominado FSC (forward scatter), que indica el tamaño de la célula. Por ello, las células marcadas con fluorocromos serán excitadas por el láser y la luz será dirigida hacia un fotodetector, el cual recibirá la longitud de onda emitida por la excitación del fluorocromo.

Gracias a este sistema, se puede conocer el tamaño y la granularidad de la célula, así como las proteínas que se expresan (marcadores), permitiendo así la

identificación de los diferentes tipos celulares. A medida que el citómetro posea más detectores, mayor será su capacidad para identificar más poblaciones celulares.

Sistema electrónico. Una vez que la señal luminosa es generada cuando el haz de luz incide en la célula, ésta debe traducirse en señales electrónicas. El sistema electrónico consta de sensores luminosos como fotodiodos y fotomultiplicadores, que tienen la finalidad de convertir los fotones en electrones y éstos, a su vez, en corriente eléctrica. De este modo, la señal eléctrica es recibida por el ordenador y traducida por un *software* en gráficos de puntos (*dot plots*) e histogramas.

Anticuerpos monoclonales acoplados a fluorocromos. Como se mencionó anteriormente, el marcaje celular con anticuerpos monoclonales acoplados a fluorocromos representa un paso importante para la identificación de subtipos celulares mediante el uso de la técnica de citometría de flujo. Los anticuerpos monoclonales permiten detectar y “marcar o etiquetar” poblaciones específicas de células y también características funcionales de las mismas. Esta tecnología consiste en la creación de un anticuerpo que sea capaz de unirse a una estructura específica (antígeno), mismo que se expresa en el tipo celular que se requiere identificar.

Adicionalmente, este anticuerpo debe contener una unión covalente a un fluorocromo, que emitirá luz fluorescente cuando sea excitado por el láser; de este modo, la célula se “tiñe” y facilitará la identificación de las células que se unieron al anticuerpo o marcador. Las moléculas emitirán luz verde, naranja, azul, roja o amarilla, dependiendo del fluorocromo seleccionado. Ello permitirá estudiar diversas poblaciones celulares a la vez. Dependiendo del modelo de citómetro de flujo que se utilice, será la cantidad de colores que se puedan leer simultáneamente.

Análisis de resultados. Los resultados obtenidos pueden ser representados mediante diferentes estilos, desde una gráfica de puntos hasta una figura tridimensional; la clave se centra en seleccionar los gráficos que reflejen los resultados con precisión y sin generar confusiones.

Análisis estadístico:

Se realizaron medidas descriptivas y de tendencia central para las variables cuantitativas y cualitativas. En el análisis de asociación para infecciones y mortalidad en el post trasplante, se usó la prueba T de student para variables cuantitativas y la X^2 en las categóricas. Se consideran valores de $p < 0.05$ como significativos para estos análisis.

En la evaluación para los puntos de corte de los biomarcadores asociados a riesgo de infección se realizaron curvas COR para dividir a los pacientes en 2 grupos de acuerdo con el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad y posteriormente se realizaron los análisis estadísticos comparando estos dos grupos.

Posteriormente se aplicó el análisis con la regresión logística para crear modelos de impacto para evaluar a los marcadores clínicos, bioquímicos e inmunológicos como potenciales factores de riesgo para infección en el post trasplante con todos los puntos de seguimiento y la infección como resultado final.

Con esta información se construyeron escalas inmunológicas (*inmunoscores*) para valorar el riesgo de los pacientes utilizando la combinación de varios biomarcadores. Para ello se utilizaron los Odds Ratio que se obtuvieron en los modelos de regresión logística para asignar puntos a los biomarcadores. La suma de puntos constituye la escala o *inmunoscore*.

Resultados

Se reportan los resultados de ambos estudios, en primer lugar, el estudio multicéntrico de trasplante de 3 grupos; hepático, renal y cardíaco (**Estudio 1**), y en segundo el estudio multicéntrico internacional de trasplante renal (**Estudio 2**).

Estudio 1.

En el estudio multicéntrico de trasplante de órgano sólido, se realizó el seguimiento a 538 pacientes. Debido a la crisis sanitaria provocada por la pandemia de la COVID-19 algunos de los centros hospitalarios en el extranjero incluidos inicialmente en el seguimiento suspendieron sus actividades de trasplante y no fue posible incluirlos en el estudio. Las características demográficas y variables clínicas se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Características de la población estudiada.

	Trasplante Renal	Trasplante Hepático	Trasplante Cardíaco
País	España 63% (5) Perú 37% (3)	España 90% (198) Perú 10% (24)	España 100% (308)
Sexo	Mujer 25% (2) Hombre 75% (6)	Mujer 22.1% (49) Hombre 77.9% (173)	Mujer 26.3% (81) Hombre 69.5% (214)
Edad	60 (DE +/- 22)	54 años (DE +/-10)	53 años (DE +/- 12)
Grupo sanguíneo	A 50% (4) O 50% (4)	A 62.1% (72) B 7.8% (9) AB 3.4% (4) O 26.7% (31)	-
Rh	Positivo 37.5% (3) Negativo 12.5% (1)	Positivo 90.4% (104) Negativo 9.6% (11)	-
Antecedente de cardiopatía isquémica	25% (2)	5.9% (13)	46.4% (143)
Antecedente de DM2	62.5% (5)	41% (91)	4.5% (14)
Antecedente de HTA	62.5% (5)	34.7% (77)	6.8% (21)
Dislipemia	37.5% (3)	27.9% (62)	56.5% (174)
Obesidad	12.5% (1)	66.7% (16)	4.2% (13)
Tabaquismo	25% (2)	50.5% (112)	53.2% (164)
Anemia pretrasplante	50% (4)	30.2% (67)	-
Rechazo	12.5% (1)	23.4% (44)	6 (11.5%)
Uso de Basiliximab	37.5% (3)	46.7% (70)	-
Infección post-trasplante	50% (4)	67% (150)	46% (144)
Exitus	0% (0)	12% (27)	33% (103)

Se realizó seguimiento con 3 tiempos de estudio: pretrasplante, 7 días y 30 días después del trasplante. Se recolectó también la información correspondiente al periodo en lista de espera y los días de ingreso en hospitalización post trasplante (Tabla 2) contrastándolos con los eventos de infección post trasplante y el exitus sin encontrar asociaciones estadísticamente significativas con estas variables.

Tabla 2. Media de tiempo de espera y hospitalización (Media, +/- DE)

	Renal	Hepático	Cardíaco
Tiempo en lista de espera (días)	309.5 (DE +/- 343)	182 (DE +/- 193.2)	41.25 (DE +/- 168.3)
Tiempo de hospitalización post trasplante (días)	76.5 (DE +/- 47.5)	20.3 (DE +/- 18.5)	32.7 (DE +/- 61.7)

En este estudio solamente se ha recabado la información respecto al uso de Basiliximab en los pacientes trasplantados en los centros participantes, no fue posible recabar información detallada de todos los centros de la terapia inmunosupresora de inducción (por ejemplo, del uso de timoglobulina).

Identificación de valores de corte para biomarcadores inmunológicos

Mediante curvas COR se establecieron puntos de corte para los valores de inmunoglobulinas y factores de complemento, con una sensibilidad y especificidad de aproximadamente 70 y 80% respectivamente.

Se estableció como hipogammaglobulinemia (HGG) valores de IgG < 900 mg/dl, IgM < 60 mg/dl e IgA < 200 mg/dl; e hipocomplementemia con C3 < 80 mg/dl y C4 < 20 mg/dl. En la inmunidad celular, se tomaron como punto de corte para Linfocitos T CD3+ 70% y 700 células/ μ l, Linfocitos T CD4+ 40% y 400 células/ μ l, Linfocitos T CD8+ 25% y 600 células/ μ l, Linfocitos B 15% y 150 células/ μ l, y Linfocitos NK 10% y 50 células/ μ l.

La media de valores de las variables estudiadas (pretrasplante, 7 días y 30 días post trasplante) se muestra en las tablas 3 y 4.

Como referencia de estudios previos también se utilizó la hipogammaglobulinemia definida como IgG < 600 mg/dl y la hipogammaglobulinemia IgG severa definida como IgG < 400 mg/dl.

**Tabla 3. Perfil Inmunológico pretrasplante por tipo de trasplante.
(Media, +/- DE)**

	Trasplante Renal	Trasplante Hepático	Trasplante Cardíaco
IgG (mg/dl)	694 (DE +/- 49.5)	1862 (DE +/- 806.7)	1036.8 (DE +/- 384.9)
IgA (mg/dl)	134.7 (DE +/- 140.3)	491 (DE +/- 273.3)	292.2 (DE +/- 137)
IgM (mg/dl)	18.6 (DE +/- 13.5)	206 (DE +/- 176.7)	108.3 (DE +/- 64.7)
C3 (mg/dl)	65.3 (DE +/- 17.6)	65 (DE +/- 32.4)	112.3 (DE +/- 33.3)
C4 (mg/dl)	17.9 (DE +/- 3.6)	12 (DE +/- 7.6)	23.2 (DE +/- 10.2)
PCR (mg/dl)	1.9 (DE +/- 2.8)	1.82 (DE +/- 2.1)	3.9 (DE +/- 7.5)
Linfocitos T CD3+ (%)	-	70 (DE +/- 12.9)	74.95 (DE +/- 10.4)
Linfocitos T CD3+ (#) (células/μl)	-	707 (DE +/- 492.7)	954.1 (DE +/- 573.1)
Linfocitos T CD4+ (%)	-	41.9 (DE +/- 12.2)	49.8 (DE +/- 10.4)
Linfocitos T CD4+ (#) (células/μl)	-	387 (DE +/- 239)	663 (DE +/- 353.4)
Linfocitos T CD8+ (%)	-	25.7 (DE +/- 14.2)	24.5 (DE +/- 8.8)
Linfocitos T CD8+ (#) (células/μl)	-	264.7 (DE +/- 279.6)	362.9 (DE +/- 239)
Linfocitos B (%)	-	14.8 (DE +/- 10)	11.86 (DE +/- 8.2)
Linfocitos B (#) (células/μl)	-	59.9 (DE +/- 70)	168.2 (DE +/- 131.7)
Linfocitos NK (%)	-	13.4 (DE +/- 9.3)	10.7 (DE +/- 9)
Linfocitos NK (#) (células/μl)	-	92.7 (DE +/- 93.6)	138.7 (DE +/- 120)
CD4/CD8	-	2.9 (DE +/- 1)	2.4 (DE +/- 1.6)

Tabla 4. Perfil Inmunológico en el seguimiento post-trasplante a 7 y 30 días por tipo de trasplante. (Media, +/- DE)

	Trasplante Renal		Trasplante Hepático		Trasplante Cardíaco	
	7 DÍAS	30 DÍAS	7 DÍAS	30 DÍAS	7 DÍAS	30 DÍAS
IgG (mg/dl)	669	637 (DE +/- 326.6)	811 (DE +/-333)	883.8 (DE +/- 315.7)	653.7 (DE +/- 653.7)	639 (DE +/- 218.8)
IgA (mg/dl)	233	247 (DE +/- 197.9)	233 (DE +/- 150)	213.3 (DE +/- 96.9)	184.8 (DE +/- 92)	178 (DE +/- 83.7)
IgM (mg/dl)	79.9	69.6 (DE +/- 59.8)	107.7 (DE +/- 74)	98.9 (DE +/- 67.8)	85.2 (DE +/- 70.7)	82.7 (DE +/-91.4)
C3 (mg/dl)	87.9	103.3 (DE +/- 13.6)	83.7 (DE +/- 36.8)	107.2 (DE +/- 40.2)	91.1 (DE +/- 38.1)	107 (DE +/- 38.2)
C4 (mg/dl)	20.8	26.5 (DE +/- 1.2)	20.3 (DE +/- 13.9)	25.3 (DE +/- 13.1)	19.3 (DE +/- 6.9)	23.4 (DE +/- 7.4)
PCR (mg/dl)	3.10 (DE +/-1.13)	4.4 (DE +/- 3.4)	3.9 (DE +/- 3.5)	2.3 (DE +/- 4)	-	2.9 (DE +/- 5.5)
Linfocitos T CD3+ (%)	-	-	63.8 (DE +/- 13.7)	74.4 (DE +/- 10)	66.2 (DE +/- 14.8)	74 (DE +/- 11.2)
Linfocitos T CD3+ (células/μl)	-	-	499 (DE +/- 480)	700 (DE +/- 511.6)	609 (DE +/- 487)	941.9 (DE +/- 652)
Linfocitos T CD4+ (%)	-	-	43.4 (DE +/- 13)	42.6 (DE +/- 14.1)	46.4 (DE +/- 13.7)	49.8 (DE +/- 11.8)
Linfocitos T CD4+ (células/μl)	-	-	313 (DE +/- 309.5)	371 (DE +/- 289.3)	431.3 (DE +/- 353.5)	639.2 (DE +/- 456.8)
Linfocitos T CD8+ (%)	-	-	22 (DE +/- 18.9)	30.3 (DE +/- 15.4)	18.9 (DE +/- 8.7)	23.4 (DE +/- 8.9)
Linfocitos T CD8+ (células/μl)	-	-	142 (DE +/- 146.5)	556.4 (DE +/- 1763)	172 (DE +/- 155.9)	294.4 (DE +/- 235.6)
Linfocitos B (%)	-	-	27 (DE +/- 12.8)	14.5 (DE +/- 8.1)	23.5 (DE +/- 15.3)	13.6 (DE +/- 10)
Linfocitos B (células/μl)	-	-	222 (DE +/- 196.3)	162.8 (DE +/- 146.2)	197.6 (DE +/- 188.6)	163.6 (DE +/- 147.6)
Linfocitos NK (%)	-	-	8.1 (DE +/- 10.7)	8.6 (DE +/- 6.3)	5.6 (DE +/- 4.8)	8.8 (DE +/- 6.3)
Linfocitos NK (células/μl)	-	-	41.6 (DE +/- 23.7)	92 (DE +/- 117)	43 (DE +/- 41.1)	97.8 (DE +/- 89.8)
CD4/CD8	-	-	3.3 (DE +/- 2.3)	2.2 (DE +/- 1.26)	3.14 (DE +/- 2.4)	2.63 (DE +/- 1.9)

Además, se realizaron mediciones de valores en el hemograma y la bioquímica sérica de estos pacientes para los mismos tiempos de estudio (pretrasplante, 7 y 30 días post trasplante), los valores de las medias para estas variables se muestran en las tablas 5 y 6.

**Tabla 5. Hemograma y Bioquímica pretrasplante por tipo de trasplante.
(Media +/- DE)**

	Trasplante Renal	Trasplante Hepático	Trasplante Cardíaco
Neutrófilos (%)	74.9 (DE +/- 14.7)	61.4 (DE +/- 10.5)	5.1 (DE +/- 4)
Neutrófilos (#) (x10³/L)	5.3 (DE +/- 2.7)	3.3 (DE +/- 2.6)	64.6 (DE +/- 13.6)
Linfocitos (%)	9.3 (DE +/- 7.1)	23.4 (DE +/- 9.3)	8.2 (DE +/- 2.3)
Linfocitos (#) (x10³/L)	0.87 (DE +/- 0.35)	1.1 (DE +/- 0.7)	1.4 (DE +/- 0.75)
Monocitos (%)	7.3 (DE +/- 4.2)	10.8 (DE +/- 3.7)	8.2 (DE +/- 2.3)
Monocitos (#) (x10³/L)	0.4 (DE +/- 0.34)	0.5 (DE +/- 0.9)	0.62 (DE +/- 0.3)
Hematíes (x10³/L)	-	3.8 (DE +/- 0.8)	4 (DE +/- 0.78)
Hematocrito (%)	-	35.6 (DE +/- 7.7)	40 (DE +/- 7.5)
Plaquetas (x10³/L)	-	91.5 (DE +/- 71.2)	207.5 (DE +/- 92.4)
Albúmina (g/dl)	-	3.4 (DE +/- 1.8)	3.8 (DE +/- 0.5)
Proteínas totales (g/dl)	-	6.7 (DE +/- 1)	6.5 (DE +/- 0.8)
Fracción Beta 2 (mg/dl)	-	6.1 (DE +/- 2.3)	6.1 (DE +/- 1.1)
Fracción Gamma (mg/dl)	-	26.4 (DE +/- 8)	14.6 (DE +/- 3.7)
Albúmina/proteínas	2.2 (DE +/- 2.6)	3.2 (DE +/- 2)	-
Ratio Fracción gamma	-	1.1 (DE +/- 1)	-
Fracción de albúmina (%)	-	50 (DE +/- 7.9)	56.7 (DE +/- 4.5)
AFP (mg/dl)	-	42.6 (DE +/- 186)	-
Ferritina (mg/dl)	-	776 (DE +/- 3220.7)	145.3 (DE +/- 119)
Vitamina D (ug/L)	8 (DE +/- 8.8)	18.8 (DE +/- 11.6)	22.8 (DE +/- 9)

**Tabla 6. Hemograma y Bioquímica en el seguimiento a 7 y 30 días por tipo de trasplante.
(Media, +/- DE)**

	Trasplante Renal		Trasplante Hepático		Trasplante Cardíaco	
	7 DÍAS	30 DÍAS	7 DÍAS	30 DÍAS	7 DÍAS	30 DÍAS
Neutrófilos (%)	74.7 (DE +/- 14.1)	83.1 (DE +/- 62.5)	75.5 (DE +/- 10.4)	68 (DE +/- 13.3)	83.3 (DE +/- 10.3)	76.2 (DE +/- 11.6)
Neutrófilos (#) (X10³/L)	8.7 (DE +/- 9.4)	4.3 (DE +/- 3.9)	6.8 (DE +/- 4.2)	4.6 (DE +/- 3.9)	8.8 (DE +/- 4.9)	5.3 (DE +/- 2.1)
Linfocitos (%)	13.4 (DE +/- 10.9)	8.8 (DE +/- 9.7)	10.9 (DE +/- 9.2)	19.7 (DE +/- 12)	9 (DE +/- 6.6)	16.4 (DE +/- 9.6)
Linfocitos (#) (X10³/L)	1.0 (DE +/- 0.52)	0.47 (DE +/- 0.2)	0.8 (DE +/- 0.6)	1.1 (DE +/- 0.9)	0.83 (DE +/- 0.48)	1.1 (DE +/- 0.8)
Monocitos (%)	8.2 (DE +/- 4.1)	6.9 (DE +/- 3.5)	8.7 (DE +/- 3.3)	8.4 (DE +/- 3.9)	6.1 (DE +/- 6.4)	6.3 (DE +/- 2.8)
Monocitos (#) (X10³/L)	0.6 (DE +/- 1.82)	0.5 (DE +/- 0.21)	0.7 (DE +/- 0.3)	0.5 (DE +/- 0.2)	0.47 (DE +/- 0.32)	0.4 (DE +/- 0.2)
Hematíes (X10³/L)	-	-	3.1 (DE +/- 0.6)	3.5 (DE +/- 0.6)	3.1 (DE +/- 0.35)	3.3 (DE +/- 0.6)
Hematocrito (%)	-	-	28.9 (DE +/- 5.4)	31.2 (DE +/- 6.3)	28.4 (DE +/- 3.3)	31.3 (DE +/- 5.7)
Plaquetas (X10³/L)	-	-	127 (DE +/- 104)	156 (DE +/- 85.6)	167.3 (DE +/- 77.9)	202.6 (DE +/- 102.6)
Albúmina (g/dl)	3.2 (DE +/- 1.9)	3.1 (DE +/- 0.85)	2.8 (DE +/- 0.5)	3.6 (DE +/- 0.6)	3.5 (DE +/- 0.54)	3.4 (DE +/- 0.4)
Proteínas totales (g/dl)	5.5 (DE +/- 0.69)	-	5.3 (DE +/- 0.9)	6.5 (DE +/- 0.6)	5.41 (DE +/- 0.67)	5.3 (DE +/- 0.6)
Fracción Beta 2 (mg/dl)	-	-	5.1 (DE +/- 1.3)	4.5 (DE +/- 0.9)	-	4.7 (DE +/- 0.1)
Fracción Gamma (mg/dl)	-	-	17 (DE +/- 4.8)	13.2 (DE +/- 3.8)	-	11.5 (DE +/- 4)
Albúmina/ Proteínas	-	-	1.7 (DE +/- 2.3)	2.1 (DE +/- 2.6)	-	-
Rat. Fracción Gamma	-	-	0.09 (DE +/- 0.31)	0.06 (DE +/- 0.2)	-	-
Fracción De Albúmina	-	-	52.7 (DE +/- 5.7)	61.2 (DE +/- 5.1)	-	59.2 (DE +/- 1.5)
AFP (mg/dl)	-	-	17.6 (DE +/- 26.4)	3 (DE +/- 2.1)	-	-
Ferritina (mg/dl)	-	277 (DE +/- 270)	650 (DE +/- 726.4)	378 (DE +/- 365.7)	-	214.6 (DE +/- 238.1)
Vitamina D (ug/L)	-	-	15.3 (DE +/- 5.9)	19.3 (DE +/- 10.5)	-	-

Resultados Globales del Estudio 1.

En total se llevaron a cabo 538 trasplantes durante el seguimiento: 8 renales, 222 hepáticos y 308 cardíacos. Se realizaron 511 trasplantes en España en el H.U. Gregorio Marañón y 27 en Perú en el Hospital "Guillermo Almenara Irigoyen".

Se incluyeron 136 (26%) mujeres y 389 (74%) hombres. La media de edad de todos los pacientes trasplantados incluidos en este estudio fue de 54 años y pasaron una media de tiempo en lista de espera de 137 días y una estancia hospitalaria de 34 días.

Entre las características de la población, 278 (51%) pacientes tenían antecedentes de tabaquismo, 158 (29%) de cardiopatía isquémica, 103 (19%) de Hipertensión Arterial Sistémica (HTA), 30 (5.6%) de Obesidad, 19 (3.5%) de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), y 177 (33%) de dislipemia (DL).

Se encontraron 298 (55%) casos de infección post-trasplante y la media de tiempo sin presentar episodios de infección fue de 127 días. En 302 (56%) de los pacientes se presentó infección o reactivación por CMV en el seguimiento. Respecto al tipo de infecciones en el estudio multicéntrico, para las 3 clases de trasplante, se observó que el 30% fueron de origen vírico (incluyendo el CMV), el 39,6% de origen bacteriano, el 19% de origen fúngico y < 1% de origen parasitario. La media de supervivencia fue de 1348 días, presentándose 144 (27%) eventos de exitus durante el seguimiento. En la información recolectada en este estudio, se observó que, entre los diagnósticos de exitus reportados, el 47% se atribuyó a causas infecciosas.

Las medias de valores séricos de parámetros bioquímicos pretrasplante, a los 7 y 30 días se describen a continuación en la tabla 7a y las medias del perfil inmunológico encontradas en los mismos tiempos de corte se describen después en la tabla 7b.

Tabla 7a. Resultados globales. Hemograma y bioquímica en el seguimiento a 7 y 30 días post-trasplante. (Media, +/- DE)

	Pretrasplante M (DE)	7 días M (DE)	30 días M (DE)
PCR (mg/dl)	3.4 (+/- 6.6)	2.7 (+/- 4.2)	2.7 (+/- 5.1)
Vitamina D (ug/L)	19.0 (+/- 11.4)	15.3 (+/- 5.9)	19.9 (+/- 10.5)
Ferritina (mg/dl)	729.4 (+/- 3103.1)	650 (+/- 726.4)	354.0 (+/- 351.2)
Linfocitos (%)	23.1 (+/- 9.7)	10.4 (+/- 8.8)	19.0 (+/- 11.7)
Linfocitos (#) (X10³/L)	14.8 (+/- 11.5)	23.7 (+/- 16.6)	11.0 (+/- 73.3)
Monocitos (%)	10.3 (+/- 3.6)	8.1 (+/- 3.8)	8.2 (+/- 4.6)
Monocitos (#) (X10³/L)	7.6 (+/-67.0)	14.0 (+/- 91.9)	10.9 (+/- 76.4)
Neutrófilos (%)	62.2 (+/- 11.1)	77.3 (+/- 10.8)	69.4 (+/- 13.9)
Neutrófilos (#) (X10³/L)	86.8 (+/- 727.2)	202.8 (+/- 1780.2)	94.2 (+/- 791.1)
Albúmina (g/dl)	3.5 (+/- 1.8)	2.9 (+/- 0.6)	3.6 (+/- 0.64)
Proteínas totales (g/dl)	6.7 (+/- 1.0)	5.2 (+/- 0.9)	6.2 (+/- 0.91)
Fracción Beta 2 (mg/dl)	6.1 (+/- 2.2)	5.1 (+/- 1.3)	4.5 (+/- 0.9)
Fracción Gamma (mg/dl)	25.7 (+/- 8.3)	17.0 (+/- 4.8)	13.0 (+/- 3.7)
Ratio Alb/Prot	3.2 (+/- 2.1)	1.7 (+/- 2.3)	2.1 (+/- 2.6)

Tabla 7b. Resultados globales. Perfil inmunológico en el seguimiento en el seguimiento a 7 y 30 días post-trasplante. (Media, +/- DE)

	Pretrasplante M (DE)	7 días M (DE)	30 días M (DE)
IgG (mg/dl)	1369.5 (+/- 717.2)	658.5 (+/- 284.5)	699.4 (+/- 268.4)
IgA (mg/dl)	372.3 (+/- 226.5)	186.3 (+/- 113.1)	186.7 (+/- 89.1)
IgM (mg/dl)	147.7 (+/- 132.3)	85.6 (+/- 72)	86.3 (+/- 85.6)
C3 (mg/dl)	94.1 (+/- 39.9)	83.5 (+/- 42.9)	107.0 (+/- 38.4)
C4 (mg/dl)	19.2 (+/- 10.7)	18.3 (+/- 9.7)	23.9 (+/- 9.0)
IgG1 (g/L)	6.33 (+/- 2.8)	3.1 (+/- 2.0)	7.0 (+/- 33.2)
IgG2 (g/L)	3.4 (+/- 1.8)	1.7 (+/- 1.2)	3.6 (+/- 17.6)
IgG3 (g/L)	0.6 (+/- 0.4)	0.3 (+/- 0.2)	0.4 (+/- 1.5)
IgG4 (g/L)	0.4 (+/- 0.5)	0.2 (+/- 0.3)	0.4 (+/- 2.0)
Linfocitos T CD3+ (%)	74.5 (+/- 10.7)	65.6 (+/- 14.8)	73.7 (+/- 12.0)
Linfocitos T CD3+ (células/μl)	903.2 (+/- 564.3)	580.7 (+/- 483.7)	898.3 (+/- 631.6)
Linfocitos T CD4+ (%)	49.1 (+/- 10.9)	45.9 (+/- 13.7)	49.0 (+/- 12.3)
Linfocitos T CD4+ (células/μl)	615.6 (+/- 352.3)	402.8 (+/- 346.0)	329.0 (+/- 275.3)
Linfocitos T CD8+ (%)	24.6 (+/- 9.4)	19.2 (+/- 10.6)	22.2 (+/- 10.0)
Linfocitos T CD8+ (células/μl)	347.9 (+/- 246.5)	163.2 (+/- 153.7)	274.7 (+/- 215.5)
Linfocitos B (%)	12.1 (+/- 8.3)	24.2 (+/- 15.3)	13.7 (+/- 9.8)
Linfocitos B (#) (células/μl)	152.0 (+/- 130.0)	203.0 (+/- 190.7)	167.6 (+/- 158.4)
Linfocitos NK (%)	10.9 (+/- 9.0)	5.9 (+/- 6.0)	8.8 (+/- 6.3)
Linfocitos NK (células/μl)	134.7 (+/- 118.6)	42.6 (+/- 39.4)	97.2 (+/- 92.7)
Ratio CD4/CD8	2.4 (+/- 1.6)	3.1 (+/- 2.4)	2.6 (+/- 1.8)

Infecciones en el post trasplante.

Entre las variables clínicas analizadas como factores de riesgo para la **infección post trasplante**, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La comparación de las variables descriptivas entre pacientes infectados y no infectados durante el seguimiento se realizó con una prueba de Chi cuadrado y los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 8a. Resultados globales para variables descriptivas, infectados vs no infectados.

	Infectados	No infectados	Valor de p
Edad (> 50 años)	194 (74%)	179 (69.9%)	0.296
Sexo (femenino)	61 (23.4%)	72 (27.6%)	0.280
Uso de Basiliximab	48 (89%)	36 (68%)	0.902
Tabaquismo	108 (42.6%)	99 (42.8%)	0.970
Hipertensión arterial	66 (44.2%)	37 (35.2%)	0.14
Cardiopatía isquémica	69 (26.6%)	87 (33.3%)	0.102
Obesidad	9 (60%)	21 (60%)	0.98
Diabetes Mellitus 2	9 (60%)	10 (58%)	0.946
Dislipemia	70 (61.9%)	105 (66%)	0.488
Rechazo agudo	32 (61.5%)	20 (38.5%)	0.114

En el caso de la infección o reactivación de CMV, se encontró relación con el antecedente de cardiopatía isquémica (p 0.001) y con episodios de rechazo agudo durante el seguimiento (p 0.013). No fue posible recabar el estatus donante/receptor de todos los pacientes trasplantados en el seguimiento y no contamos con información sobre el protocolo de profilaxis CMV de todos los centros en este estudio. Se muestran los resultados descriptivos en la siguiente tabla.

Tabla 8b. Resultados globales para variables descriptivas, infección o reactivación de CMV.

	Infectados	No infectados	Valor de p
Edad (> 50 años)	218 (68.3%)	101 (31.7%)	0.293
Sexo (femenino)	66 (21%)	42 (28.9%)	0.136
Tabaquismo	169 (68.7%)	77 (31.3%)	0.684
Hipertensión arterial	68 (87.2%)	10 (12.8%)	0.083
Cardiopatía isquémica	85 (55.6%)	68 (44.4%)	< 0.001
Obesidad	4 (30.8%)	9 (69.2%)	0.911
Diabetes Mellitus 2	7 (50%)	7 (50%)	0.821
Dislipemia	94 (54%)	80 (46%)	0.638
Rechazo agudo	25 (86.2%)	4 (13.8%)	0.013
Discordancia del estatus CMV Donante / Receptor	3 (50%)	3 (50%)	0.419

Para el análisis de las variables en la analítica sanguínea, se estudiaron valores en tres tiempos de estudio, los cuales se describen a continuación.

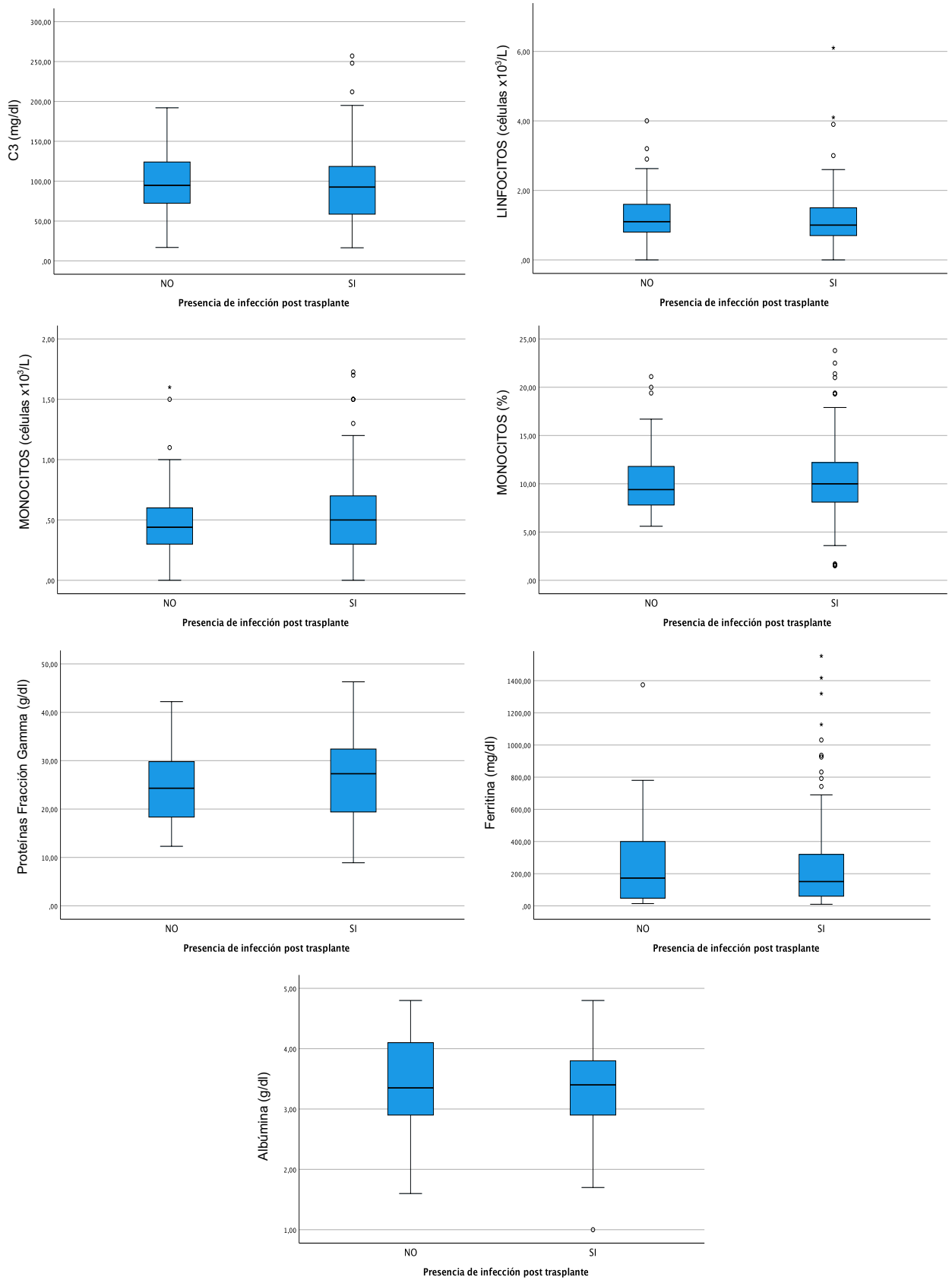
1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

En los pacientes que presentaron eventos de **infección**, en las variables del perfil inmunológico, se encontraron tendencias estadísticas para la disminución de C3 < 80 mg/dl (p 0.080) en el pre-trasplante.

Entre las variables del hemograma, se encontraron como factores de riesgo pretrasplante, la disminución de Linfocitos (#) < $1 \times 10^3/L$ (p 0.043), Monocitos (#) < $0.35 \times 10^3/L$ (p 0.024) y del porcentaje de Monocitos < 7 % (p 0.028); y como tendencia estadística la disminución de valores absolutos de neutrófilos > $2 \times 10^3/L$ (p 0.053).

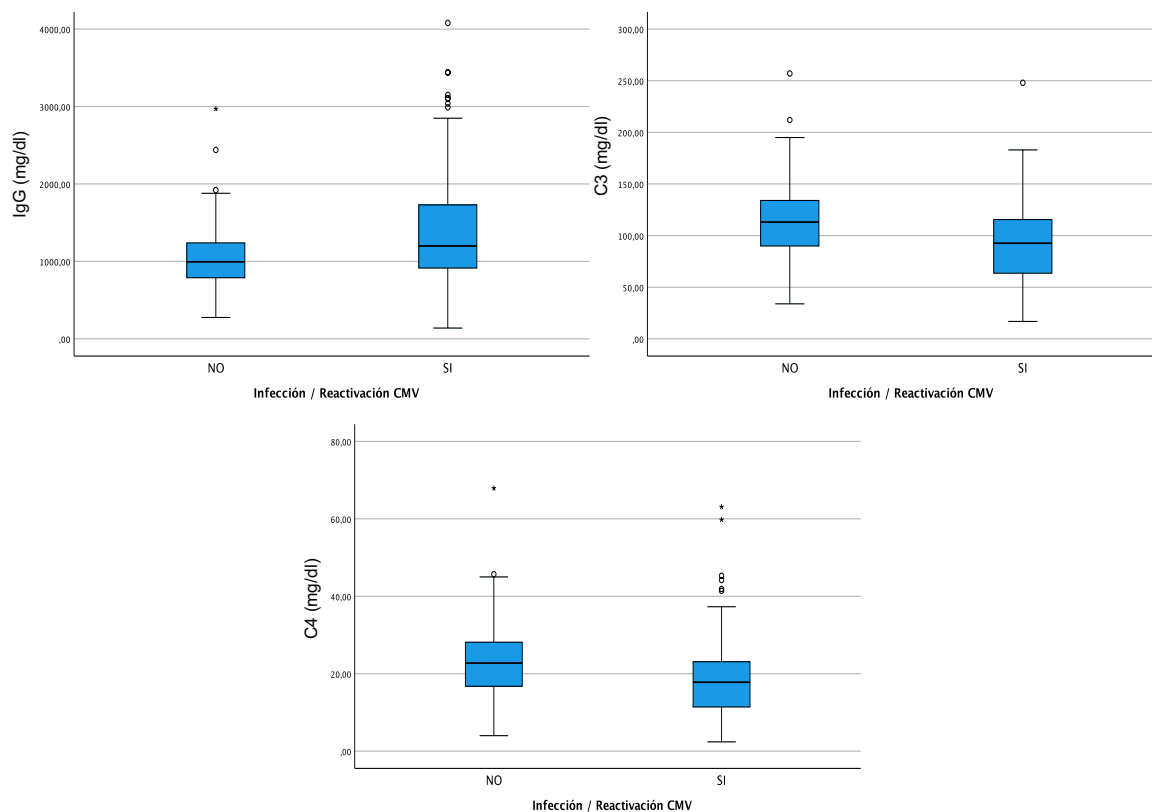
En el perfil bioquímico, se encontró como factor de riesgo, la disminución de las Proteínas Fracción Gamma < 19 g/dl (p 0.001). Como tendencias estadísticas en este grupo se encontraron valores pretrasplante de Ferritina < 300 mg/dl (p 0.083) y Albúmina < 3.5 g/dl (p 0.061).

Figura 1a. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de infección.



En los pacientes con **infección o reactivación del CMV** en el post trasplante, se encontraron como factores de riesgo en el perfil inmunológico valores disminuidos de IgG < 900 mg/dl (p 0.012), de C3 < 80 mg/dl (p 0.001), y de C4 < 20 mg/dl (p 0.001) en la medición pre-trasplante. Además, se encontró como variable con tendencia estadística la disminución de valores de IgG3 < 0.20 g/L (p 0.079).

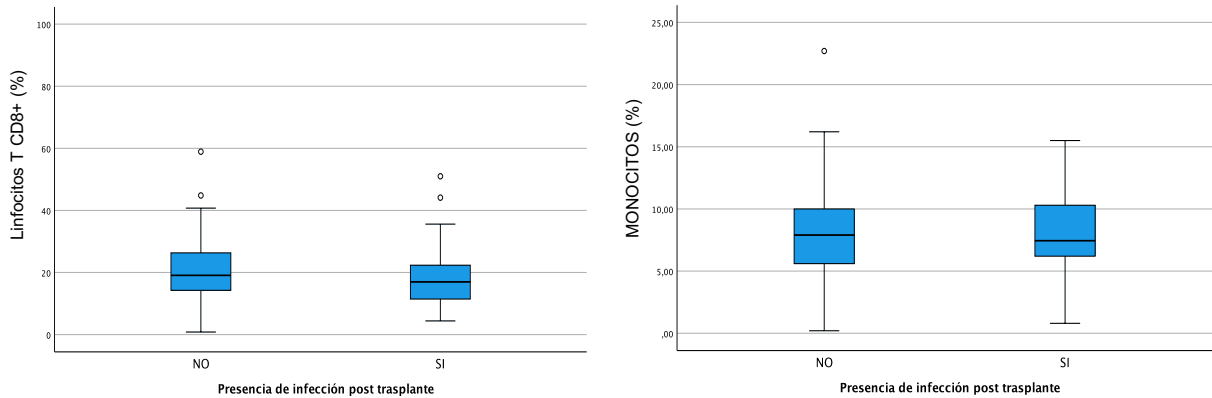
Figura 1b. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación de CMV.



2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días post-trasplante.

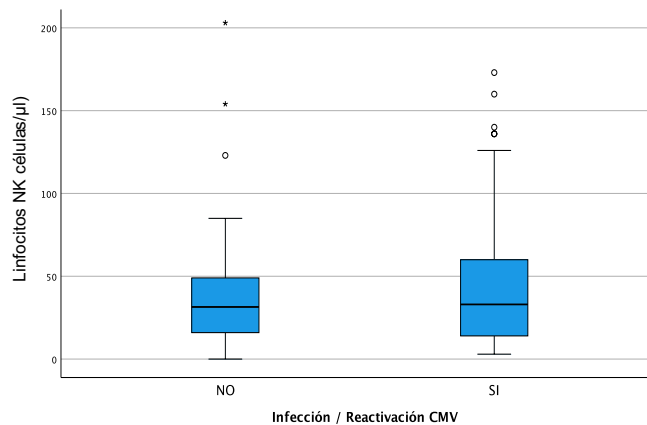
Entre las variables del perfil inmunológico, se encontraron asociaciones significativas entre biomarcador e infecciones durante los 6 meses post-trasplante para la disminución del porcentaje de los linfocitos T CD8+ < 25% (p 0.001) a los 7 días post-trasplante. Además de tendencias estadísticas para disminución de IgG3 < 0.20 g/L (p 0.071) y del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70% (p 0.071). Entre las variables en el hemograma se encontraron como factores de riesgo la disminución del porcentaje de Monocitos (%) < 7 % (p 0.001) a los 7 días post-trasplante.

Figura 1c. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección.



En los pacientes con **infección o reactivación del CMV** en el post trasplante, se encontraron como factores de riesgo en el perfil inmunológico la disminución del número absoluto de linfocitos NK < 50 células/ μ l (p 0.042) a los 7 días post-trasplante.

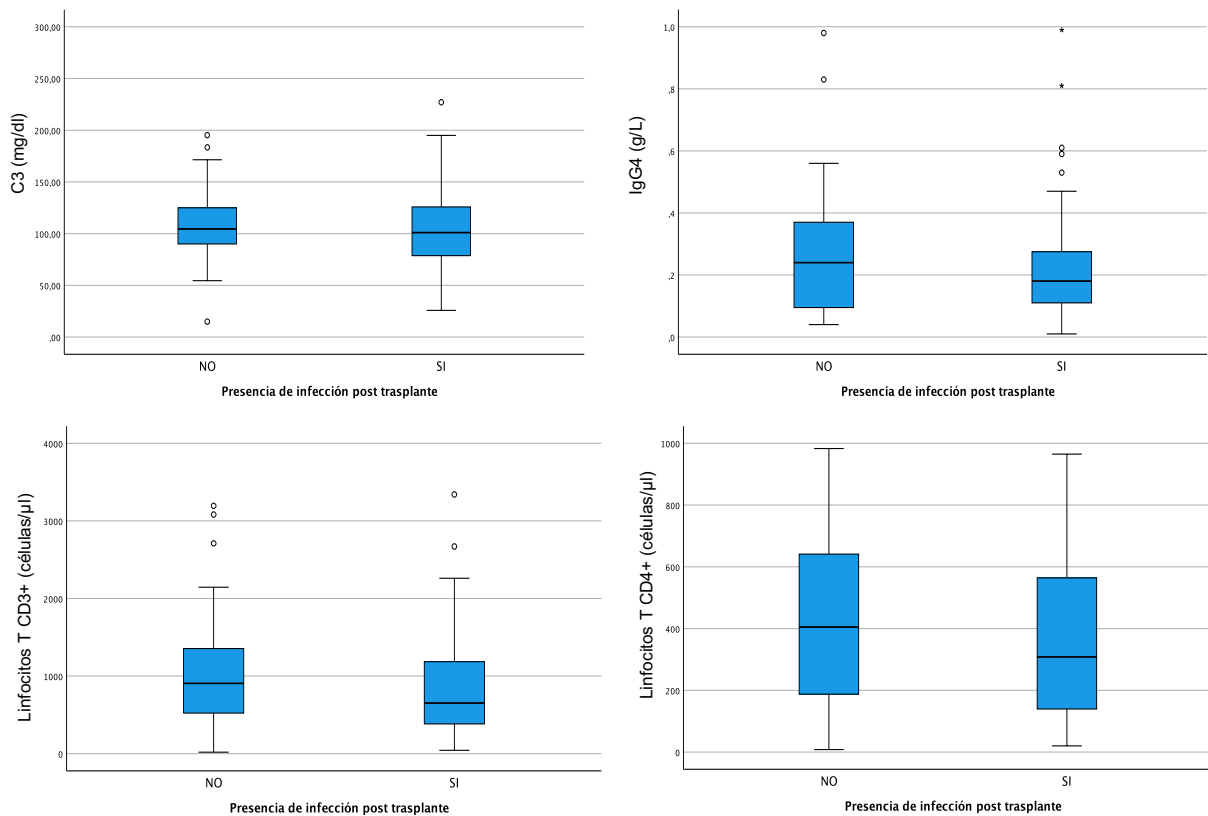
Figura 1d. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación de CMV.



3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días post-trasplante.

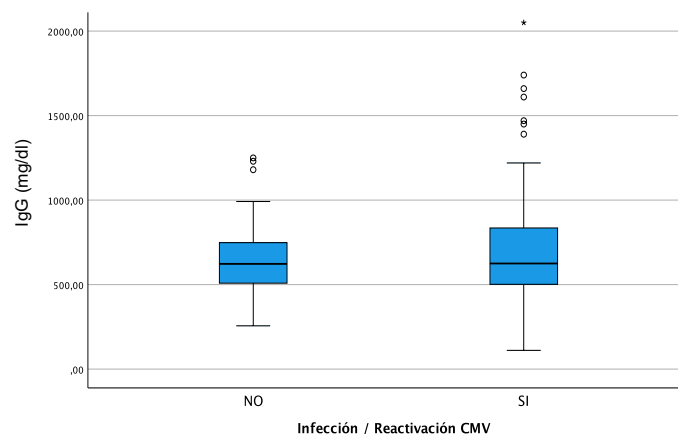
Entre las variables del perfil inmunológico, se encontraron como factores de riesgo, la disminución de valores de C3 < 80 mg/dl (p 0.012), de IgG4 < 0.20 g/L (p 0.023), del número absoluto de linfocitos T CD3+ < 700 células/ μ l (p 0.009), y del número de linfocitos T CD4+ < 400 células/ μ l (p 0.010) a los 30 días post-trasplante. Por otra parte, se encontraron tendencias estadísticas para la disminución de valores de IgM < 60 mg/dl (p 0.074), y de IgG2 < 1.9 g/L (p 0.062), a los 30 días post-trasplante. En el hemograma, se encontró únicamente una tendencia estadística para la disminución del porcentaje de Linfocitos < 20 % (p 0.081).

Figura 1e. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección.



En los pacientes con **infección o reactivación del CMV** en el post trasplante, se encontró como factor de riesgo la disminución de IgG < 900 mg/dl (p 0.006).

Figura 1f. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de infección / reactivación del CMV.

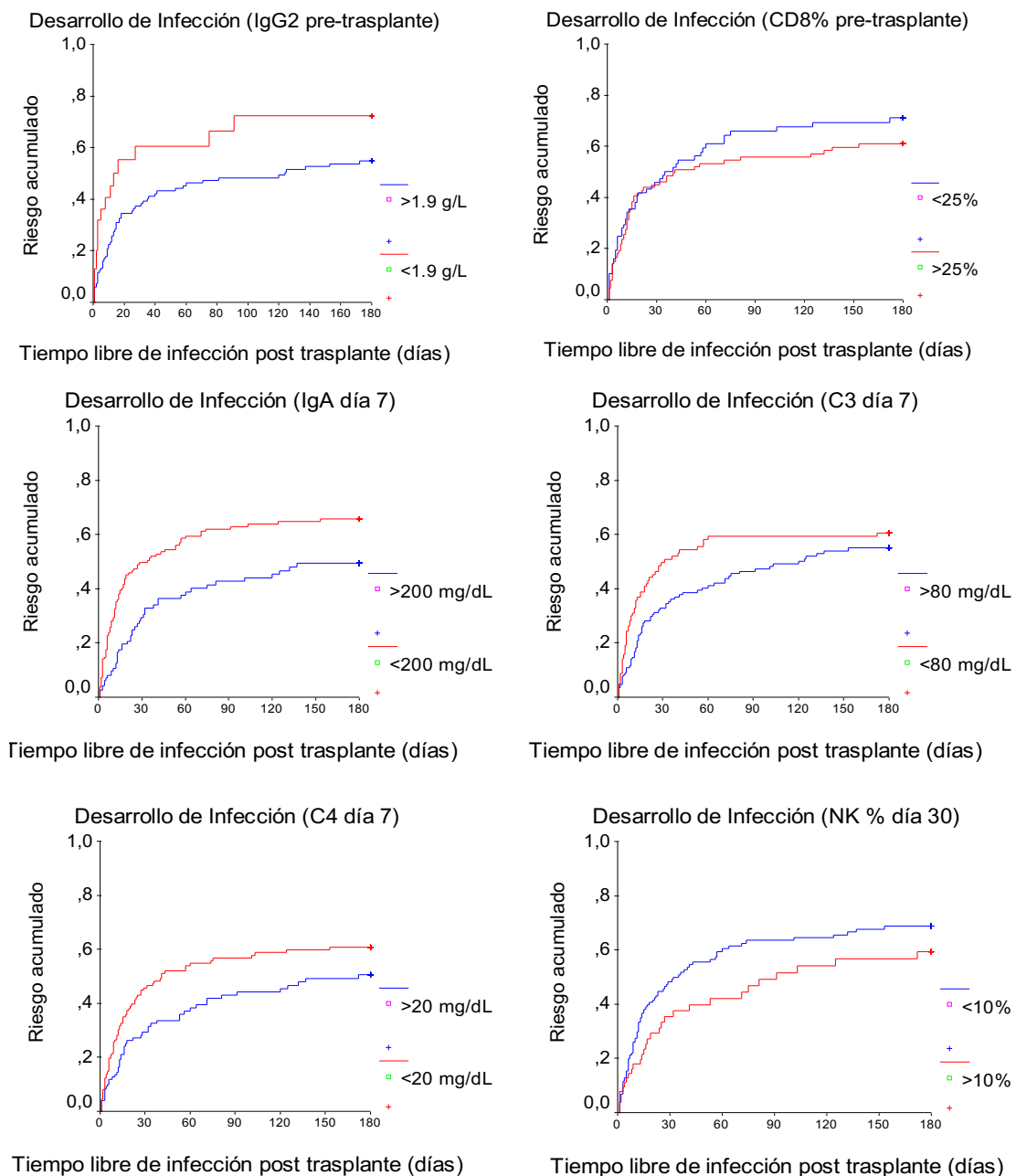


La hipogammaglobulinemia definida como IgG < 600 mg/dl en día 7 o 30 también fue una variable asociada a riesgo de infección (p=0.040). La hipogammaglobulinemia grave definida como IgG < 400 mg/dl en día 7 o 30 no se asoció significativamente a riesgo de infección.

Eventos de infección post trasplante en análisis de Kaplan Meyer

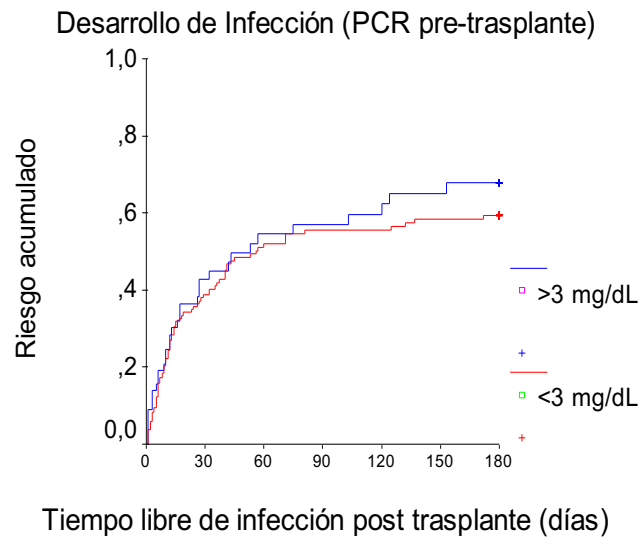
Entre las variables inmunológicas, se encontró mayor riesgo de desarrollo de infección cuando se presentaban valores de IgG2 < 1.9 g/L (Log Rank 1.75, p 0.035) y disminución del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25 % (Log Rank 1.87, p 0.028) pretrasplante. En el seguimiento, se encontró relación con valores de IgA < 200 mg/dl (Log Rank 4.21, p 0.002), C3 < 80 mg/dl (Log Rank 2.43, p 0.028), C4 < 20 mg/dl (Log Rank 1.74, p 0.05) a los 7 días post-trasplante, y disminución del porcentaje de linfocitos NK < 10 % (Log Rank 1.21, p 0.011) a los 30 días post-trasplante.

Figura 2a. Curvas Kaplan-Meyer: Factores inmunológicos asociados a Infección



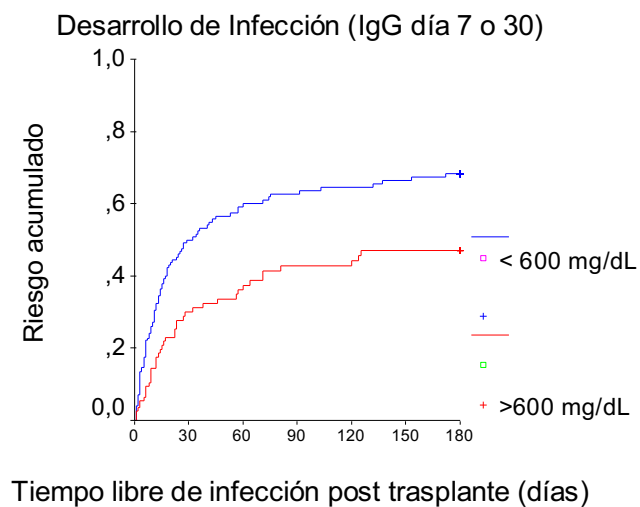
En perfil bioquímico, se encontró relación con mayor riesgo de infección con niveles a los 7 días de PCR > 3 mg/dl (Log Rank 15, p 0.0001).

Figura 2b. Curvas Kaplan-Meyer: Factores bioquímicos asociados a Infección



La hipogammaglobulinemia IgG definida como IgG < 600 mg/dl a día 7 o 30 fue un biomarcador de riesgo de infección (Log Rank 5.22, p=0.022).

Figura 2c. Curvas Kaplan-Meyer: Hipogammaglobulinemia asociada a Infección



Mortalidad en el post trasplante.

Por otra parte, los factores clínicos analizados como de riesgo para **exitus**, se encontraron diferencias significativas para el antecedente de cardiopatía isquémica (p 0.036). Las variables descriptivas para estos pacientes se describen en la siguiente tabla.

Tabla 8c. Resultados globales, variables descriptivas para mortalidad post trasplante.

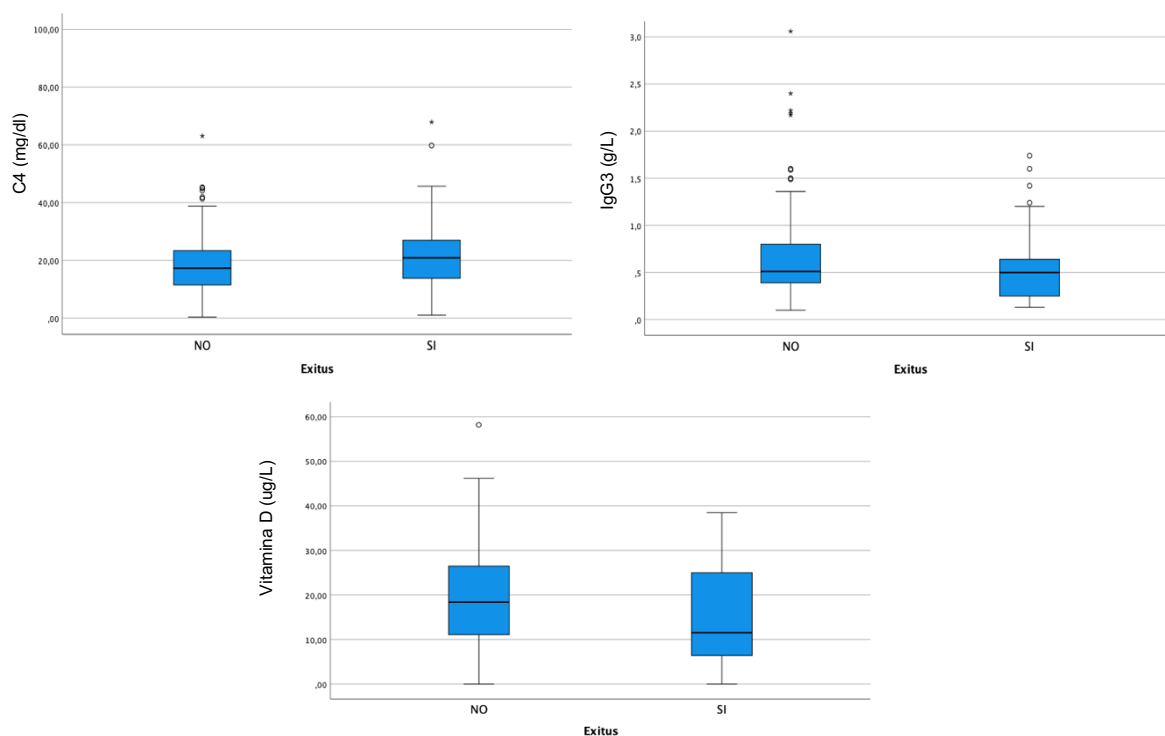
	Exitus	No exitus	Valor de p
Edad (> 50 años)	101 (72%)	270 (72%)	0.974
Sexo (femenino)	36 (26%)	94 (24.8%)	0.76
Uso de Basiliximab	9 (33%)	61 (49.5%)	0.125
Tabaquismo	74 (57%)	202 (57.2%)	0.98
Hipertensión arterial	16 (34%)	82 (41%)	0.38
Cardiopatía isquémica	51 (37.2%)	105 (27.6%)	0.036
Obesidad	6 (85%)	23 (64%)	0.260
Diabetes Mellitus 2	5 (71%)	9 (50%)	0.33
Dislipemia	42 (60%)	132 (62.8%)	0.394
Rechazo agudo	9 (18%)	41 (82%)	0.132
Infección post-trasplante	72 (50.7%)	188 (48.8%)	0.703
Infección/ Reactivación CMV	63 (20.9%)	239 (79.1%)	< 0.001

En el caso de los eventos de exitus, se estudiaron también valores inmunológicos, bioquímicos y del hemograma en los tres tiempos de estudio, los cuales se describen a continuación.

1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

Entre las variables del perfil inmunológico, se encontraron asociaciones significativas con eventos de exitus con los valores disminuidos de C4 < 20 mg/dl (p 0.005), e IgG3 < 0.20 g/L (p 0.035) pretrasplante. Además, se encontró una tendencia estadística para la disminución de valores absolutos de linfocitos T CD8+ < 600 células/ μ l (p 0.055). En las variables bioquímicas, se encontraron significativos valores de Vitamina D < 15 ug/L (p 0.023) en la medición pretrasplante.

Figura 3a. Factores pretrasplante relacionados al riesgo de exitus.



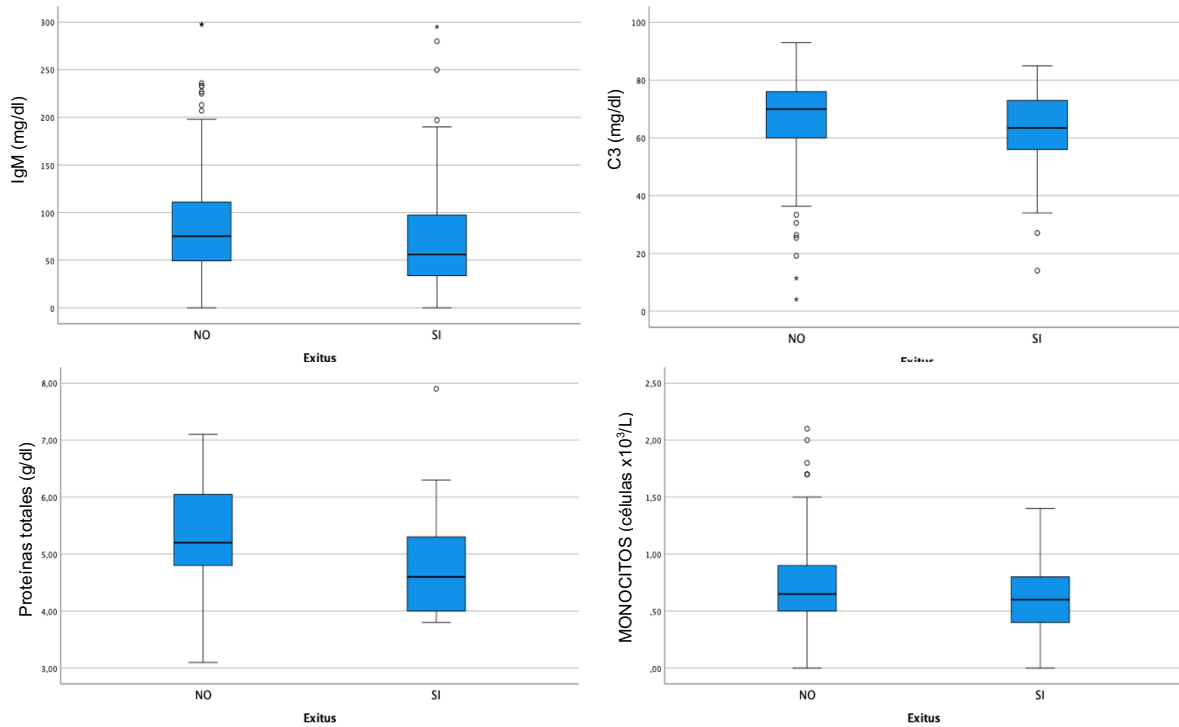
2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días post-trasplante.

En las variables del perfil inmunológico, se encontraron como factor de riesgo, la disminución de valores de IgM < 60 mg/dl (p 0.002), y del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70 % (p 0.035) y una tendencia estadística para la disminución de valores de C3 < 80 mg/dl (p 0.060) a los 7 días post-trasplante.

En el perfil bioquímico, se encontró relación significativa para el riesgo de infección con valores de Proteínas totales < 5 g/dl (p 0.020) a los 7 días post-trasplante.

En las variables del hemograma, se encontró significativo la disminución del número absoluto de Monocitos (#) < $0.35 \times 10^3/L$ (p 0.006) a los 7 días post-trasplante.

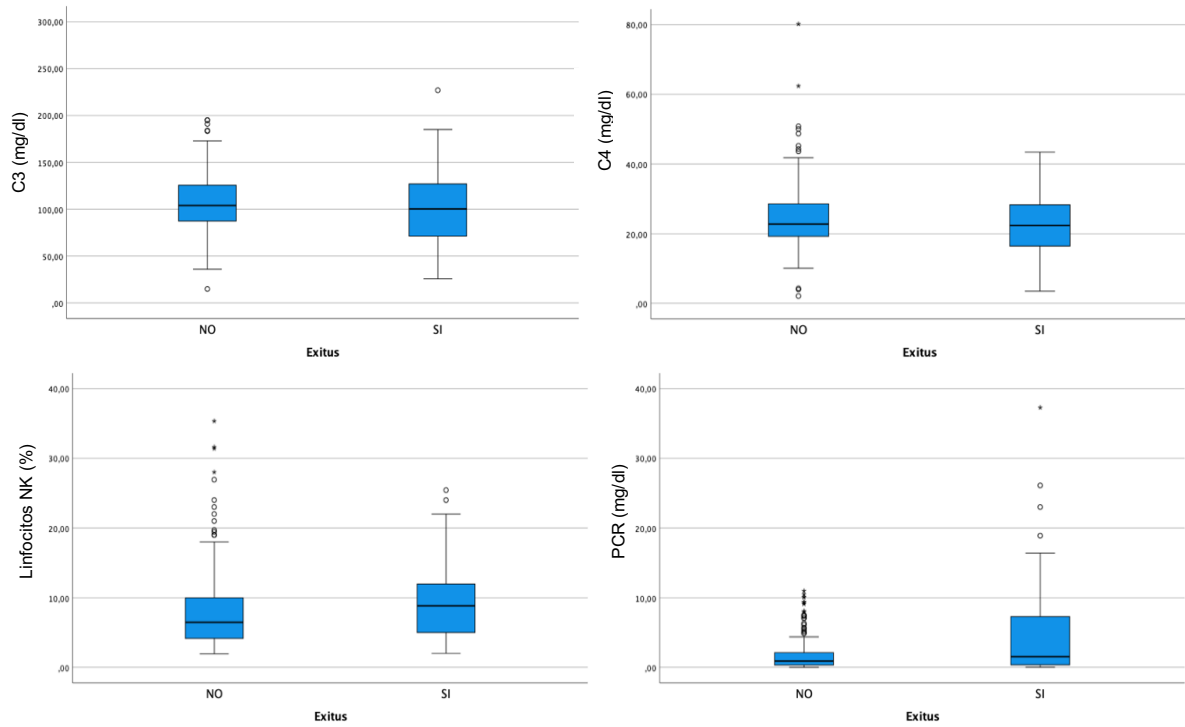
Figura 3b. Factores a los 7 días post-trasplante relacionados al riesgo de exitus.



3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días post-trasplante.

Entre las variables del perfil inmunológico, se encontró como factor de riesgo la disminución de valores de C3 < 80 mg/dl (p 0.006), C4 < 20 mg/dl (p 0.008), porcentaje de linfocitos NK < 10 % (p 0.016) a los 30 días post-trasplante. Entre las variables bioquímicas, se encontró como factor de riesgo para infección, valores a los 30 días de PCR > 3 mg/dl (p 0.012). En el hemograma, se encontró únicamente como tendencia estadística valores disminuidos del número absoluto de Linfocitos < 1 x10³/L (p 0.054) a los 30 días post-trasplante.

Figura 3c. Factores a los 30 días post-trasplante relacionados al riesgo de exitus.

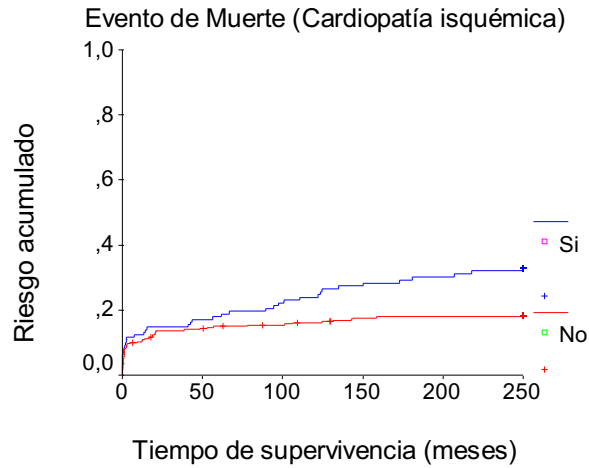


La hipogammaglobulinemia IgG definida como IgG < 600 mg/dl a día 7 o 30 fue un biomarcador de riesgo de muerte ($p=0.045$).

Supervivencia en el post trasplante.

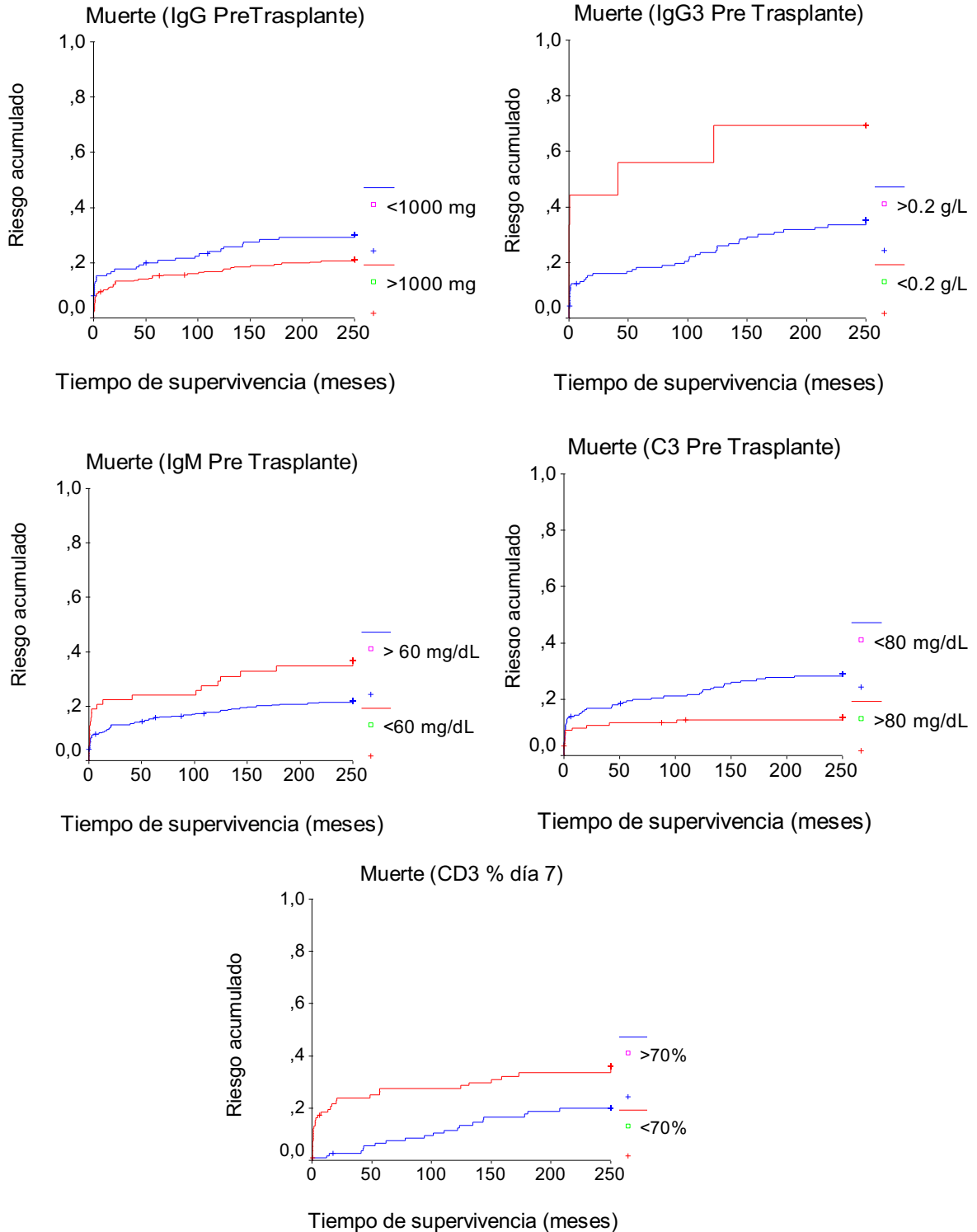
Se analizaron también las variables como factores de riesgo para exitus, encontrando relación únicamente con el antecedente de cardiopatía isquémica (Log Rank 7.61, p 0.043).

Figura 4a. Curvas Kaplan-Meier: Factores clínicos asociados a exitus



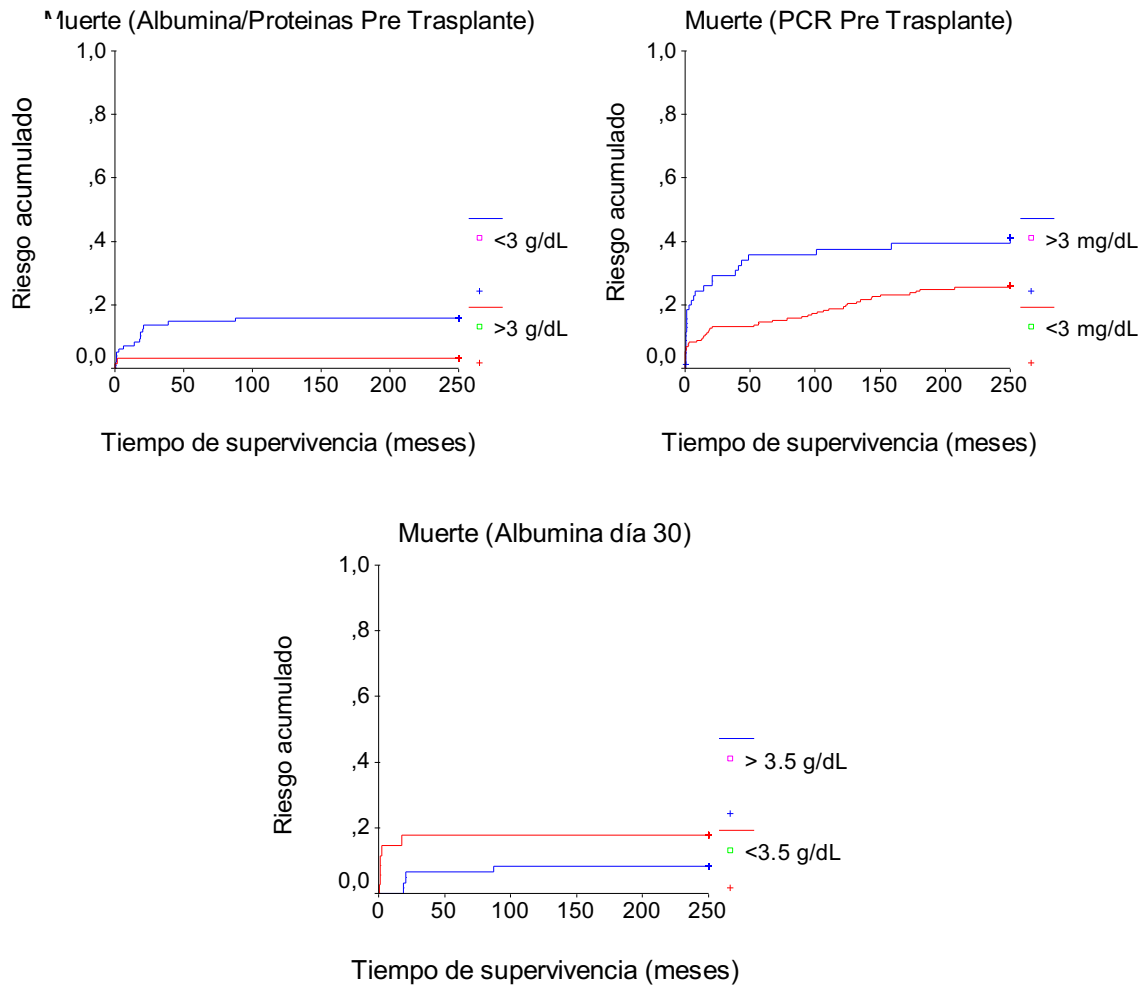
Entre las variables inmunológicas, el desarrollo de exitus se relacionó con valores pretrasplante de IgG < 900 mg/dl (Log Rank 3.21, p 0.05), y de IgG3 < 0.20 g/L (Log Rank 4.30, p 0.024); a los 7 días valores de IgM < 60 mg/dl (Log Rank 4.76, p 0.023), C3 < 80 mg/dl (Log Rank 6.46, p 0.000), y disminución del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70% (Log Rank 5.65, p 0.002); y a los 30 días disminución del número absoluto de linfocitos T CD3+ < 700 células/ μ l (Log Rank 3.19, p 0.022).

Figura 4b. Curvas Kaplan-Meier: Factores inmunológicos asociados a exitus.



En las variables bioquímicas asociadas con riesgo de muerte, se observaron valores pretrasplante Ratio Alb/Prot < 3 (Log Rank 5.5, p 0.047), PCR > 3 mg/dl (Log Rank 4.38, p 0.016); y a los 30 días Albúmina < 3.5 g/dl (Log Rank 1.93, p 0.001).

Figura 4c. Curvas Kaplan-Meier: Factores bioquímicos asociados a exitus



La hipogammaglobulinemia IgG definida como IgG < 600 mg/dl a día 7 o 30 fue un biomarcador de riesgo de muerte (Log Rank 5.75, $p=0.017$).

Resultados por tipo de trasplante

Estudio 1. Multicéntrico de trasplante de órgano sólido.

Trasplante renal.

Debido a la crisis sanitaria de la COVID-19, los centros hospitalarios en el extranjero suspendieron su actividad de trasplante renal. En España se realizó seguimiento a 8 pacientes durante el 2020. Las indicaciones para el trasplante se detallan en la tabla 7c. Como se ha comentado antes, de estos pacientes el 50% presentó infección post trasplante durante el tiempo de seguimiento y no se documentó ningún evento de exitus. El tiempo libre de infección post trasplante fue de una media de 30.2 días (DE +/- 15.1).

Debido al reducido tamaño muestral y a la existencia del estudio multicéntrico internacional de trasplante renal que se muestra en apartado posterior no se realizó análisis de asociación con variables clínicas de resultado en este apartado de la tesis para esta parte de trasplante renal.

Tabla 9. Indicación del trasplante renal

Glomerulonefritis Proliferativa	2 (40 %)
Glomerulonefritis Pos infecciosa	1 (20 %)
Nefropatía Diabética	1 (20 %)
Enfermedad Poliquística	1 (20 %)
TOTAL	5 (100 %)

Trasplante hepático

El seguimiento de este grupo también se vio afectado por la crisis sanitaria de la COVID-19, ya que algunos centros hospitalarios suspendieron sus actividades de trasplante. Se siguieron a 222 pacientes, el 90% en España con 198 casos y el 10% en Perú 10% con 24 casos. Se presentó infección post trasplante en 150 (67%) pacientes, infección o reactivación por CMV en 145 (65%) y exitus en 27 (12%) casos.

El tiempo libre de infección post trasplante en estos pacientes fue de 70 días (DE +/- 231). El tiempo medio de supervivencia fue de 1000 días (DE +/- 1290). Las indicaciones para el trasplante se muestran en la tabla 8.

Tabla 10. Indicación del trasplante hepático por centro hospitalario.

	España	Perú	TOTAL
Cirrosis por consumo de OH	59 (29.8 %)	3 (12.5 %)	62 (27.9 %)
Cirrosis por infección por VHC	42 (21.2 %)	1 (4.2 %)	43 (19.3 %)
Cirrosis por infección por VHB	17 (8.6 %)	-	17 (7.6 %)
Cirrosis por NASH	11 (5.6 %)	11 (45.8 %)	22 (9.9 %)
Hepatopatía autoinmune	7 (3.5 %)	-	7 (3.1 %)
Hepatitis aguda fulminante	12 (6.1 %)	-	12 (5.4 %)
Cirrosis mixta (VHC y OH)	26 (13.1 %)	-	26 (11.7 %)
Cirrosis criptogénica	7 (3.5 %)	-	7 (3.1 %)
Otros	17 (8.6 %)	9 (37.5 %)	28 (12.6 %)
TOTAL	198 (100 %)	24 (100%)	222 (100%)

Infección post-trasplante hepático.

1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

En el grupo total de pacientes con trasplante hepático, se analizaron las variables relacionadas con **infección global post trasplante**. En el perfil inmunológico se encontraron diferencias para valores pretrasplante de Linfocitos B (#) < 150 células/ μ l (p 0.020); En el hemograma, se encontró relación con valores pretrasplante del porcentaje de Monocitos < 7 % (p 0.014).

En los casos de **infección o reactivación de CMV**, en el perfil inmunológico se encontraron diferencias para valores disminuidos pretrasplante de Linfocitos B (#) < 150

células/ μ l (p 0.001). Por otro lado, se encontraron en el hemograma relación con valores pretrasplante de Linfocitos (%) < 20 % (p 0.010).

2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días.

En las variables relacionadas con **infección global post trasplante**, se encontraron como factores de riesgo en el perfil inmunológico a los 7 días del seguimiento, la disminución del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70 % (p 0.008).

En los pacientes que presentaron **infección o reactivación de CMV**, a los 7 días de IgM < 60 mg/dl (p 0.025); y en el perfil bioquímico valores de Ratio Albúmina/Proteína < 2 (p 0.05) a los 7 días post-trasplante.

3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días.

En las variables de **infección global**, se encontró únicamente como factor de riesgo la disminución a los 30 días de valores de IgA < 200 mg/dl (p 0.029).

Mortalidad post-trasplante hepático.

Por otra parte, se analizaron también las variables relacionadas con un mayor número de **exitus** reportados en el seguimiento. Entre las variables clínicas, se encontró asociación con la dislipemia (p 0.031) y la infección o reactivación por CMV (p 0.05), aunque cabe mencionar que el uso de Basiliximab se relacionó con un menor número de exitus con una tendencia estadística (p 0.088) que podría estudiarse en estudios posteriores.

1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

Entre las variables bioquímicas que se relacionaron con exitus, se encontró únicamente como factor de riesgo un valor de Vitamina D pretrasplante < 15 ug/L (p 0.042).

2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días.

En el perfil inmunológico, se observaron tendencias con variables como C4 < 19 mg/dl (p 0.056) a los 7 días post trasplante. En las variables bioquímicas, se observó relación con una ratio albúmina/proteína < 1.4 a los 7 días (p 0.010). En estos pacientes también se observaron tendencias para valores de proteínas totales < 5 g/dl a los 7 días

post trasplante (p 0.76); y en el hemograma para valores de Hematocrito > 22% a los 7 días post trasplante (p 0.069).

3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días.

En las variables del perfil inmunológico que se asociaron a exitus, las estadísticamente significativas fueron la disminución del número absoluto de linfocitos NK < 49 células/ μ l (p 0.038), y del porcentaje < 7 % (p 0.001) y del número absoluto < 0.35×10^3 /L (p 0.008) de Monocitos a los 30 días post-trasplante. Además, se encontraron tendencias estadísticas con la disminución del número absoluto de linfocitos T CD3+ < 700 células/ μ l (p 0.063), del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25% (p 0.088), y una ratio CD4/CD8 > 2 (p 0.067) a los 30 días post trasplante.

Entre las variables del perfil bioquímico, se encontraron como factores de riesgo los valores de proteínas totales < 4.9 g/dl, PCR > 3 mg/dl (p 0.006) y una ratio albúmina/proteína < 2 (p 0.034) a los 30 días post trasplante. En el hemograma se encontró relación con valores disminuidos de Plaquetas > 51×10^3 /L (p 0.002) a los 30 días post trasplante.

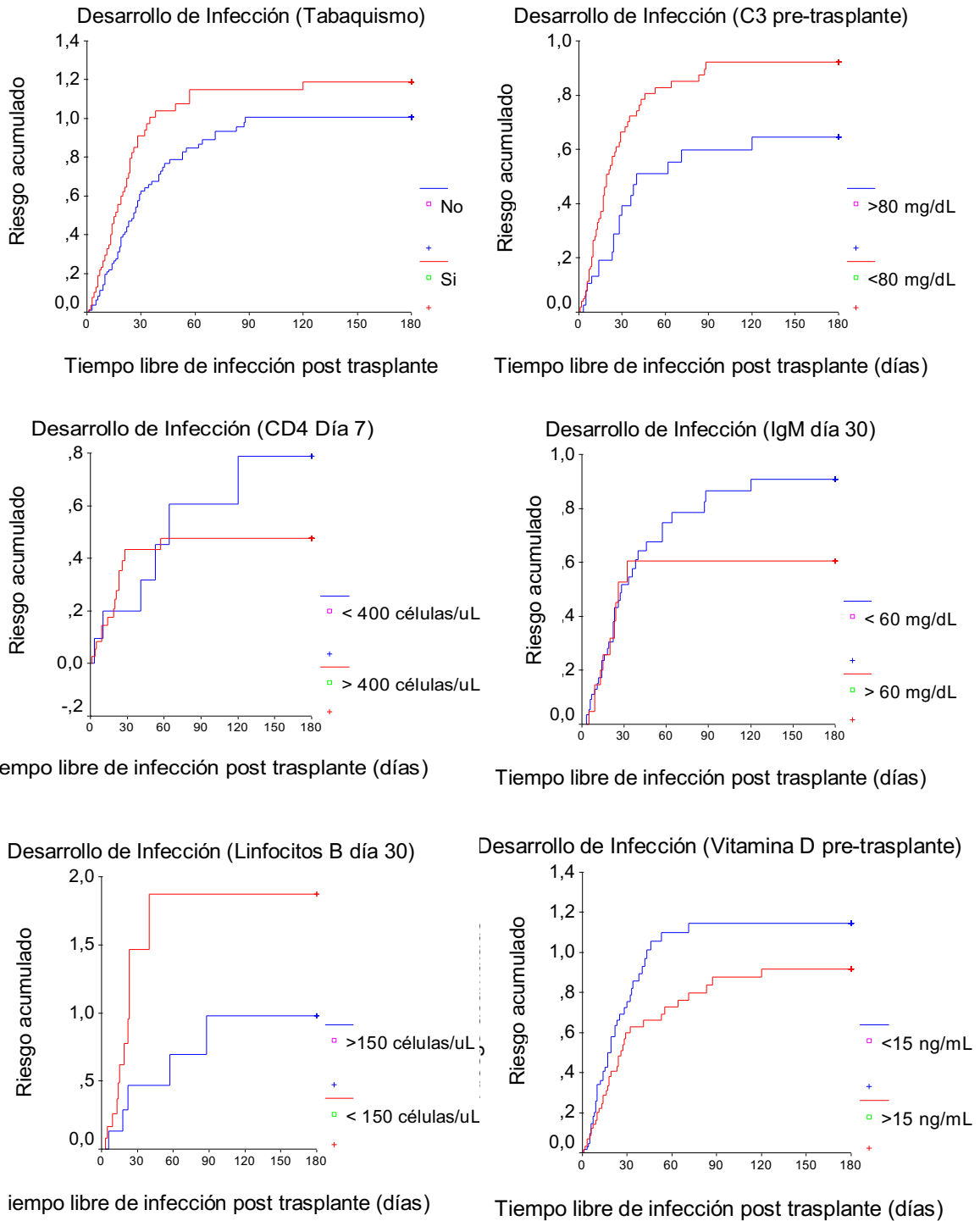
Análisis de supervivencia, Kaplan Meyer.

En el trasplante hepático, se analizaron por separado las variables relacionadas con infección. Se encontró relación con factores clínicos como Tabaquismo (p 0.011).

Entre las variables inmunológicas se encontró relación con valores pretrasplante de C3 < 80 mg/dl (Log Rank 2.63, p 0.006); a los 7 días con disminución del número absoluto de linfocitos T CD4+ < 400 células/ μ l (Log Rank 1.95, p 0.015); y a los 30 días de valores de IgM < 60 mg/dl (Log Rank 1.78, p 0.05), disminución del número absoluto de Linfocitos B < 150 células/ μ l (Log Rank 2.2, p 0.05).

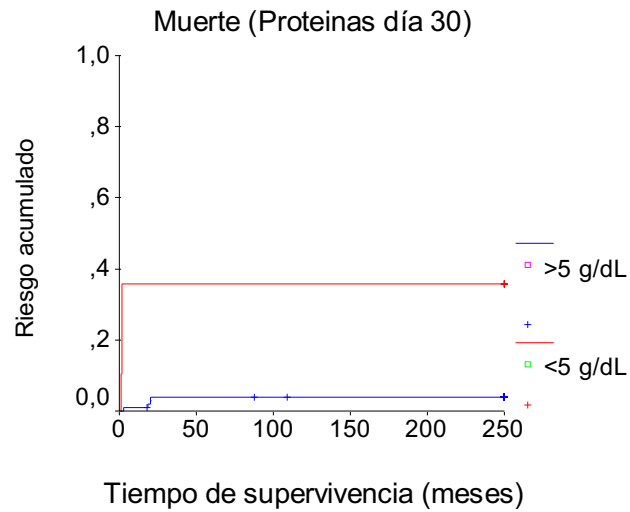
Entre las variables bioquímicas, se encontraron diferencias con valores pretrasplante de Vitamina D < 15 ug/L (Log Rank 1.65, p 0.030).

Figura 5. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante hepático. Factores asociados a infección.



Se analizaron también las variables asociadas con la supervivencia durante el seguimiento. Se encontró asociación estadísticamente significativa con exitus para valores de proteínas totales < 5 g/dl (Log Rank 13.52, p 0.004) a los 30 días post trasplante. (Figura 6).

Figura 6. Curvas de Kaplan-Meyer. Trasplante hepático. Factores asociados a Exitus.



Trasplante cardíaco

Se incluyeron en el seguimiento a 308 pacientes con trasplante cardíaco, las indicaciones para el procedimiento se detallan en la tabla 9.

En estos pacientes se presentó infección en 144 (46%) pacientes, infección o reactivación por CMV en 157 (51%) y exitus en 103 (33%) casos. El tiempo libre de infección post trasplante cardíaco 12 días (DE +/- 684). El tiempo de supervivencia fue de 1452 días (DE +/- 6573).

Tabla 11. Indicación del trasplante cardíaco

Genética/Congénita	42 (13.6 %)
Miocardiopatía Dilatada	102 (33.1 %)
Cardiopatía Isquémica	105 (34.1 %)
Insuficiencia Cardíaca	22 (7.1 %)
Inflamatoria/I idiopática	25 (8.1 %)
Otros	12 (3.9 %)
TOTAL	308 (100 %)

Infección post-trasplante hepático.

Se analizaron las variables relacionadas con **infección global post trasplante**. Entre las variables clínicas únicamente se encontró una tendencia estadística con pacientes con obesidad (p 0.067).

1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

En este tipo de trasplante, no se encontraron factores de riesgo en los perfiles realizados para infección que hayan demostrado una relación estadísticamente significativa.

2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días.

En el perfil inmunológico destacamos como factores asociados a **infección global** los datos de inmunidad celular a los 7 días con valores de IgM < 60 mg/dl (p 0.035), disminución del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25 % (p 0.001), y de la ratio CD4/CD8 > 2 (p 0.003).

3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días.

En el perfil inmunológico, se encontró como factor de riesgo para **infección global** a los 30 días valores de IgM < 60 mg/dl (p 0.012), C3 < 80 mg/dl (p 0.025), IgG2 < 1.9 g/L (p 0.013), disminución del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70 % (p 0.048), del número absoluto de linfocitos T CD3+ < 700 células/ μ l (p 0.006), del número absoluto de linfocitos T CD4+ < 400 células/ μ l (p 0.013), del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25 % (p 0.012), del número absoluto de linfocitos T CD8+ < 600 células/ μ l (p 0.004), y del ratio CD4/CD8 > 2 (p 0.041). Entre las variables bioquímicas, se encontró relación con disminución de los valores de Linfocitos (%) < 20 % (p 0.007) a los 30 días.

En los pacientes con **infección o reactivación por CMV**, se encontró relación únicamente con disminución del porcentaje de Linfocitos B (%) < 15 % (p 0.043) a los 30 días.

Mortalidad post-trasplante hepático.

Entre las variables relacionadas con exitus, no se encontraron variables clínicas que se asociaran significativamente.

1) Efecto de los parámetros evaluados pre-trasplante.

En el pretrasplante, se encontró como variable con tendencia estadística relacionada con la mortalidad, la disminución del porcentaje de Linfocitos < 2 % (p 0.070) pretrasplante.

2) Efecto de los parámetros evaluados a los 7 días.

En el perfil inmunológico, se relacionó la mortalidad con disminución del porcentaje < 10 % (p 0.034) y número absoluto de linfocitos NK < 50 células/ μ l (p 0.026) a los 7 días post trasplante. Además, se encontró tendencia estadística con la disminución del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70 % (p 0.077) a los 7 días post-trasplante.

Entre las variables bioquímicas, se encontró asociación significativa únicamente con valores de PCR > 3 (p 0.026) a los 7 días post trasplante.

Otras variables presentaron tendencias sin llegar a ser significativas como valores de Hematíes $< 2.4 \times 10^9/L$ (p 0.053) y Plaquetas $< 150 \times 10^3/L$ (p 0.076) a los 7 días post trasplante.

3) Efecto de los parámetros evaluados a los 30 días.

Entre las variables del perfil inmunológico, entre las variables asociadas con mortalidad, se encontraron valores de C3 < 80 mg/dl (p 0.022), disminución del número absoluto de linfocitos T CD8+ < 600 células/ μ l (p 0.013), y disminución del porcentaje de linfocitos NK < 10 % (p 0.003).

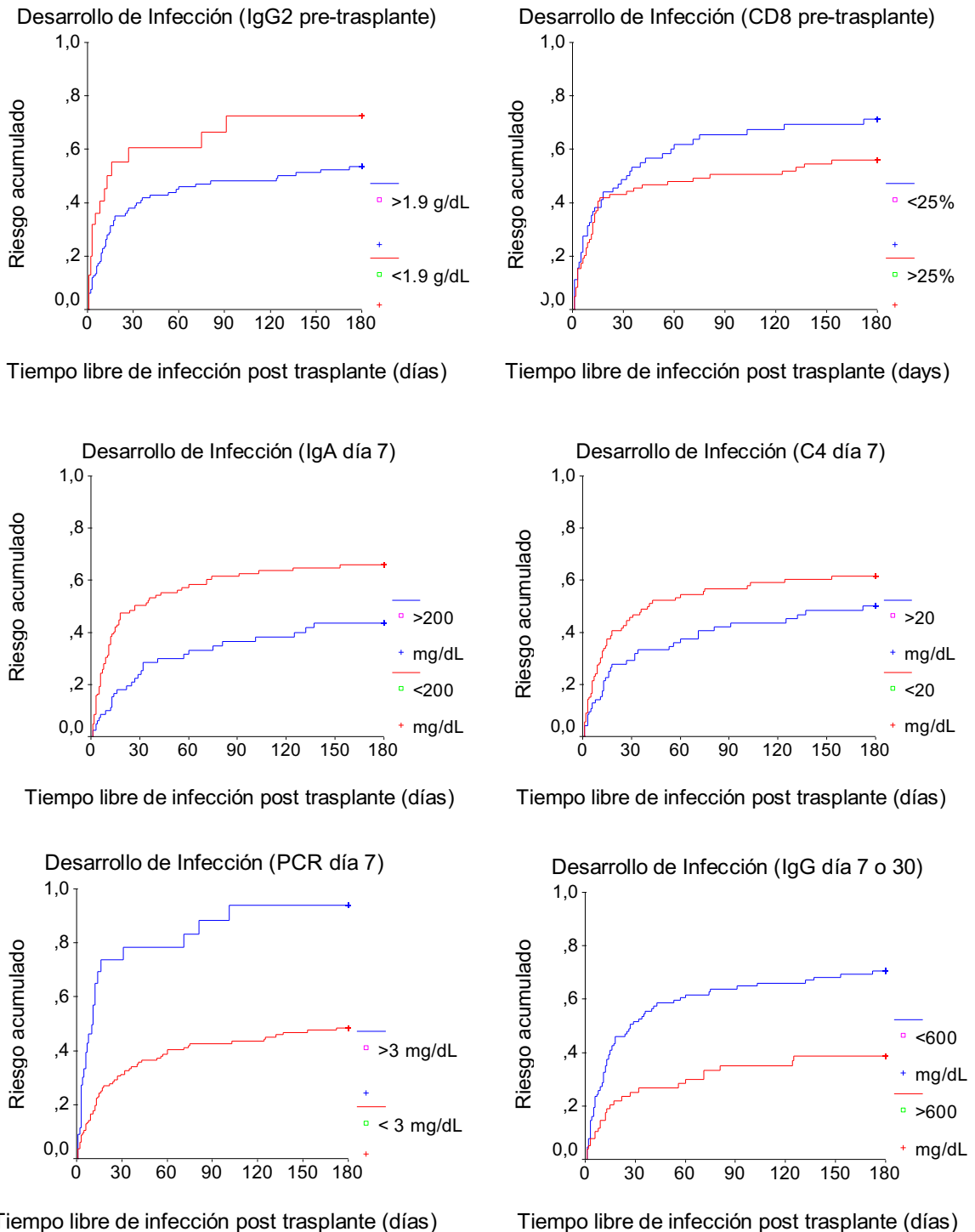
En el hemograma, se encontró relación estadísticamente significativa, la disminución del valor absoluto de Neutrófilos $< 2 \times 10^3/L$ (p 0.003), disminución del porcentaje de Monocitos < 7 % (p 0.050) y Plaquetas < 150 mil (p 0.018) a los 30 días post trasplante.

Análisis de supervivencia, Kaplan Meyer

Entre las variables inmunológicas analizadas para **riesgo de infección**, se encontraron valores pretrasplante de IgG2 < 1.9 g/dl (Log Rank 1.90, p 0.042), disminución del porcentaje de linfocitos T CD8+ < 25 % (Log Rank 1.36, p 0.024); y a los 7 días con valores de IgA < 200 mg/dl (Log Rank 5.40, p 0.005), C3 < 80 mg/dl (Log Rank 3.47, p 0.020), y C4 < 20 mg/dl (Log Rank 1.67, p 0.05).

En las variables bioquímicas únicamente se encontraron diferencias significativas con valores a los 7 días de PCR > 3 mg/dl (Log Rank 11.86, p 0.004) (Figura 7). Se confirma además que la hipogammaglobulinemia definida como IgG < 600 mg/dl en días 7 o 30 como factor de riesgo de infección (Log Rank 7.88, p=0.004).

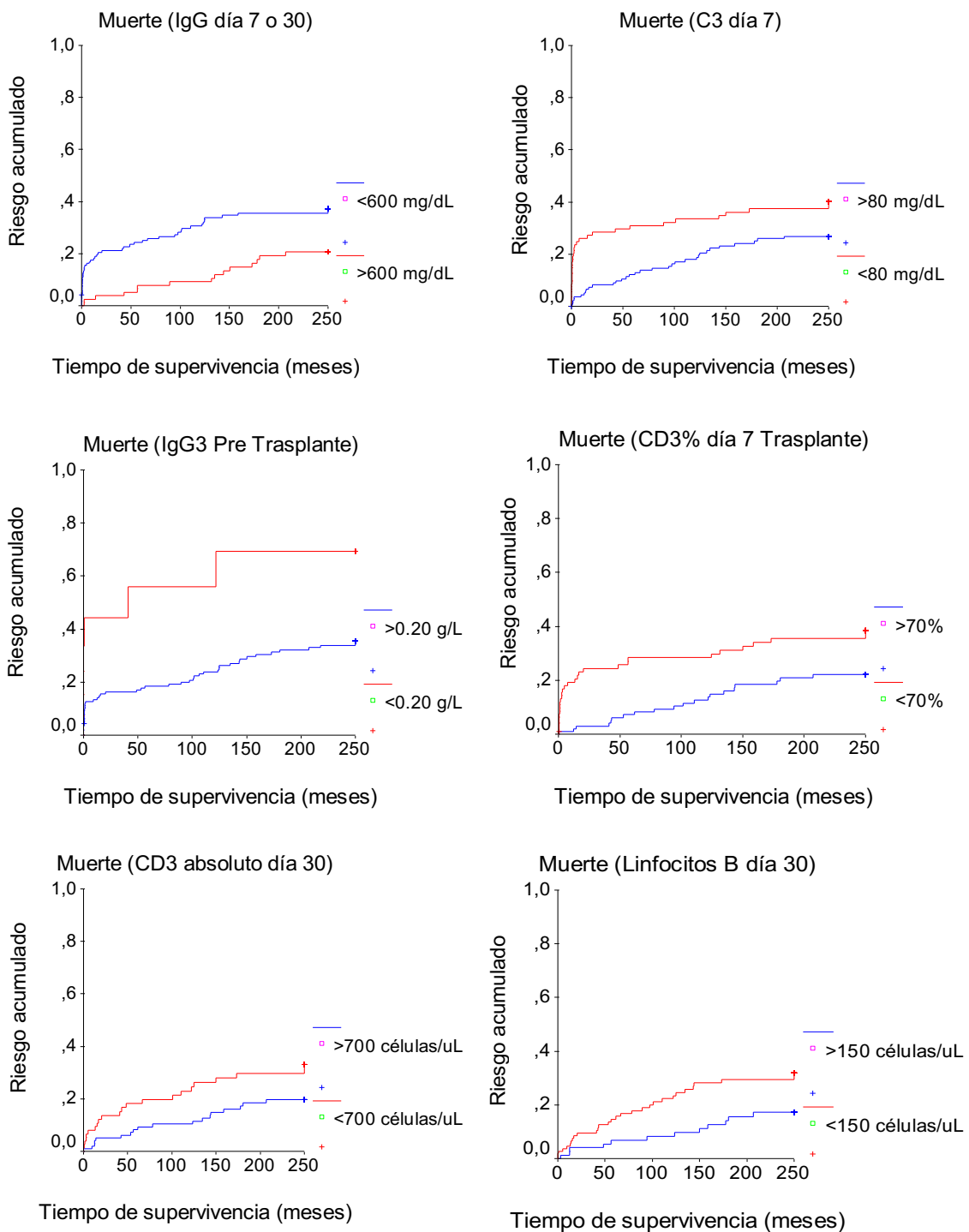
Figura 7. Curvas de Kaplan-Meier. Trasplante cardíaco. Factores asociados a Infección.



En este grupo se analizaron también las variables relacionadas con los eventos de **exitus** durante el seguimiento. Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas en el perfil inmunológico con valores pretrasplante de IgG3 pretrasplante < 0.20 g/L (Log Rank 4.19, p 0.023); a los 7 días de C3 < 80 mg/dl (Log Rank 4.06, p 0.011), disminución del porcentaje de linfocitos T CD3+ < 70 (Log Rank 4.75, p 0.005)

y del número absoluto de linfocitos T CD3+ < 700 células/μl a los 30 días (Log Rank 3.01, p 0.013); y a los 30 días con disminución del número de linfocitos B < 150 células/uL (Log Rank 3.59, p 0.023). La hipogammaglobulinemia IgG < 600 mg/dl definido como IgG < 600 mg/dl a día 7 o 30 fue un factor de riesgo de muerte (Log Rank 5.08, p 0.0242).

Figura 8. Curvas de Kaplan-Meier. Trasplante cardíaco. Factores inmunológicos asociados a exitus.



Regresión logística en estudio de trasplante de órgano sólido

Los resultados globales para factores relacionados con infección post trasplante se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12a. Regresión logística para factores de riesgo para infección post trasplante.

	Valor de p	IC 95%	Impacto (OR)
<i>Infecciones en el post trasplante</i>			
<i>Variables Clínicas</i>			
Edad > 50	0.296	0.836 – 1.802	1.227
Sexo (femenino)	0.280	0.837 – 1.845	1.243
Uso de Basiliximab	0.960	0.510 – 1.809	0.961
Tabaquismo	0.970	0.702 – 1.444	1.007
Hipertensión Arterial	0.148	0.874 – 2.445	1.461
Cardiopatía Isquémica	0.102	0.501 – 1.065	0.730
Obesidad	1.000	0.291 – 3.437	1.000
Diabetes Mellitus tipo 2	0.946	0.255 – 4.319	1.050
Dislipemia	0.837	0.507 – 1.383	0.837
<i>Pretrasplante</i>			
C4 < 20 mg/dL	0.185	0.875 – 1.995	1.321
Fracción Gamma < 19 %	0.039	1.045 - 5.180	2.326
Monocitos < 7 %	0.023	1.090 - 3.250	1.882
<i>7 días post trasplante</i>			
Linfocitos T CD8+ (%) < 25%	0.005	1.335 – 4.867	2.549
Linfocitos T CD3+ (#) < 700 células/uL	0.092	0.931 – 2.600	1.556
<i>30 días post trasplante</i>			
C3 < 60 mg/dL	0.017	1.148 – 3.989	2.140
C4 < 20 mg/dL	0.083	0.940 – 2.737	1.610
Linfocitos T CD3+ (#) < 700 células/uL	0.097	0.922 – 2.645	1.562
Linfocitos T CD4+ (#) < 400 células/uL	0.041	1.023 – 2.989	1.749
Linfocitos T CD8+ (%) < 25 %	0.158	0.859 – 2.560	1.483
Linfocitos NK < 50 células/uL	0.043	1.019 – 3.450	1.875
PCR > 3 mg/dL	0.001	1.435 – 3.964	2.385
Linfocitos (hemograma) < 20%	0.050	1.001 – 3.534	1.881
Linfocitos (hemograma) < 1000 células/uL	0.168	0.835 – 2.814	1.533
<i>Combinada</i>			
IgG < 400 mg/dL día 7 o 30	0.780	0.594 – 2.000	1.090
IgG < 600 mg/dL día 7 o 30	0.040	1.022 – 2.615	1.635

Las variables relacionadas con el riesgo post trasplante para infección o reactivación de CMV en el seguimiento del post trasplante en los resultados globales en el seguimiento se muestran en siguiente tabla.

Tabla 12b. Regresión logística para factores de riesgo para infección por CMV en el post trasplante

	Valor de p	IC 95%	Impacto (OR)
<i>Infección o reactivación del CMV en el post trasplante</i>			
<i>Variables Clínicas</i>			
Edad > 50	0.294	0.815 – 1.967	1.266
Sexo (femenino)	0.137	0.897 – 2.212	1.409
Tabaquismo	0.684	0.723 – 1.638	1.088
Hipertensión Arterial	0.092	0.125 – 1.170	0.382
Cardiopatía Isquémica	<0.001	0.305 – 0.695	0.461
Obesidad	0.911	0.113 – 7.016	0.889
Diabetes Mellitus tipo 2	0.821	0.246 – 5.844	1.200
Dislipidemia	0.639	0.684 – 1.856	1.127
<i>Pretrasplante</i>			
C3 < 80 mg/dl	<0.001	1.960 – 6.350	3.524
C4 < 20 mg/dl	<0.001	1.580 – 4.090	2.541
IgG < 900 mg/dl	0.012	1.133 – 2.785	1.777
IgG2 < 1.9 g/L	1.000	0.476 – 2.102	1.000
IgG3 < 0.20 g/L	0.088	0.869 – 7.618	2.573
Linfocitos T CD8+ (%) < 25 %	0.800	0.645 – 1.767	1.067
<i>7 días post trasplante</i>			
Linfocitos NK < 50 células/uL	0.043	1.020 – 3.639	1.927
IgA < 200 mg/dl	0.220	0.832 – 2.218	1.359
IgG < 400 mg/dl	0.008	1.302 – 5.658	2.714
C3 < 80 mg/dl	0.477	0.741 – 1.897	1.186
C4 < 20 mg/dl	0.284	0.801 – 2.134	1.307
PCR > 3 mg/dL	0.054	0.992 – 3.097	1.752
<i>30 días post trasplante</i>			
IgG < 900 mg/dl	0.008	1.321 – 6.590	2.951
Linfocitos NK < 50 células/uL	0.210	0.793 – 2.864	1.507
<i>Combinada</i>			
IgG < 400 mg/dL día 7 o 30	0.777	0.483 – 1.724	0.912
IgG < 600 mg/dL día 7 o 30	0.384	0.626 – 1.197	0.866

Las variables analizadas en la regresión logística en los resultados globales que se relacionaron con exitus durante el seguimiento se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 12c. Regresión logística para factores de riesgo para exitus en el post trasplante

	Valor de p	IC 95%	Impacto (OR)
Exitus en el post trasplante			
Variables Clínicas			
Edad > 50 años	0.974	0.653 – 1.553	1.007
Sexo (femenino)	0.766	0.598 – 1.459	0.935
Uso de Basiliximab	0.129	0.212 – 1.219	0.508
Tabaquismo	0.978	0.669 – 1.512	1.006
Hipertensión Arterial	0.381	0.382 – 1.446	0.743
Cardiopatía Isquémica	1.553	1.028 – 2.347	1.553
Obesidad	0.282	0.367 – 31.33	3.391
Diabetes Mellitus tipo 2	0.340	0.381 – 16.420	2.500
Dislipidemia	0.394	0.448 – 1.372	0.784
Pretrasplante			
IgG < 900 mg/dl	0.377	0.776 – 1.953	1.231
C4 < 20 mg/dl	0.006	1.210 – 3.070	1.927
IgG3 < 0.20 g/L	0.041	1.043 – 7.967	2.882
Linfocitos T CD8+ (#) < 600 células/uL	0.062	0.952 – 6.884	2.561
7 días post trasplante			
IgM < 60 mg/dl	0.002	1.334 – 3.556	2.178
Linfocitos T CD3+ (%) < 70%	0.036	1.040 – 3.338	1.863
C3 < 80 mg/dl	0.061	0.979 – 2.632	1.605
Proteínas totales < 5 g/dl	0.025	1.166 – 9.987	3.412
Monocitos (hemograma) < 350 células/uL	0.575	0.490 – 3.618	1.331
30 días post trasplante			
C3 < 80 mg/dl	0.007	1.275 – 4.598	2.421
C4 < 20 mg/dl	0.009	1.217 – 3.951	2.193
Linfocitos NK (%) < 10%	0.017	1.152 – 4.352	2.239
Linfocitos T CD3+ (#) < 700 células/uL	0.117	0.882 – 3.076	1.648
PCR > 3 mg/dL	0.013	1.187 – 4.235	2.242
Albúmina < 3.5 g/dl	0.341	0.583 – 4.740	1.663
Linfocitos (hemograma) < 1000 células/uL	0.084	0.903 – 5.018	2.128
Combinada			
IgG < 400 mg/dL día 7 o 30	0.004	1.352 – 4.784	2.543
IgG < 600 mg/dL día 7 o 30	0.011	1.180 – 3.668	1.078
Infección post trasplante	0.703	0.733 – 1.584	1.078

Escalas Inmunológicas (Immunoscores)

Con la información de los análisis de regresión, se diseñaron distintas escalas de riesgo, “*immunoscores*” para estos pacientes asignando puntos a cada variable según el riesgo relativo de la regresión logística para crear un modelo que pueda usarse para predecir el riesgo de infección y establecer una población de riesgo en la cual debe considerarse el uso de profilaxis antibiótica o una vigilancia más estrecha de signos infecciosos en el seguimiento.

En cuanto a los factores en la primera semana y el primer mes post trasplante, también se observaron variables relacionadas con la inmunidad celular relacionadas con un mayor riesgo de presentar infecciones, en estos pacientes podría plantearse el “*immunoscore*” asignando un punto a cada variable y considerarlos candidatos para plantearse el inicio de tratamientos más agresivos de forma más precoz.

Se construyó en este trabajo una escala sumando los puntos correspondientes para otorgar un nivel de riesgo de infección y de mortalidad de forma precoz, pretrasplante y en el primer mes cuando el paciente se encuentra todavía hospitalizado en la mayoría de los casos. Después se analizó el riesgo en pacientes que tenían una mayor cantidad de puntos. En la escala de variables de riesgo para infección global en el estudio 1 de trasplante de órgano sólido (Tabla 11a), en los pacientes que tenían una puntuación de 4 o más, se encontró un OR de 2.89 (IC 95% 1.641 – 5.123; $p < 0.001$).

Tabla 13a. Escala de riesgo para infección global post trasplante de órgano sólido.

Variable	Puntaje
Monocitos < 7%, <i>pretrasplante</i>	2
IgG < 600 mg/dL, <i>día 7 o día 30</i>	2
Linfocitos T CD4+ < 400 células/uL, <i>día 30</i>	2
C3 < 60 mg/dl, <i>día 30</i>	2
PCR > 3 mg/dl, <i>día 30</i>	2

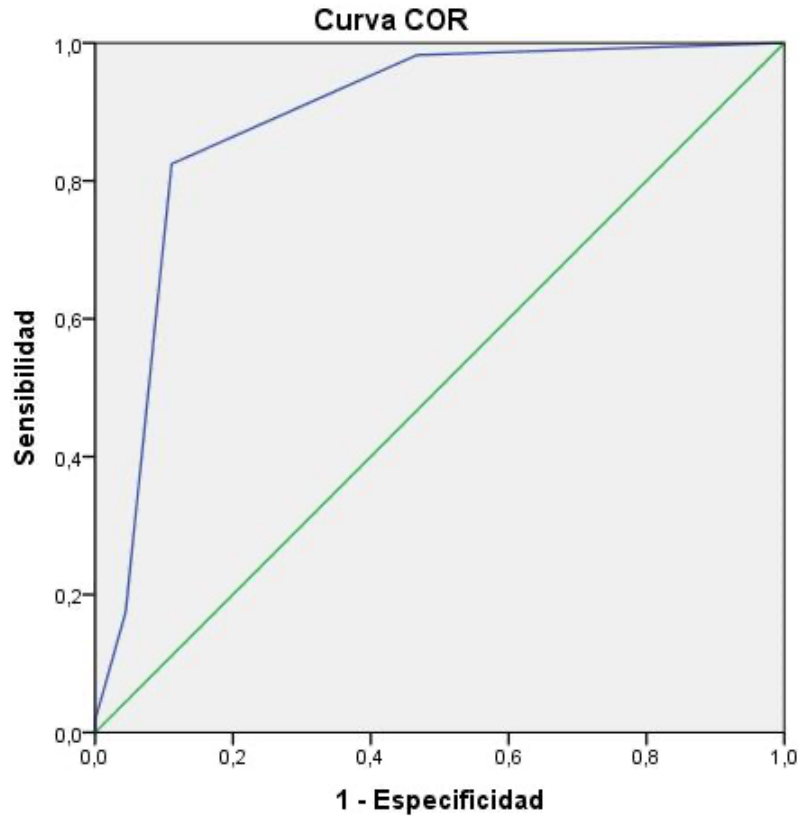


Figura 9. Curva COR score para seleccionar un punto de corte de score de riesgo de infección: área bajo la curva 0.88, $p > 0.001$, sensibilidad 83%, especificidad 90%

En el caso de la infección por CMV en el seguimiento post trasplante, se encontraron variables de hipocomplementemia y deficiencia en la inmunidad celular y humoral que se relacionaron con un mayor riesgo, por lo que se construyó una escala separada para este caso. La escala de variables de riesgo para infección CMV en el estudio 1 de trasplante de órgano sólido, en los pacientes que tenían una puntuación de 4 o más, se encontró un OR de 4.77 (IC 95% 2.605 – 8.737; $p < 0.001$).

Tabla 13b. Escala de riesgo para infección por CMV post trasplante

Variable	Puntaje
C3 < 80 mg/dl, <i>pretrasplante</i>	4
IgG < 900 mg/dl, <i>pretrasplante</i>	2
IgG < 400 mg/dl, 7 días	3
Linfocitos NK < 50 células/ul, 7 días	2
PCR > 3 mg/dl, 7 días	2

En el caso de los factores asociados a riesgo de mortalidad, se encontraron variables de hipocomplementemia, inmunidad celular y humoral con diferencias estadísticamente significativas. El modelo seleccionado incluye solo biomarcadores ampliamente accesibles, por lo que se construyó una escala agregando pruebas del perfil bioquímico, ya que son pruebas de fácil acceso en la mayoría de los centros hospitalarios. La escala de variables de riesgo para muerte seleccionada en el estudio 1 de trasplante de órgano sólido, en los pacientes que tenían una puntuación de 3 o más, se encontró un OR de 9.481 (IC 95% 4.298 – 20.911; $p < 0.001$).

Tabla 13c. Escala de riesgo para exitus post trasplante de órgano sólido

Variable	Puntaje
C4 < 20 mg/dl, <i>pretrasplante</i>	2
C3 < 80 mg/dl, <i>30 días</i>	2
PCR > 3 mg/dl, <i>30 días</i>	2
IgG < 400 mg/dL, <i>7 o 30 días</i>	3

Estudio 2. Estudio multicéntrico de trasplante renal.

Estudio multicéntrico prospectivo en los que se evaluaron 250 pacientes trasplantados renales en 3 centros hospitalarios en España y uno de Chile para evaluar el papel de los parámetros de inmunidad humoral como factores de riesgo.

Los centros incluidos en este estudio fueron el Hospital Universitario Vall d'Hebrón en Barcelona (12 casos), Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en Santander (27 casos), Universidad Austral de Chile (24 casos) y el Hospital General Universitario Gregorio Marañón en Madrid (187 casos). Se realizó un seguimiento de 6 meses post trasplante, con puntos de estudio en el pretrasplante, 7 y 30 días. Se usaron las mismas definiciones para las variables, criterios de inclusión y exclusión que en este protocolo. La media de edad fue de 54.8 años (68.4% pacientes masculinos, intervalo de edad 17-81 años). La media de tiempo en la lista de espera fue de 315 días (intervalo de 2 – 2854 días). Las indicaciones para el trasplante renal se indican en la siguiente tabla.

Tabla 14. Indicación del trasplante renal

Glomerulonefritis	19.3 %
Nefropatía Diabética	18.8 %
Enfermedad Poliquística	13.2 %
Nefritis Intersticial	9.6 %
Nefropatía Hipertensiva	5.6 %

Durante el seguimiento en este grupo se encontraron 76 casos (30.4%) de infección bacteriana recurrente post trasplante, los microorganismos responsables de las infecciones se describen en la Tabla 7b. Las infecciones reportadas incluyeron infección del tracto urinario (38 casos), neumonía (6 casos), pielonefritis aguda (4 casos), intraabdominales (4 casos), gastrointestinales (4 casos), del sitio quirúrgico (4 casos), por accesos vasculares (4 casos), de tejidos blandos (3 casos), bacteriemia (3 casos), absceso (1 caso) y meningitis (1 caso). La media de tiempo libre de infección fue de 33 días y las infecciones severas ocurrieron en los primeros 3 meses del post trasplante. Se uso profilaxis antibiótica con cefalosporina (72.4%) y TMP/SMX (88%) por 3 a 6 meses después del trasplante en todos los centros. La terapia inmunosupresora de mantenimiento post trasplante usada fue corticoides (68.4%), ciclosporina (5.2%), tacrolimus (99.2%), micofenolato (99.2%), sirolimus y everolimus (1%).

Tabla 15. Microorganismos en las infecciones post trasplante

<i>Escherichia coli</i>	14	18.4
<i>Enterococcus spp</i>	9	11.8
<i>Klebsiella spp</i>	8	10.5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	6.5
<i>Pseudomona spp</i>	5	6.5
<i>Proteus mirabilis</i>	3	3.9
<i>Enterobacteriaceae (other)</i>	2	2.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2.6
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	2	2.6
<i>Streptococcus viridans</i>	2	2.6
<i>Serratia marcescens</i>	2	2.6
<i>Burkholderia cepacea</i>	1	1.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1.3
<i>Meningococcus</i>	1	1.3
Other or negative	19	25

En este grupo de pacientes se encontró como variable clínica asociada al riesgo de infección bacteriana recurrente post trasplante, como antecedente de terapia inmunosupresora pretrasplante ($p 0.012$), se observó también una tendencia estadística para pacientes con infección por CMV que requirieron terapia antiviral ($p 0.063$). Por otra parte, se observó que los pacientes con profilaxis antibiótica con TMP/SMX se asocio con un menor riesgo de infección bacteriana recurrente. La vacunación anti-neumococo pretrasplante no se asocio significativamente con el riesgo de infección.

En el análisis del perfil inmunológico, los valores de IgG disminuyeron durante el seguimiento en los días 7 y 30 comparados con los valores basales pretrasplante, esta disminución se observó de la misma forma en todos los centros participantes y se mantuvo durante el seguimiento. Además, se observó disminución de los valores séricos de IgA y C4, mientras que los valores de IgM se mantuvieron estables. La hipogammaglobulinemia IgG, se presentó en 32.4% de los pacientes en el seguimiento y solamente 1.8% presentaron hipogammaglobulinemia severa durante el primer mes. La media de valores de IgG en este grupo de estudio estuvo entre 400 y 700 mg/dl. Entre las variables inmunológicas evaluadas, se encontraron diferencias con valores a los 7 días de IgG < 700 mg/dl ($p 0.001$) e IgG anti-PPS < 10 mg/dl ($p 0.001$); a los 30 días de IgA < 80 mg/dl ($p 0.002$) e IgG anti-PPS ($p 0.011$).

Durante el seguimiento, 23 (9.2%) pacientes desarrollaron infección o reactivación por CMV que requirió terapia con antivirales (enfermedad CMV). De estos pacientes, 7 (30.4%) eran de alto riesgo (discordancia donante/receptor). La media de tiempo libre de infección o reactivación por CMV fue de 60 días. Los tipos de enfermedad por CMV fueron síndrome viral (20 casos) y enfermedad por órganos (3 casos). La hipogammaglobulinemia por IgA a los 7 días e IgG a los 30 días se asoció significativamente con la infección por CMV. La combinación de disminución de valores de IgG y anticuerpos anti CMV en el pretrasplante se asoció con infección por CMV (p 0.026), sin embargo, no se encontró asociación para valores disminuidos de C3 y C4. Entre las variables clínicas evaluadas, se encontraron diferencias significativas en pacientes con DM2 (p 0.009), serología CMV pretrasplante (p 0.068) y rechazo agudo (p 0.067) durante el seguimiento. El uso de profilaxis con valganciclovir no se asoció a disminución del riesgo de infección (p 0.20).

En la regresión logística en estos pacientes resultaron parámetros significativos para la infección bacteriana post trasplante la hipogammaglobulinemia IgA a los 7 días, IgG a los 30 días y la IgG anti-PPS en ambos puntos. Para las infecciones por CMV, se encontraron como factores de riesgo los valores a los 7 días de IgG < 700 mg/dl y la disminución de IgG anti CMV < 10 000 unidades (p 0.033); y a los 30 días se encontró una tendencia con valores de IgG < 700 mg/dl (p 0.061).

Discusión:

Las infecciones siguen siendo una de las primeras causas de muerte en pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido. Pese a los avances en terapias inmunosupresoras y de profilaxis antimicrobiana las infecciones se asocian a una elevada morbimortalidad (7, 13). Por ello, todo avance en este campo es del máximo interés. Uno de estos avances está en el área de biomarcadores de predicción del riesgo de infección. En las últimas décadas no ha habido prácticamente ninguna clara incorporación de nuevos biomarcadores para uso clínico en trasplantes. Ejemplos de nuevas aportaciones incluyen el estudio de inmunidad celular específica anti-CMV como biomarcador de riesgo de infección y enfermedad por CMV (3).

El grupo investigador en el que se ha desarrollado esta tesis ha apostado por la evaluación de biomarcadores de inmunocompetencia fácilmente disponibles en la rutina como posibles herramientas para evaluar el riesgo de desarrollo de infección en momentos claves. Estos incluyen el estudio pre-trasplante y estudios realizados durante el primer mes tras el trasplante (día 7 y día 30).

Existen varios trabajos publicados que estudian las asociaciones entre alteraciones de la inmunidad como la hipogammaglobulinemia y las infecciones en pacientes inmunosuprimidos o trasplantados (9, 10, 13). En nuestro grupo de investigación se ha estudiado el papel de la inmunidad humoral y celular con infecciones bacterianas o por CMV en el periodo post trasplante renal, cardíaco, pulmonar y hepático. Como hemos dicho, las infecciones son un evento clínico muy frecuente en el post trasplante de órgano sólido y se requieren biomarcadores confiables como factores de riesgo en estos pacientes (3).

Esta tesis se compone de dos estudios multicéntricos internacionales, uno en trasplante de órgano sólido y otro en trasplante renal. El proceso de evaluación de biomarcadores requiere la realización de estudios multicéntricos internacionales y esta tesis pretendía una validación en ese sentido. La pandemia COVID19 frenó parte de esta intencionalidad como comentaremos más adelante.

En el primero de nuestros estudios se encontró una prevalencia de infección post trasplante renal de 50%, hepático 67% y cardíaco 33%, y globalmente fue de 55% lo cual concuerda con lo publicado en algunos estudios en este tema en la literatura (3, 12, 14).

Algunas guías internacionales han incorporado recientemente la hipogammaglobulinemia como un factor de riesgo para eventos infecciosos en recipientes de trasplante de órgano sólido (17), pero hasta ahora ningún estudio la ha evaluado combinadamente en varios trasplantes a la vez.

Reconociendo que es difícil que un solo biomarcador explique por sí solo el riesgo de infección habidas cuentas de la complejidad de la respuesta inmunitaria y su compleja interacción con los distintos microorganismos, en nuestro estudio se ha dado un paso más adelante evaluando distintos componentes de inmunidad humoral y celular y otros factores hematológicos y bioquímicos también disponibles en rutina, mas allá de la hipogammaglobulinemia.

Se han encontrado distintas variables de inmunidad humoral celular y otros factores en el hemograma y la bioquímica sanguínea que podrían considerarse biomarcadores de riesgo para infección. Además, dado que el estudio abarca un número grande de pacientes se analiza también el impacto de las mismas variables con el exitus en el seguimiento de los pacientes trasplantados.

En nuestros estudios siempre se ha evaluado primero el riesgo de infección global sin distinguir entre infección bacteriana, viral o fúngica. En este estudio se encontraron como factores de riesgo para infección global de forma precoz en el seguimiento variables de la inmunidad celular como valores disminuidos de células T CD8+ a los 7 días y de linfocitos T CD3+, y subpoblaciones CD4+ y CD8+ en los 30 días, los cuales podrían usarse como biomarcadores en este tipo de pacientes para predecir el riesgo de infección. Desde hace años hay grupos que han planteado que la simple detección de linfopenia es un factor que predispone a infección (10, 22). El estudio de subpoblaciones linfocitarias es un paso más avanzado en el proceso de identificación de biomarcadores en este campo de la inmunidad celular.

Es interesante que la disminución de los valores de monocitos pretrasplante en el hemograma también se asoció a mayor riesgo de infección, ya que este biomarcador puede ser accesible en un mayor número de centros hospitalarios donde no pueda realizarse análisis de inmunidad celular y no es un parámetro que los clínicos suelen tener en cuenta. Los monocitos son células presentadoras de antígeno, es decir tienen un rol muy importante en el proceso de reconocimiento antigénico, de allí que detectar

que la monocitopenia porcentual se asocia con riesgo de infección es otra de las aportaciones originales de esta tesis doctoral.

En el análisis de los pacientes específicamente con infección por CMV, se encontraron como factores de riesgo en el pretrasplante de forma precoz en el seguimiento la hipogammaglobulinemia IgG y la hipocomplementemia, lo cual coincide con lo reportado por otros estudios en la literatura y en nuestro grupo de investigación en otros trabajos publicados (3). La confirmación con un mayor tamaño muestral es importante.

La definición del nivel de hipogammaglobulinemia que se asocia a riesgo de infección global o por CMV aun no está cerrado. En este trabajo se identificó un nivel mayor al utilizado en otros estudios. Una explicación es la inclusión de varios trasplantes de órgano sólido en el análisis incluyendo el trasplante hepático que tiene como punto de partida hipergammaglobulinemia IgG.

En este grupo de análisis de factores de riesgo de infección por CMV, también se encontraron factores de riesgo pretrasplante en el hemograma y la bioquímica sanguínea como los valores disminuidos de linfocitos y monocitos que podrían emplearse en centros hospitalarios donde no se disponga de pruebas inmunológicas. Es importante mencionar que este grupo de pacientes con infección por CMV también resultaron de mayor riesgo de mortalidad en el post trasplante, así que es importante identificar los factores de riesgo de forma precoz y dar tratamiento adecuado y eficaz para disminuir el riesgo de eventos de exitus en esta población.

Además de la infección por CMV, otros marcadores de riesgo para exitus en el pretrasplante son la hipocomplementemia de C4 y de forma precoz, a los 7 días, la hipogammaglobulinemia IgM, lo cual concuerda con algunos de los resultados publicados en la literatura (13, 14).

Entre las variables bioquímicas de riesgo de muerte, podemos observar la importancia de la nutrición como factor de riesgo para eventos de exitus, ya que pacientes con déficit de vitamina D y disminución de proteínas totales se encontraron como biomarcadores de riesgo en etapas precoces. Sin embargo, en etapas más tardías, a los 30 días, se observan como biomarcadores la inflamación, con elevación de PCR y neutrofilia.

Es interesante observar que existen variables que podrían considerarse biomarcadores de riesgo de infección y de mortalidad en los tres puntos de medición, con esta información se construyó una escala de puntaje para valorar el riesgo en estos pacientes. En el pretrasplante, se consideraron como relevantes para la construcción de la escala los valores significativos en el análisis de regresión logística multivariada, como la hipogammaglobulinemia IgG durante el primer mes, con relación a la inmunidad humoral y la disminución de linfocitos T CD4+ en las variables de inmunidad celular.

Nuestro estudio multicéntrico de trasplante de órgano sólido está limitado por el pequeño número de pacientes en uno de los centros. La otra limitación es que finalmente solo fue posible la inclusión de 2 centros. La pandemia COVID19 frenó durante 2 años la posibilidad de incluir centros de Brasil, México, Chile, Italia, Francia, Bélgica y Estados Unidos que fueron pre-contactados. La imposibilidad para continuar en el seguimiento de centros con los que se planteó una colaboración inicial debido a la crisis sanitaria ocasionada por la COVID-19 durante el año de seguimiento en el 2020 donde se pretendía desarrollar el estudio. Además, en uno de los centros colaboradores no fue posible realizar el perfil inmunológico celular completo o no se realizó en todos los pacientes, lo cual afecta el análisis estadístico. Debido a que el seguimiento en los centros era de 6 meses, se concentraron los puntos de análisis de los biomarcadores en etapas precoces, a los 7 y 30 días post trasplante, un análisis más prolongado con otros puntos de medición podría aportar más información para el riesgo del desarrollo de enfermedades en periodos más tardíos del seguimiento.

Es necesario continuar un estudio multicéntrico de este tipo con un mayor número de centros para validar los índices de riesgo obtenidos en estos pacientes y así establecer escalas inmunológicas o “*inmunoscores*” útiles para la identificación precoz de los pacientes en riesgo de infección post trasplante y con factores de riesgo para mayor mortalidad. A pesar de todas estas limitaciones, este estudio tiene hallazgos interesantes con biomarcadores que ya se han mencionado como de riesgo en otros trabajos publicados en la literatura médica, confirmando la importancia de la vigilancia y detección oportuna y temprana de inmunodeficiencias en pacientes trasplantados. Esta información puede dar pie a un cambio de paradigma y nuevos protocolos clínicos para pacientes trasplantados en los que se incluya la terapia con inmunoglobulina intravenosa como opción en pacientes con inmunodeficiencias secundarias.

El segundo estudio multicéntrico, se llevó a cabo en pacientes con trasplante renal en distintos centros hospitalarios nacionales y uno de Chile. Dado que en el estudio

multicéntrico internacional no se pudieron incluir muchos pacientes con trasplante renal, este estudio es importante al ser realizado en el trasplante que se realiza con más frecuencia entre los de órgano sólido. Existen varios estudios previos a este que han reportado asociaciones significativas entre hipogammaglobulinemia y episodios de infecciones (infecciones en general, bacterianas, diarrea por *Clostridium difficile*, bronquiectasias e infección por CMV), mientras que en otros trabajos no se encontraron asociaciones entre niveles disminuidos de IgG e infecciones. Estos trabajos cubrieron un extenso periodo de tiempo, durante el cual se usaron varios protocolos de terapia inmunosupresiva y se incluyeron numerosas zonas geográficas, mayormente en Europa, Estados Unidos y Australia (13, 23, 24, 25, 26, 27). Este estudio se diseñó antes que el anterior y solo incluyó biomarcadores de inmunidad humoral. No obstante, tiene una peculiaridad importante. Se utilizó por primera vez la definición de deficiencia secundaria de anticuerpos considerando la combinación de hipogammaglobulinemia con nivel bajo de anticuerpos específicos. De esta manera se alinea con la actual definición utilizada en la ficha técnica de uso de inmunoglobulinas intravenosas recientemente revisada por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, de enero 2019) y que usa como definición hipogammaglobulinemia y/o déficit de formación de anticuerpos.

Este es el primer estudio multicéntrico que demuestra que la hipogammaglobulinemia IgG y la deficiencia secundaria de anticuerpos, definida como hipogammaglobulinemia IgG combinada con títulos disminuidos de IgG anti-CMV, se asociaron con el desarrollo de enfermedad por CMV que requirió terapia antiviral en receptores de trasplante renal.

En los últimos años, no se han incorporado de forma extensa a la práctica clínica nuevos factores de riesgo inmunológico para la enfermedad por CMV en pacientes con trasplante renal. La medición de la respuesta específica de células T CD8+ a los antígenos de CMV se ha propuesto como un factor de riesgo para la enfermedad por CMV y se está incorporando en las directrices actualizadas (28, 29). Las directrices internacionales incluyeron recientemente la hipogammaglobulinemia IgG como factor de riesgo para las pruebas en receptores de órganos sólidos con enfermedad recalcitrante por CMV (29). En nuestro estudio, la deficiencia secundaria de anticuerpos agregó información a la hipogammaglobulinemia IgG como un único biomarcador. Como hemos mencionado antes, dado que es poco probable que un biomarcador sea suficiente para explicar por sí solo el riesgo de infección, en este estudio también se propone el uso de parámetros combinados en estudios futuros con muestras más grandes. Una potencial

limitación de la prueba ELISA usado como prueba para la respuesta IgG a los antígenos del CMV es que está basada en el uso de fibroblastos infectados, y se ha sugerido que la actividad funcional de los anticuerpos anti-CMV se evalúa de mejor forma en pruebas de ELISA basadas en células endoteliales (30). No obstante, es el ELISA con disponibilidad actual y por ello se incluyó en este estudio.

Las infecciones bacterianas son los resultados clínicos infecciosos más comunes después del trasplante de riñón y hacen falta biomarcadores confiables del riesgo de infección bacteriana recurrente en este tipo de trasplante. La mayor morbimortalidad en trasplante renal, sobretodo el primer año se asocia con este tipo de complicaciones infecciosas. En este estudio, nos centramos en la infección bacteriana recurrente como una definición que podría reflejar mejor el estado neto de la inmunodeficiencia secundaria que los eventos infecciosos de un solo episodio de infección bacteriana. En esto también tratamos de alinearnos con la nueva definición de la EMA para uso de inmunoglobulinas. Las infecciones bacterianas recurrentes se consideran una indicación de reconstitución con terapia con inmunoglobulinas IV por esta agencia europea.

Estudios anteriores a este analizaron la relación entre la hipogammaglobulinemia IgG y las infecciones bacterianas. Las infecciones bacterianas que fueron tratadas en régimen ambulatorio y las tratadas con antibióticos orales no se incluyeron como casos en este estudio. Descubrimos que poco después del trasplante (por ejemplo, en el primer mes), la hipogammaglobulinemia IgG era un factor de riesgo independiente para la aparición de infecciones bacterianas recurrentes. El siguiente paso después de la evaluación de la hipogammaglobulinemia IgG como único biomarcador de inmunocompetencia humoral contra la infección bacteriana es combinar la evaluación de IgG con títulos de anticuerpos específicos. Se ha reportado anteriormente, que existe una disminución de los títulos de anticuerpos antineumocócicos durante el primer año después del trasplante de riñón (31).

En nuestro trabajo, observamos una disminución significativa de los títulos de anticuerpos anti-antígenos polisacáridos de neumococo (anti-PPS) durante el primer mes después del trasplante. Es importante destacar que la disminución de los niveles de IgG anti-PPS en el día 30 posterior al trasplante se asoció con el desarrollo de infecciones bacterianas recurrentes en el seguimiento. Esta prueba se usa comúnmente como una alternativa para evaluar la respuesta inmunológica independiente de células T anti-polisacárido en pacientes con infecciones bacterianas recurrentes como una

señal de alarma en la deficiencia primaria de anticuerpos (32). La vacunación anti-neumococo no estaba indicada de forma rutinaria en el protocolo pretrasplante para todos los participantes en este estudio. Los estudios futuros deberían plantearse confirmar el papel de este biomarcador en cohortes de pacientes que reciben sistemáticamente vacunas antineumocócicas conjugadas o polisacáridas. Los niveles de anti-PPS post vacunación también puede usarse para evaluar el estado funcional de la inmunidad humoral antibacteriana. Sin embargo, en general, se sugiere esperar hasta los primeros 3 a 6 meses después del trasplante de riñón (el periodo de inmunosupresión más intensa) antes de indicar la vacunación (31, 33). No obstante, este es precisamente el momento en el que se concentran la mayoría de las infecciones bacterianas. Por lo tanto, la evaluación de la respuesta de los anticuerpos a la vacunación es limitada durante los primeros 3-6 meses después del trasplante de riñón. Teniendo esto en cuenta, en este estudio proponemos que los niveles bajos de anticuerpos anti-neumocócicos IgG inmediatamente después del trasplante podrían ser un biomarcador sustituto aceptable para identificar el riesgo de infección bacteriana recurrente.

La combinación de la hipogammaglobulinemia IgG y la disminución de los niveles de anticuerpos IgG específicos anti-neumococo es el segundo perfil inmunológico de deficiencia secundaria de anticuerpos que se evaluó en este estudio. Observamos que los pacientes con anomalías en ambas variables tienen un mayor riesgo de infecciones bacterianas recurrentes.

En nuestro trabajo, los niveles de C3 fueron más bajos el día 7 y el día 30 en pacientes con infección bacteriana recurrente, aunque no pudimos identificar un punto de corte válido en el análisis ROC para el riesgo de infección. Estudios de un solo centro han reportado que existe una asociación entre hipocomplementemia y diversas definiciones de infección en receptores de trasplante renal (13). Observamos cinéticas específicas de C3 en los centros participantes, y esto puede haber afectado la relación entre hipocomplementemia e infección analizada en nuestro estudio. Los niveles de C3 tendieron a aumentar en el período post trasplante en algunos centros; este aumento se ha atribuido a la prevalencia de infecciones y al rechazo en estudios previos (34 - 37).

Con los datos de los modelos de regresión logística se construyeron escalas inmunológicas para el riesgo de infección global, infección por CMV y exitus. Es un paso

más en el proceso de evaluación de biomarcadores y se proponen ya que pueden validarse en futuros estudios.

En nuestro estudio multicéntrico de trasplante renal también tuvimos algunas limitaciones. El reclutamiento comenzó antes en algunos centros que en otros; en consecuencia, el número de pacientes incluidos en el estudio difiere entre los centros; además, la mayoría de los pacientes eran de un solo centro igual que lo ocurrido con el estudio 1. El bajo número de algunos resultados clínicos, como la enfermedad por CMV, es otra limitación. Los datos limitados para estos resultados nos impidieron realizar un análisis separado de los pacientes con riesgo alto, intermedio o bajo de desarrollar enfermedad por CMV según la serología de IgG de CMV del donante y del receptor. Dado que el período de estudio limitó la acumulación de un mayor número de eventos, nuestro objetivo fue evaluar los biomarcadores tempranos para una posible intervención y decidimos concentrar el estudio en los primeros 6 meses después del trasplante. Un seguimiento más prolongado podría ser necesario para poder realizar un mejor análisis del riesgo de desarrollar enfermedad por CMV de aparición tardía o recurrente. El hallazgo de que el nivel de IgG post trasplante y la hipogammaglobulinemia IgG combinados con títulos bajos de IgG anti-CMV en lugar de discordancia CMV D+/ R- predice la enfermedad por CMV en el seguimiento post trasplante podría deberse a la presencia de variables potencialmente no controladas o al seguimiento corto del estudio. Es necesario continuar la validación de estas variables de riesgo en estudios multicéntricos internacionales a gran escala antes de que puedan ser aceptados como predictores de riesgo de infección en la práctica clínica. A pesar de estas limitaciones, debido al diseño prospectivo y multicéntrico, este estudio lleva los estudios previos de un solo centro sobre el papel de la hipogammaglobulinemia IgG como biomarcador único, un paso más allá. Nuestro estudio evaluó el estado de deficiencia secundaria de anticuerpos, definido como la combinación de valores bajos de IgG con títulos bajos de anticuerpos específicos relevantes para IgG.

El papel potencial de la monitorización de la deficiencia secundaria de anticuerpos en los receptores de trasplante renal podría evaluarse más profundamente para encontrar nuevas pruebas que conduzcan a modificaciones de los protocolos clínicos actuales. Dicho enfoque debería incluir profilaxis antimicrobiana inmunoguiada a largo plazo, protocolos de inmunización individualizados o el papel de la terapia de reemplazo de IgG en pacientes con deficiencia secundaria de anticuerpos. Una revisión sistemática reciente investigó el impacto de la profilaxis con inmunoglobulinas sobre la infección después del trasplante de riñón (38). Ninguno de los estudios examinó el

efecto de esta intervención en receptores de trasplantes con deficiencia secundaria de anticuerpos. Por lo tanto, en el futuro se necesitarán ensayos clínicos aleatorizados inmunoguiados para determinar si la terapia de reemplazo de inmunoglobulina es eficaz para reducir el riesgo de infección después del trasplante de riñón en pacientes con deficiencia secundaria de anticuerpos.

Como se ha recordado antes, en enero de 2019, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) actualizó las indicaciones de la inmunoglobulina intravenosa para incluir pacientes con deficiencia secundaria de anticuerpos (definida como hipogammaglobulinemia IgG y niveles bajos de anticuerpos específicos) e infecciones graves o recurrentes que no se controlan con terapia antimicrobiana. Nuestro grupo en este estudio aporta información relevante al respecto. En esta indicación actualizada para la terapia con inmunoglobulina intravenosa, la hipogammaglobulinemia IgG se define como niveles de IgG < 400 mg/dl. En nuestro estudio multicéntrico de trasplante renal, la prevalencia de hipogammaglobulinemia grave (IgG < 400 mg/dl) que registramos fue excesivamente baja (<2%). Se encontró que los puntos de corte más altos de hipogammaglobulinemia de IgG (< 700 mg/dl) se asociaron significativamente con complicaciones virales y bacterianas. Esto debe tenerse en cuenta en el diseño de futuros ensayos clínicos que evalúen el papel de la terapia de reemplazo de IgG. Es interesante comentar que hemos informado anteriormente en un estudio de prueba de concepto que la terapia de reemplazo de IgG en pacientes con hipogammaglobulinemia IgG se asoció con la reconstitución de anticuerpos antimicrobianos específicos distintos junto con tasas más bajas de enfermedad por CMV e infecciones bacterianas graves en receptores de trasplante cardíaco (39). De hecho, en estas tesis hemos confirmado con un número mayor de pacientes que la hipogammaglobulinemia IgG definida como IgG < a 600 mg/dL durante el primer mes es factor de riesgo de infección. Es más, también lo fue para muerte durante el seguimiento. Este es un paso más en el proceso de validación de este biomarcador altamente traslacional pero que aún no se consigue su uso rutinario.

En esta tesis, el análisis realizado con las variables post trasplante, sugiere una serie de biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos, que, en combinación con el contexto clínico del paciente, pueden predecir de forma efectiva y precozmente el riesgo de complicaciones infecciosas y la mortalidad en el periodo post trasplante de los pacientes receptores de trasplante renal, hepático y cardíaco.

La identificación de la disminución de marcadores como los niveles de inmunoglobulinas y complemento, así como la monitorización de los niveles en los perfiles de inmunidad celular en los laboratorios de los centros hospitalarios donde se cuenta con programas de trasplante, es una técnica con alta disponibilidad que puede ayudar en la identificación de subgrupos de pacientes con riesgo de infecciones y evitar complicaciones clínicas importantes que pueden disminuir la supervivencia y calidad de vida de los pacientes. Estos biomarcadores pueden identificarse en el periodo pretrasplante y en el periodo precoz, durante los primeros 30 días, y son útiles para establecer una terapéutica precoz que pueda prevenir complicaciones que pongan en peligro la viabilidad del injerto y los resultados del trasplante.

A manera de resumen, en el estudio multicéntrico de trasplante de órgano sólido, renal, hepático y cardíaco, la disminución de niveles de poblaciones linfocitarias de células T CD3+, T CD4+ y T CD8+ durante los primeros 30 días post trasplante se asociaron a un mayor riesgo de infecciones. Además de tendencias estadísticas para hipocomplementemia C3 e hipogammaglobulinemia IgM que requiere continuar su estudio en trabajos posteriores con mayor población. En estos pacientes también se encontró relación con la disminución de monocitos en el hemograma como factor de riesgo para el desarrollo de infecciones en general que podría ser un biomarcador accesible para todos los centros hospitalarios. Los marcadores relacionados con riesgo de infección por CMV post trasplante fueron los niveles pretrasplante disminuidos de IgG (<900 mg/dl) y la hipocomplementemia (C3 y C4) lo cual coincide con lo publicado previamente en la literatura. En estos pacientes también se encontró como factor de riesgo valores disminuidos de monocitos en el hemograma en valores pretrasplante de forma precoz en los primeros 30 días del seguimiento.

En el estudio multicéntrico nacional de trasplante renal realizado por este grupo, la deficiencia secundaria de anticuerpos fue un factor de riesgo para infecciones bacterianas recurrentes y de enfermedad por CMV. En este trabajo se observó la combinación de hipogammaglobulinemia con nivel bajo de anticuerpos específicos (anti-PPS y anti-CMV) como biomarcadores de inmunidad relacionado a la infección por bacterias recurrentes y CMV, respectivamente. Además, la hipogammaglobulinemia IgG resultó un factor independiente como biomarcador de riesgo para las infecciones bacterianas recurrentes. Futuros estudios deberán plantearse confirmar el papel de estos biomarcadores de forma aislada y combinada.

Los biomarcadores de riesgo de exitus encontrados en el análisis de supervivencia incluyeron en la inmunidad humoral, la hipogammaglobulinemia IgG (y de subclases de IgG 3) y la hipocomplementemia C3 en los primeros 30 días post trasplante. En los factores de riesgo en la inmunidad celular se incluyeron como biomarcadores la disminución del recuento de Linfocitos B. Además, se observó como factor de riesgo de mortalidad disminución de la albúmina sérica en los primeros 30 días, lo cual habla del papel de la nutrición en la supervivencia post trasplante.

Se han identificado varias escalas inmunológicas (*“immunoscores”*) que se asocian con el riesgo de desarrollo de infecciones globales y específicamente por CMV. En el caso de la escala construida las infecciones globales, se encontró el mayor puntaje relacionado a mayor riesgo, siendo las variables incluidas parámetros de la inmunidad celular en los primeros 30 días como los linfocitos T CD4+ y CD8+. En la infección por CMV del post trasplante, se encontró también mayor riesgo a más puntos en la escala construida, y las variables incluidas también incluyeron parámetros correspondientes a la inmunidad celular como células NK; aunque en este caso también se encontró significativa la presencia de variables de inmunidad humoral como hipocomplementemia C3 en los primeros 30 días del post trasplante.

Los resultados de este trabajo dan una pauta para continuar la validación de biomarcadores de riesgo de infección general y en específico por CMV en otras poblaciones a nivel nacional e internacional de forma que pueda validarse un *“immunoscore”* para esta población de pacientes. La evaluación cautelosa en estudios posteriores de la eficacia y seguridad del empleo de esta escala para intervenciones clínicas o terapéuticas, como la terapia intravenosa con inmunoglobulinas, para el manejo de estas inmunodeficiencias es necesaria para considerar su incorporación en la práctica clínica diaria en los centros trasplantadores.

Conclusiones.

1. En un estudio multicéntrico internacional de trasplante de órgano sólido, niveles bajos de poblaciones linfocitarias de células T CD4+ y T CD8+ durante los primeros 30 días post trasplante se asociaron a un mayor riesgo de infecciones.
2. Se ha encontrado que porcentajes bajos de monocitos y proteínas totales pretrasplante de órgano sólido, así como PCR elevada al mes post trasplante, son factores de riesgo para el desarrollo de infecciones en general.
3. Los marcadores relacionados con riesgo de infección específica por CMV post trasplante de órgano sólido (principalmente cardíaco y hepático) fueron los niveles pretrasplante de IgG < 900 mg/dl, de complemento C3 y C4 bajos, y en los primeros 7 días del seguimiento post trasplante la hipogammaglobulinemia IgG grave y los niveles bajos de células NK.
4. Los biomarcadores de riesgo de mortalidad en trasplante de órgano sólido incluyeron: la hipocomplementemia C4 pretrasplante y la linfopenia T CD3+, la hipogammaglobulinemia IgG, valores disminuidos de proteínas totales y aumentados de PCR en los primeros 30 días post trasplante.
5. Se han identificado varias escalas inmunológicas (*“immunoscores”*) que incluyen distintas combinaciones de biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos, que, en conjunto con el contexto clínico del paciente, se asocian con mayor fuerza que biomarcadores individuales con el riesgo de desarrollo de infecciones globales, específicamente por CMV y con mortalidad; pudiendo predecir de forma precoz estas variables de resultado relevantes.
6. En un estudio multicéntrico internacional de trasplante renal, la deficiencia secundaria de anticuerpos (hipogammaglobulinemia IgG en combinación con niveles bajos de anticuerpos específicos) fue un factor de riesgo independiente para infecciones bacterianas recurrentes y para desarrollo de enfermedad por CMV.
7. Estos resultados sientan las bases para la etapa de validación internacional de perfiles de inmunocompetencia antes de su posible inclusión en guías clínicas para el manejo de infecciones bacterianas y por CMV en trasplante de órgano sólido.

Referencias bibliográficas:

1. Juan Otero M; Fresno Escudero M; Solana Lara R; Manrique de Lara LA; Yagüe Ribes J. (2020) Capítulo 340: Inmunopatología en la respuesta inmune a la infección en Farreras; Rozman, Medicina interna. 19ª ed., pp. 348-355. Elsevier.
2. González-Molina M, Ruiz-Esteban P, Caballero A, Burgos D, Cabello M, León M, Fuentes L, Hernández D. Immune response and histology of humoral rejection in kidney transplantation. *Nefrología* 2016;36(4):354-367.
3. Sarmiento E; Jiménez M; di Natale M; Rodríguez-Ferrero M; Anaya F; et al. Secondary antibody deficiency is associated with development of infection in kidney transplantation: Results of a multicenter study. *Transpl Infect Dis.* 2021 Apr;23(2): e13494. doi: 10.1111/tid.13494. Epub 2020 Oct 27. PMID: 33064917.
4. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (2022). Chapter 21: Primary and Acquired Immunodeficiencies on *Cellular and Molecular Immunology*. 10a ed, Elsevier. pp 481-510.
5. Marshall SE, Johnston SL (2018). Chapter 4: Clinical immunology on *Davidson's Principles and Practice in Medicine*. 23a ed, Elsevier. pp 61-90.
6. Govres HK, Lee HT (2022). Chapter 19: Perioperative Management of Renal Failure and Renal Transplant on *Perioperative Medicine*. 2o ed, Elsevier. pp 259-275.
7. Singh N; Haldar G; Limaye AP. (2021) Capítulo 308: Infecciones en los receptores de trasplantes de órganos sólidos en Mandell, Douglas, Bennett. *Enfermedades infecciosas. Principios y práctica*. 9ª ed., pp 3672-3697. Elsevier España.
8. Sarmiento E, Carbone J. (2018) Capítulo 5: Inmunoterapia de la inmunodeficiencia secundaria en el trasplante de órgano sólido. *Inmunoterapia de enfermedades de base Inmunológica*. pp 57-72. Elsevier España.
9. Green M. Introduction: Infections in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(s4):3-8.

10. Fernández-Ruiz, M., Aguado, JM. Evaluación del riesgo de infección en los receptores de trasplante renal: papel de las estrategias de monitorización inmunológica. *Revista Nefrología Sup Ext* 2016;7(2):22-37.
11. San Juan R; Aguado JM; Lumbrebras C; et al. Incidence, clinical, characteristics and risk factors of late infection in solid organ transplant recipients: data from the RESITRA study group. *Am J Transplant* 2007; 7: pp. 964-971.
12. Carbone J, Sarmiento E, del Pozo N, Rodríguez-Molina JJ, Navarro J, Fernández Yáñez, J, et al. Restoration of humoral immunity after intravenous immunoglobulin replacement therapy in heart recipients with post-transplant antibody deficiency and severe infections. *Clinical Transplantation* 2012;26: E277-83.
13. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, Morales J, García-Reyne A, San Juan R et al. Hypocomplementemia in Kidney Transplant Recipients: Impact on the Risk of Infectious Complications. *American Journal of Transplantation*. 2013;13(3):685-694.
14. Sarmiento E, del Pozo N, Gallego A, Fernández-Yañez J, Palomo J, Villa A et al. Decreased levels of serum complement C3 and natural killer cells add to the predictive value of total immunoglobulin G for severe infection in heart transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*. 2012;14(5):526-539.
15. Lund LH, Edwards LB, Dipchand AI, Goldfarb S, Kucheryavaya AY, Levvey BJ, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Heart Transplantation Report-2016; Focus theme: Primary diagnostic indications for transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2016;35:1158-69.
16. Yamani MH, Avery RK, Mawhorter SD, Young JB, Ratliff NB, Hobbs RE, et al. Hypogammaglobulinemia following cardiac transplantation: a link between rejection and infection. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20:425-30.
17. Colmenero Arroyo J; Crespo Conde M; Navasa Andón M. (2020) Capítulo 43: Trasplante hepático en Farreras; Rozman, Medicina interna. 19ª ed., pp. 348-355. Elsevier.

18. American Association for the Study of Liver Diseases. Evaluation for Liver Transplantation in Adults: 2013 Practice Guideline by the AASLD and the American Society of Transplantation. Disponible en línea en: https://www.aasld.org/sites/default/files/2019-06/141020_Guideline_Evaluation_Adult_LT_4UFb_2015.pdf
19. Samanta P; Singh N; Complications of invasive mycosis in organ transplant recipients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2016; 14: pp. 1195-1202.
20. Sarmiento E, Navarro J, Fernandez-Yañez J, Palomo J, Muñoz P, Carbone J. Evaluation of an immunological score to assess the risk of severe infection in heart recipients. *Transplant Infectious Disease*. 2014;16(5):802-812.
21. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, Lora-Pablos D, García Reyne A, González E, et al. Monitoring of Immunoglobulin levels identifies Kidney Transplant Recipients at high risk of Infection. *American Journal of Transplantation* 2012; 12:2763-2773.
22. Fernández-Ruiz M, Kumar D, Humar A. Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation. *Clinical & Translational Immunology*. 2014;3(2): e12.
23. Deborska-Materkowska D, Perkowska-Ptasinska A, Sadowska A, et al. Diagnostic utility of monitoring cytomegalovirus-specific immunity by QuantiFERON-cytomegalovirus assay in kidney transplant recipients. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):179.
24. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, San-Juan R, et al. Post-transplant hypogammaglobulinemia and risk of infection after kidney transplantation: magnitude matters. *Transpl Infect Dis*. 2017;19(1): e12628.
25. Dury S, Colosio C, Etienne I, et al. Bronchiectasis diagnosed after renal transplantation: a retrospective multicenter study. *BMC Pulm Med*. 2015; 15:141.
26. Origüen J, Fernández-Ruiz M, Lumbreras C, et al. Potential role of post-transplant hypogammaglobulinemia in the risk of *Clostridium difficile* infection after kidney transplantation: a case-control study. *Infection*. 2015;43(4):413–422.

27. Rifkind D, Marchioro TL, Waddell WR, et al. Infectious diseases associated with renal homotransplantation. *JAMA*. 1964; 189:397–407.
28. Kumar D, Chin-Hong P, Kayler L, et al. A prospective multicenter observational study of cell-mediated immunity as a predictor for cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019;19(9):2505–2516.
29. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):900–931.
30. Wang X, Peden K, Murata H. RT-qPCR-based microneutralization assay for human cytomegalovirus using fibroblasts and epithelial cells. *Vaccine*. 2015;33(51):7254–7261.
31. Broeders EN, Wissing KM, Ghisdal L, et al. Large decrease of anti-tetanus anatoxin and anti-pneumococcal antibodies at one year after renal transplantation. *Clin Nephrol*. 2013;79(4):313–317.
32. Patel SY, Carbone J, Jolles S. The expanding field of secondary antibody deficiency: causes, diagnosis, and management. *Front Immunol*. 2019; 10:33.
33. Danziger-Isakov L, Kumar D, AST ID Community of Practice. Vaccination of solid organ transplant candidates and recipients: guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clin Transplant*. 2019;33(9): e13563.
34. Van Son WJ, Van der Bij W, Tegzess AM, et al. Complement activation during an active cytomegalovirus infection after renal transplantation: due to circulating immune complexes or alternative pathway activation? *Clin Immunol Immunopathol*. 1989;50(1 Pt 1):109–121.
35. Van Son WJ, Van der Woude FJ, Van der Hem GK, et al. Complement activation associated with active cytomegalovirus infection in renal transplant patients, and its absence in transplant rejection episodes. *Transplantation*. 1985;39(5):510–514.

36. Chatterjee S, Fiala M, Arroyave C, et al. Complement components in kidney allograft recipients: relationship to cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 1982;9(3):237–244.
37. Kumar P, Kodlin D, Marks C, et al. Predictive value of serum complement (C3) in renal allograft rejection. *Br J Surg.* 1980;67(7):500–502.
38. Bourassa-Blanchette S, Knoll GA, Hutton B, et al. Clinical outcomes of polyvalent immunoglobulin use in solid organ transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Transplant.* 2019;33(6): e13560.
39. Sarmiento E, Diez P, Araya M, et al. Early intravenous immunoglobulin replacement in hypogammaglobulinemic heart transplant recipients: results of a clinical trial. *Transpl Infect Dis.* 2016;18(6):832–843.
40. Cervera C, Fernández-Ruiz M, Valledor A, Linares L, Antón A, Ángeles Marcos M et al. Epidemiology and risk factors for late infection in solid organ transplant recipients. *Transplant Infectious Disease.* 2011;13(6):598-607.
41. Mawhorter S, Yamani M. Hypogammaglobulinemia and infection risk in solid organ transplant recipients. *Current Opinion in Organ Transplantation.* 2009;1.
42. Muñoz P, Fernández N, Fariñas M. Epidemiology and risk factors of infections after solid organ transplantation. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2012; 30:10-18.
43. Snyderman D. Epidemiology of Infections after Solid-Organ Transplantation. *Clinical Infectious Diseases.* 2001;33(s1): S5-S8.
44. Fishman JA. Infection in Solid-Organ Transplant Recipients. *New England Journal of Medicine.* 2007; 357:2601-14.
45. Liu Z, Tang Q, Wen J, Tang Y, Huang D, Huang Y et al. Elevated serum complement factors 3 and 4 are strong inflammatory markers of the metabolic syndrome development: a longitudinal cohort study. *Scientific Reports.* 2016;6(1).

46. Carbone J, Del Pozo N, Gallego A, Sarmiento E. Immunological risk factors for infection after immunosuppressive and biologic therapies. *Expert Reviews of Anti-Infective Therapy*. 2011;9(4),405-413.
47. Damman J, Schuurs TA, Ploeg FJ, Seelen MA. Complement and Renal Transplantation: From Donor to Recipient. *Transplantation*. 2008; 85:923-927.
48. Molnar MZ, Kovesdy CP, Bunnapradist S, Streja E, Mehrotra R, Krishnan M, et al. Associations of Pretransplant Serum Albumin with Post-Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*. 2011; 11:1006-1015.
49. Chinen J, Shearer WT. Secondary immunodeficiencies, including HIV infection. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009; 125(2): S195.
50. Zhenfang L, Tang Q, Wen J, Tang W, Huang D, Yuzhen H, et al. Elevated serum complement factors 3 and 4 are strong inflammatory markers of the metabolic syndrome development: a longitudinal cohort study. *Scientific Reports*. 2016; 6:18713.
51. Florescu DF, Kalil AC, Qiu, Schmidt CM, Sandkovsky U. What is the impact of Hypogammaglobulinemia on the rate of infections and survival in solid organ transplantation? A Meta-Analysis. *American Journal of Transplantation* 2013; 13:2601-2610.
52. Augusto JF, Garnier AS, Demiselle J, Langs V, Picquet J, Legall R, et al. Hypogammaglobulinemia and risk of severe infection in kidney transplant recipients. *Transplant Infectious Diseases* 2016; Oct;18(5):741-751.
53. Rana A., Kaplan B., Jie T., Porubsky M., Habib S., Rilo H., et. al.: A critical analysis of early death after adult liver transplants. *Clin Transplant*. 2013; 27: pp. E448-E453.
54. Memoria actividad donación y trasplante. España 2020. Disponible en línea en: <http://www.ont.es/infesp/Memorias/Forms/AllItems>.
55. European Association for the Study of the Liver: EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol* 2016; 64: pp. 433-485.

56. Len O; Los-Arcos I; Blanes M; Bodro M; Carratalà J; et al. Executive summary of the Consensus Statement of the Transplant Infection Study Group (GESITRA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) and the National Transplant Organization (ONT) on the Selection Criteria of Donors of Solid Organs in relation to Infectious Diseases. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2020-10-01, Volumen 38, Número 8, Páginas 379-389.

57. Sarmiento E, Carbone J. Challenges associated with immunological scores for the prediction of the risk of infection after transplant. *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society*. 2015 Feb;17(1):156-157.

Anexo 1. Secondary antibody deficiency is associated with development of infection in kidney transplantation: Results of a multicenter study.



Received: 8 August 2020 | Revised: 22 September 2020 | Accepted: 11 October 2020

DOI: 10.1111/tid.13494

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

Secondary antibody deficiency is associated with development of infection in kidney transplantation: Results of a multicenter study

Elizabeth Sarmiento^{1,2,3} | Maricela Jimenez^{1,2,3} | Marisa di Natale^{1,2,3} |
Marisa Rodriguez-Ferrero⁴ | Fernando Anaya⁴ | Marcos Lopez-Hoyos^{5,6} |
Emilio Rodrigo⁷ | Manuel Arias⁷ | Manel Perello⁸ | Daniel Seron⁸ |
Boris Karanovic^{1,2,3} | Ikram Ezzahouri^{1,2,3} | Sergio Mezzano⁹ | Maria Jaramillo^{1,2,3,10} |
Leticia Calahorra^{1,2,3} | Alba Alarcon^{1,2,3} | Joaquin Navarro^{1,2,3} | Patricia Muñoz¹¹  |
Javier Carbone^{1,2,3} 

¹Clinical Immunology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

²Immunology Department, Universidad Complutense, Madrid, Spain

³Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁴Nephrology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁵Immunology Department, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander, Spain

⁶Histocompatibility Testing Laboratory, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Spain

⁷Nephrology Department, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander, Spain

⁸Nephrology Department, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain

⁹Division of Nephrology, School of Medicine, Universidad Austral, Valdivia, Chile

¹⁰Medicine Institute, Universidad Austral, Valdivia, Chile

¹¹Microbiology and Infectious Diseases Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

Correspondence

Javier Carbone, Clinical Immunology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Dr. Esquerdo, 46. 28007

Abstract

Background: We performed a multicenter study to assess the association between secondary antibody deficiency (immunoglobulin G [IgG] hypogammaglobulinemia combined with low levels of specific antibodies) and development of infection in kidney transplantation.

Methods: We prospectively analyzed 250 adult kidney recipients at four centers. The assessment points were before transplantation and 7 and 30 days after transplantation. The immune parameters were as follows: IgG, IgA, and IgM and complement factors C3 and C4 tested by nephelometry; specific IgG antibodies to cytomegalovirus (CMV) and IgG and IgG2 antibodies to pneumococcal polysaccharide (anti-PPS) determined using enzyme-linked immunosorbent assay. The clinical follow-up period lasted 6 months. The clinical outcomes were CMV disease and recurrent bacterial infections requiring antimicrobial therapy. Statistics: Multivariate logistic regression.

Results: At day 7, IgG hypogammaglobulinemia (IgG levels < 700 mg/dL) combined with low IgG anti-CMV antibody titers (defined as levels < 10 000 units) was present in 12% of kidney recipients. IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-PPS antibody titers (defined as levels < 10 mg/dL) at 1 month after kidney transplantation were recorded in 16% of patients. At day 7 the combination of IgG hypogammaglobulinemia and low anti-CMV titers was independently associated with the development of CMV disease (odds ratio [OR], 6.95; 95% confidence interval [CI], 1.17-41.31; *P* = .033). At day 30 after transplantation, the combination of IgG < 700 mg/dL and IgG anti-PPS < 10 mg/dL, was independently associated with recurrent bacterial infection (OR, 5.942; 95% CI, 1.943-18.172; *P* = .002).

Abbreviations: anti-CMV, antibodies to CMV; anti-PPS, antibodies to pneumococcal polysaccharide; C3, complement factor C3; C4, complement factor C4; CMV, cytomegalovirus; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; OR, odds ratio; ROC, receiver operating characteristic.

Madrid, Spain.
Email: javier.carbone@salud.madrid.org

Funding information This multicenter study was supported by research grants from the Fondo de Investigación Sanitaria (Instituto de Salud Carlos III, Ministry of Economy and Competitiveness), Madrid, Spain (projects FIS 1101323 and FIS 1501472), with the participation of FEDER funds (A Way of Making Europe). E.S. received an Educational Grant from Grifols, Barcelona, Spain and holds a Joan Rodes contract from the Instituto de Salud Carlos III, Ministry of Economy and Competitiveness. J.C. has an Investigator Global Sponsored Research Grant from Grifols Inc., California, USA.

Conclusion: In a prospective multicenter study, early immunologic monitoring of secondary antibody deficiency proved useful for the identification of kidney recipients who developed severe infection.

KEYWORDS

infection, Kidney transplantation, risk factors, secondary antibody deficiency

1 | INTRODUCTION

Infections continue to be associated with mortality in kidney transplantation.¹ New early biomarkers should be introduced in clinical routine to improve assessment of the risk of developing infection following kidney transplantation.²

Secondary antibody deficiency comprising immunoglobulin G (IgG) hypogammaglobulinemia and low levels of specific antimicrobial antibodies may be the result of immunosuppressive therapy and specific procedures used in solid organ transplantation.² IgG hypogammaglobulinemia has been extensively evaluated in solid organ transplantation,^{3–15} and one meta-analysis suggested that severe IgG hypogammaglobulinemia is a risk factor for infection in solid organ recipients.¹⁶ However, previous studies performed in kidney recipients are limited by the fact that data were gathered from a single institution; in addition, published results are contradictory.^{3–15} Multicenter studies are necessary to evaluate biomarkers for use in clinical practice.¹⁷ We previously confirmed the role of IgG hypogammaglobulinemia and distinct specific antibodies in multicenter studies performed in heart and lung recipients.^{18–19} Compared with heart and lung transplantation, the decrease in IgG levels after transplantation is lower in kidney recipients.^{9,18–19} These biomarkers are not applicable in the same way in all solid organ recipients and distinct cut-offs should be taken into account. The combination of IgG testing with specific antibody titers has not been previously evaluated in kidney transplantation.

Here, we present the results of the first multicenter, prospective study of the humoral immunity parameters used to define secondary antibody deficiency in adult kidney recipients. We aimed to assess the prevalence of distinct components of secondary antibody deficiency and the impact of abnormal values of these markers as potential risk factors of infection to be considered for future study.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Study design

We prospectively evaluated 250 adult patients undergoing kidney transplantation in four teaching hospitals in different geographical areas to assess the potential role of humoral immunity parameters as risk factors for infection. The centers were distributed as follows: Hospital Universitario Valle de Hebrón ($n = 12$), Barcelona, Spain (Center 1); Hospital Universitario Marqués de Valdecilla ($n = 27$), Santander, Spain (Center 2); Hospital General Universitario Gregorio Marañón ($n = 187$) Madrid, Spain (Center 3); and Universidad Austral de Chile ($n = 24$), Valdivia, Chile (Center 4).

The follow-up period was 6 months after transplantation. Clinical outcomes included cytomegalovirus (CMV) disease requiring antiviral therapy and recurrent bacterial infections requiring intravenous antimicrobial therapy in hospital.

Inclusion and exclusion criteria. All adult kidney recipients who were on the waiting list and transplanted during the study period (April 2010–June 2016) were evaluated. Patients with primary antibody deficiencies were not included.

Cytomegalovirus disease was defined as the presence of a positive CMV viral load in blood, clinical symptoms, and need for antiviral therapy.²⁰ CMV viral load was quantified in each participating center using local laboratories.²¹ Recurrent bacterial infections were defined as two or more episodes of bacterial infection that required intravenous antimicrobial therapy in hospital. Recurrences at the same site with the same organisms and new bacterial infections with different organisms at the same or different sites were included.

Clinical and epidemiological data on patients enrolled in the study were collected by local investigators during the follow-up period. Acute rejection was defined as an increase in serum creatinine level after exclusion of other causes of graft dysfunction. This increase had to occur alongside a sudden decline in glomerular

filtration rate and renal function and well-established diagnostic features in a kidney allograft biopsy that were antibody-mediated and/or T-cell mediated.²²

2.2 | Immunological studies

Immunological tests were performed in serum samples obtained at inclusion on the waiting list and at days 7 and 30 after transplantation. Levels of immunoglobulin (IgG, IgA, IgM) and complement factor (C3 and C4) were determined using nephelometry (Beckman-Coulter-Izasa at Gregorio Marañón Hospital; Siemens at Hospital Marqués de Valdecilla). In a previous multicenter study, we demonstrated the reproducibility of IgG and C3 testing between the different participating centers.¹⁸

The evaluation of humoral specific immunity that could predispose to CMV disease and infection included assessment of anti-CMV IgG antibodies using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. Microtitration plates were coated with inactivated CMV antigens derived from human fibroblasts infected with CMV (Enzygnost Anti-CMV IgG; Siemens).

To assess potential humoral immunity-specific risk factors for recurrent bacterial infection, the specific IgG and IgG2 response to polysaccharide antigens was evaluated using a multivalent pneumococcal polysaccharide (PPS) ELISA kit containing 23 serotypes of *Pneumococcus pneumoniae* (Binding Site). Anti-PPS is an accepted surrogate parameter for the evaluation of immunocompetence against polysaccharide antigens in primary and secondary antibody deficiencies.²

Secondary antibody deficiency was defined as the presence of IgG hypogammaglobulinemia combined with low levels of specific antibodies during the post-transplant period.²

Frozen serum samples were sent to the coordinating center in Madrid for testing of the immunological parameters.

2.3 | Statistical analysis

Available markers were defined according to established cut-off definitions at the Immunology Center in Madrid, as follows: IgG hypogammaglobulinemia, IgG < 700 mg/dL; IgA hypogammaglobulinemia, IgA < 80 mg/dL; IgM hypogammaglobulinemia, IgM < 50 mg/dL; C3 hypocomplementemia, C3 < 80 mg/dL; and C4 hypocomplementemia, C4 < 20 mg/dL. Severe IgG hypogammaglobulinemia was defined as IgG < 400 mg/dL. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to identify the best cut-off points of specific antibodies. These values are disclosed in the results. Variables that reached >50% of the quality of the classification algorithm (overall model quality) in the ROC analysis were stratified into two groups by selecting the best cut-off according to sensitivity and specificity.

We analyzed clinical patient-related variables (demographic, preoperative, and post-transplant data) and eight immunological

variables. Independent factors for severe specific infections (CMV disease or recurrent bacterial infection) were calculated using multivariable logistic regression. The odds ratio (OR) was used as a measure of relative risk. A P value of less than .05 was considered significant. A stepwise approach was used to determine which of the factors or variables studied were most strongly associated with severe infections. Variables with significant colinearity were excluded from the analysis. Regardless of statistical significance, the variable "participating center" was maintained in models to account for potential unmeasured differences between the institutions with respect to the risk of developing severe infections. Only clinical variables that reached a P ≤ .1 in the univariate models were included in the multivariate logistic regression models for adjustment of evaluation of the immunological parameters as independent factors for infection. The correlation between immunological parameters was assessed using the Spearman correlation test.

All of the above-mentioned data analyses were carried out using SPSS V. 1.0.01327 64 bits for Windows (IBM Inc.).

The study was approved by the Scientific Ethics Committee at Hospital General Universitario Gregorio Marañón and Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón in Madrid, Spain (Project FIS 1101323 and FIS 1501472). According to Spanish legislation, this approval is valid for the performance of the study in other Spanish centers. All participants provided their informed consent.

3 | RESULTS

3.1 | Clinical characteristics

We evaluated 250 adult kidney recipients (mean age 54.8 years [interval 17-81 years], 68.4% male). Median time on the waiting list was 315 days (interval 2-2854 days). The underlying etiology of terminal kidney diseases leading to transplantation was glomerulonephritis (19.3%), diabetic nephropathy (18.8%), polycystic kidney disease (13.2%), chronic interstitial nephritis (9.6%), and hypertensive nephropathy (5.6%). Median cold ischemia time was 14 hours. Cytomegalovirus prophylaxis included ganciclovir (6.8%) and valganciclovir (34.8%). The anti-CMV prevention approach varied across the participating centers according to the patients' profile. Anti-CMV prophylaxis with valganciclovir for 3 months was indicated in CMV-seronegative recipients and those receiving induction therapy with antithymocyte globulin in centers 2 and 4. CMV-seronegative patients received valganciclovir for 6 months in centers 1 and 3. CMV-seropositive patients received valganciclovir for 3 months in center 1. CMV-seropositive recipients were managed preemptively in center 3 (absence of antiviral prophylaxis and monitoring points for CMV viremia to start valganciclovir after transplantation).

Antibacterial prophylaxis was with cephalosporin (72.4%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (88%) for 3 months after transplantation in center 4 and for 6 months in centers 1, 2, and 3. Pre-transplant pneumococcal vaccination was not indicated in center 2 and was administered before transplantation in centers 1 (100%), 3

TABLE 1 Clinical and immunological factors associated with development of CMV disease

Parameter	Prev	OR	95% CI	P value
Center	—	0.48	0.26-0.89	.021
Age (per each year increase)	—	1.002	0.96-1.03	.92
Sex (male vs female)	68.4	1.221	0.42-3.577	.715
Pre-transplant diabetes mellitus	27.2	3.37	1.35-8.40	.009
Pre-transplant immunosuppressive therapy	17	0.49	0.11-2.18	.35
Pre-transplant neoplasia	8.9	0.48	0.062-3.811	.49
Pre-transplant nephrotic range proteinuria (3 g/24 h)	3.8	3.896	0.796-20.898	.113
End stage renal disease glomerulonephritis	19.3	0.497	0.110-2.25	.364
Previous solid organ transplantation	19.2	0.42	0.93-1.86	.25
Time in waiting list (per each day increase)	—	0.99	0.99-1.001	.232
Recipient CMV serology (negative vs positive)	19.2	2.52	0.94-6.78	.068
Mismatch IgG CMV donor positive/recipient negative	17.2	2.51	0.88-7.11	.084
Type of CMV prophylaxis	—	0.998	0.62-1.61	.99
Induction with basiliximab	64.8	0.87	0.34-2.20	.77
Induction with anti-thymocyte globulin	23.6	1.012	0.35-2.91	.98
Maintenance immunosuppression with prednisone	68.4	2.54	0.708-9.109	.15
Cold ischemia time (per each increase minute)	—	0.939	0.809-1.090	.407
Tacrolimus levels day 7 (per each increase in ng/mL)	—	1.070	0.884-1.295	.486
Acute rejection	10.7	2.078	0.9-4.54	.067
Humoral rejection	9.8	0.96	0.209-4.41	.962
Post-transplant plasmapheresis	9.9	1.605	0.433-5.952	.479
IgG < 400 mg/dL day 7 or day 30	1.2	6.450	0.537-77.421	.142
IgG < 700 mg/dL day 7	21.6	2.80	0.810-9.682	.104
IgG < 700 mg/dL day 30	20.8	4.48	1.63-12.34	.004
IgA < 80 mg/dL day 7	7.5	4.837	1.107-21.137	.036
IgM < 50 mg/dL day 7	26.2	0.579	0.120-2.803	.497
C3 < 80 mg/dL day 7	11.6	0.44	0.054-3.63	.45
C4 < 20 mg/dL day 7	18	0.216	0.027-1.739	.15
C3 < 80 mg/dL day 30	11.6	0.808	0.171-3.826	.788
C4 < 20 mg/dL day 30	22.4	0.52	0.14-1.963	.338
IgG specific anti-CMV titer < 10 000 day 7	36.4	1.80	0.347-9.34	.48
IgG specific anti-CMV titer < 10 000 day 30	33.9	0.768	0.142-4.15	.76
IgG < 700 mg/dL and IgG anti-CMV < 10 000 day 7	12.0	8.069	1.778-36.63	.007

Abbreviations: CMV infection, cytomegalovirus positive viral load in blood and antiviral therapy; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G; Prev, prevalence (percentage).

(85%), and 4 (100%). The 23-serotype pneumococcal vaccine was used in centers 3 and 4. The 13-serotype conjugated pneumococcal vaccine was used in center 1. No post-transplant pneumococcal vaccination was administered during the first 6 months after transplantation.

Maintenance immunosuppressive therapy was as follows: steroids ($n = 171$, 68.4%), cyclosporine ($n = 5$, 2%), tacrolimus ($n = 248$, 99.2%), azathioprine ($n = 0$), mycophenolate ($n = 248$, 99.2%), sirolimus ($n = 1$), and everolimus ($n = 1$). Other clinical characteristics are disclosed in Table 1. During follow-up, none of the patients used intravenous immunoglobulin before CMV disease or recurrent

bacterial infection. Patients receiving rituximab or plasmapheresis for desensitization ($n = 2$) or therapy of acute antibody-mediated rejection ($n = 1$) were not included in the analysis.

3.2 | Kinetics of immunological parameters

Immunoglobulin G values decreased compared with baseline (pre-transplant values) at day 7 and day 30. The decrease was observed in the same way in all participating centers; this was maintained up to 30 days after transplantation compared with baseline (Figure 1).

Decreased titers of specific antibodies (anti-CMV IgG, anti-PPS IgG, and anti-PPS IgG2) were also observed in the post-transplant follow-up up to 1 month (Figure 2), as was a decrease in IgA and C4 levels. IgM levels remained stable. There were differences in the kinetics of IgA, IgM, C3, and C4 between centers. IgA decreased significantly in three of four centers (Figure S1). IgM decreased significantly in three centers at day 7, although at day 30 it was similar to baseline (Figure S2). C3 values increased in the post-transplant period in one center, tended to increase in two, and tended to decrease in one (Figure S3). C4 values decreased significantly in two centers (Figure S4).

3.3 | Prevalence of immunological abnormalities

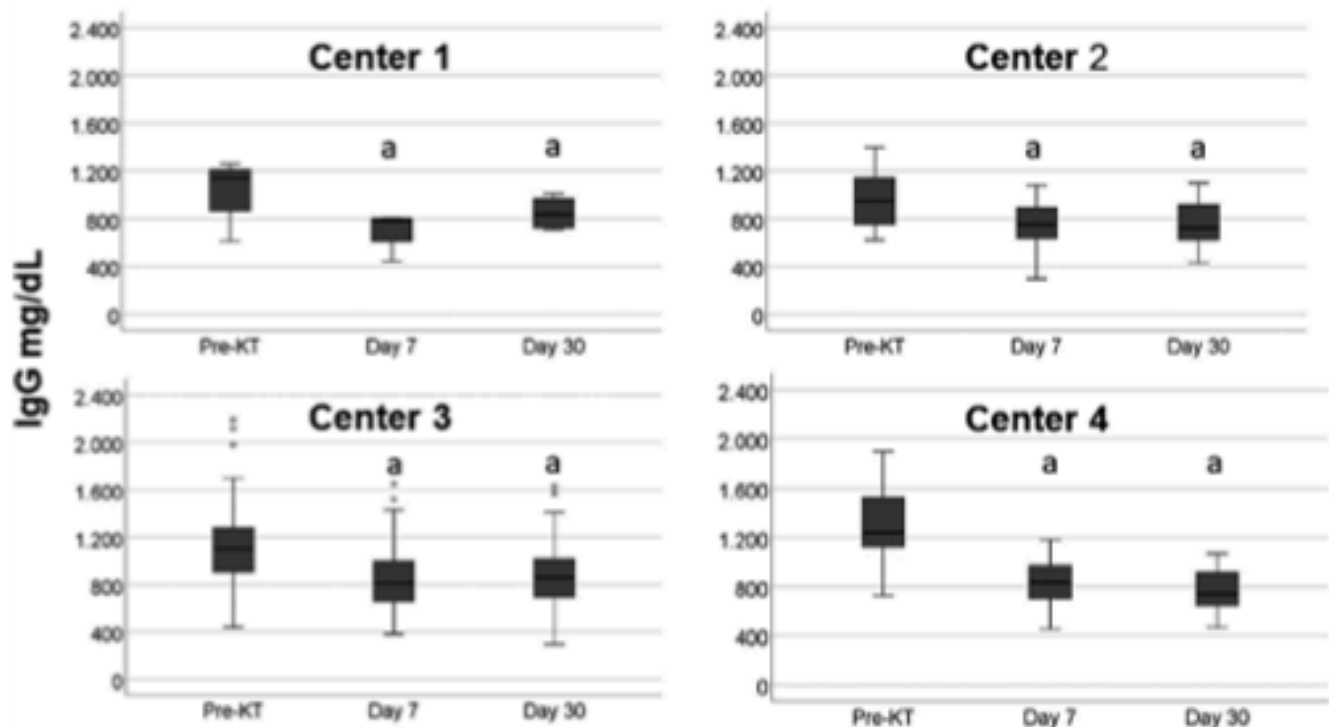
The prevalence of IgG hypogammaglobulinemia, decreased levels of specific anti-CMV antibodies, and anti-PPS antibodies, as well as of C3 and C4 hypocomplementemia, is shown in Table 1. IgG hypogammaglobulinemia was present in 32.4%; this percentage includes findings from day 7 and/or day 30 after transplantation. Severe hypogammaglobulinemia was present in only three patients (1.8%) during the first month. The median and interquartile range (IQR) of IgG levels at day 30 were 839.5 and 331.75 mg/dL, respectively. The median and IQR IgG concentration among patients with IgG levels between 400 and 700 mg/dL were 614 and 156 mg/dL, respectively. Low IgG anti-CMV titers (defined as < 10000 units) were observed

in 36.4% of patients at day 7 after transplantation. Low IgG anti-PPS antibody titers at day 30 (defined as levels <10 mg/dL) were recorded in 60.4% of patients. IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-CMV titers was observed in 12% of the patients. The combination of IgG hypogammaglobulinemia with low IgG anti-PPS titers was observed in 16% of the kidney recipients.

3.4 | Potential risk factors for CMV disease requiring antiviral therapy

During follow-up, 23 kidney recipients (9.2%) developed CMV disease that required antiviral therapy. Of these patients, seven (30.4%) were high-risk patients (donor CMV-positive and receptor CMV-negative) and none were low-risk patients (donor CMV-negative and receptor CMV-negative). Median time from transplantation to development of CMV disease was 60 days (interval 3-156 days). The types of CMV disease recorded were viral syndrome ($n = 20$) and CMV organ disease ($n = 3$). Clinical and immunological factors associated with CMV disease are shown in Table 1. IgG hypogammaglobulinemia at 30 days was significantly associated with development of CMV disease. Severe IgG hypogammaglobulinemia affected only a small number of patients and was not analyzed. IgA hypogammaglobulinemia at day 7 after transplantation was also significantly associated with development of CMV disease that required therapy.

IgG immune monitoring during 30 days after transplantation



(a) $p < 0.05$ as compared with pre-transplant values.

FIGURE 1 Kinetics of IgG in kidney transplant recipients during the first month after transplantation

Immune monitoring of specific antibodies

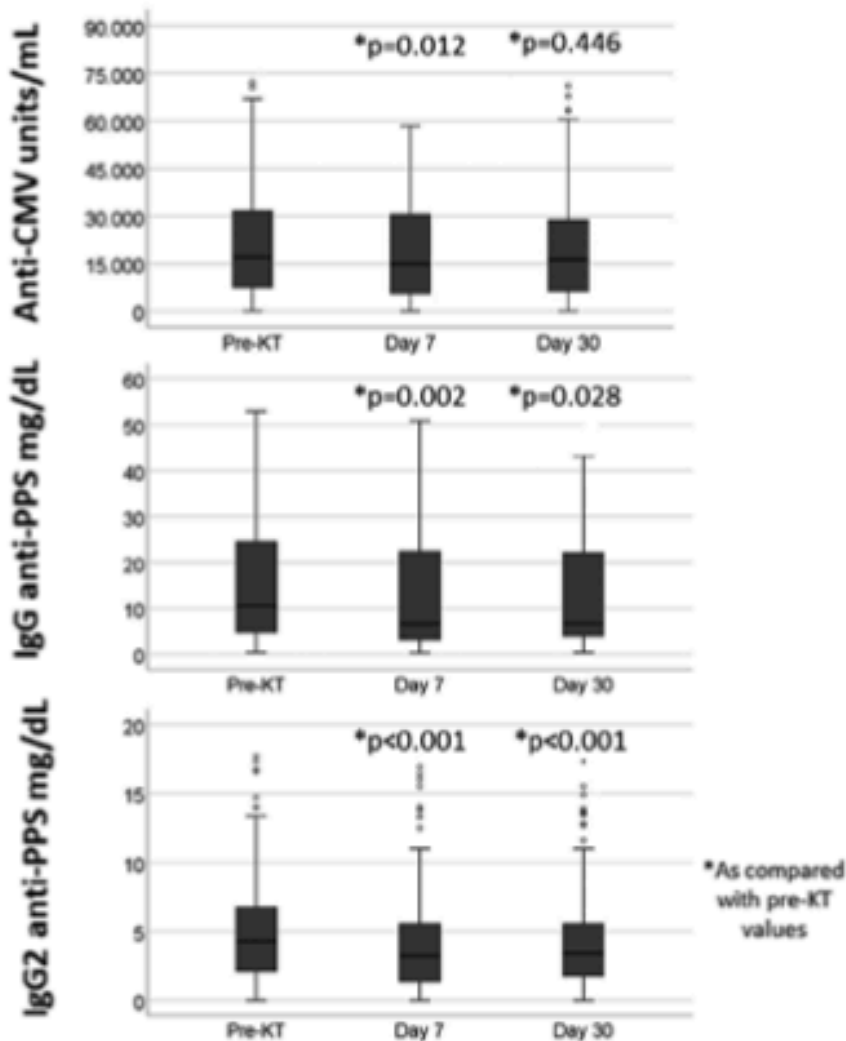


FIGURE 2 Kinetics of specific anti-cytomegalovirus (CMV) and anti-pneumococcal antibodies in kidney transplant recipients during the first month after transplantation

The combination of IgG hypogammaglobulinemia and low IgG titers of anti-CMV antibodies at day 7 was more strongly associated with development of CMV disease.

In the baseline study, the specific anti-CMV IgG concentration in CMV-seropositive recipients was significantly lower in those who developed CMV disease after transplantation ($12\,952 \pm 8261$ vs $23\,475 \pm 22\,554$ units, $P = .026$). However, ROC analysis did not identify a high-quality cut-off for this parameter. C3 and C4 hypocomplementemia were not associated with development of CMV disease.

Among the clinical variables evaluated as risk factors for developing CMV disease, significant differences were recorded for pre-transplant diabetes mellitus. Recipient CMV serological status (negative vs positive), donor-recipient mismatch in CMV IgG serology (donor positive/recipient negative), and acute cellular rejection tended to be significant risk factors for CMV disease (Table 1). Time using valganciclovir prophylaxis (0 months vs 3 months vs 6 months) was not significantly associated with development of CMV disease (OR 0.696, 95% confidence interval [CI] 0.40-1.21, $P = .20$).

After adjustment for clinical risk factors, IgG hypogammaglobulinemia at day 30 and IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-CMV titers at day 7 were independently associated with development of CMV disease after kidney transplantation (Table 2). Cumulative survival without CMV disease requiring antiviral therapy in patients with and without hypogammaglobulinemia at 1 month after transplantation is presented in Figure 3. In this analysis, we included as outcomes only CMV disease episodes that developed after IgG testing at this study point (22 of 23 patients). The rate of CMV disease was significantly higher in patients who had IgG levels < 700 mg/dL at 1 month after transplantation.

3.5 | Recurrent bacterial infection

During follow-up, 76 patients (30.4%) had recurrent bacterial infections. The distribution of microorganisms recovered in the first

episode of infection in patients with recurrent bacterial infections is shown in Table 3. The types of infections in the first episode included lower urinary tract infections ($n = 38$), pneumonia ($n = 6$), acute pyelonephritis ($n = 4$), intra-abdominal infections ($n = 4$), gastrointestinal tract infections ($n = 4$), surgical site infections ($n = 4$), catheter-related bloodstream infections ($n = 4$), skin and soft tissue infections ($n = 3$), bloodstream infections ($n = 3$), pyocyst ($n = 1$), and meningitis ($n = 1$). Median time to the first infection was 33 days (interval, 1-150 days). The most severe infections (89%) occurred within the first 3 months after transplantation.

The clinical and immunological factors for development of recurrent bacterial infection are presented in Table 4. Patients who developed recurrent bacterial infections disclosed significantly lower levels of IgG anti-PPS at all the study points (Figure 4). IgG2 anti-PPS levels were significantly lower at day 7 in those patients who had recurrent bacterial infections.

The univariate regression analysis revealed the immunological parameters that were significantly associated with development of recurrent bacterial infections to be IgG hypogammaglobulinemia at day 30, IgA hypogammaglobulinemia at day 7, and anti-PPS IgG antibodies at day 7 and day 30. Specific anti-PPS IgG2 antibodies were

significantly lower at day 7 in patients who had recurrent bacterial infections, although ROC analysis was unable to identify a cut-off. C3 levels were lower at day 7 (99 ± 27 vs 118 ± 89 , $P = .040$) and day 30 (98 ± 26 vs 120 ± 86 , $P = .015$) in patients with recurrent bacterial infection. The ROC analysis failed to identify a high-quality cut-off for association with development of recurrent bacterial infections. The other parameters analyzed were not associated with the prevalence of recurrent bacterial infections (Table 4).

The clinical risk factors for development of recurrent bacterial infection are presented in Table 4. Stay at a specific hospital was not significantly associated with an increased risk of recurrent bacterial infection. Patients who required pre-transplant immunosuppressive therapy were at a higher risk of recurrent bacterial infection. There was a trend toward increased risk of recurrent bacterial infection among patients who had CMV disease and required antiviral therapy. Anti-bacterial prophylaxis with trimethoprim-sulfamethoxazole tended to be associated with a lower risk of recurrent bacterial infection. Pre-transplant pneumococcal vaccination was not significantly associated with development of recurrent bacterial infections (OR 0.807, 95% CI 0.455-1.432, $P = .464$).

In the multivariate analysis, the independent factors for development of recurrent bacterial infection after adjustment for clinical risk factors were IgG hypogammaglobulinemia at day 30, IgG anti-PPS < 10 mg/dL at days 7 and 30 and the combined use of IgG hypogammaglobulinemia with IgG anti-PPS < 10 mg/dL at day 30 (Table 5). In the multivariate analysis including all clinical and immunological variables, only the combined biomarker remained in the final model, as this was significantly associated with developing recurrent bacterial infection.

There was no significant association between IgG hypogammaglobulinemia or low levels of IgG anti-PPS at day 30 and development of specific infections (Table S1). Secondary antibody deficiency at day 30 defined as the combination of IgG hypogammaglobulinemia and low IgG anti-PPS titers was significantly associated with development of acute pyelonephritis (Table S1).

TABLE 2 Clinical and immunological risk factors for development of CMV disease: multivariate regression analysis

Parameter	OR	95% CI	P value
IgG hypogammaglobulinemia as a risk factor			
Center	0.326	0.079-1.354	.123
Pre-transplant diabetes mellitus	2.638	0.605-11.496	.196
Mismatch CMV IgG serology (R negative/D positive)	1.64	0.330-8.141	.545
Acute rejection	0.818	0.083-8.031	.864
IgA < 80 mg/L day 7	4.952	0.733-33.467	.101
IgG < 700 mg/dL day 30	6.646	1.624-27.205	.008
IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-CMV titer as a risk factor			
Center	0.310	0.093-1.032	.056
Pre-transplant diabetes mellitus	4.883	0.999-23.875	.196
Mismatch CMV IgG serology (R negative/D positive)	1.49	0.037-6.528	.589
Acute cellular rejection	0.212	0.015-3.021	.259
IgA < 80 mg/dL day 7	1.906	0.232-15.65	.549
IgG < 700 mg/dL day 30	4.824	0.928-25.088	.061
IgG < 700 mg/dL and IgG anti-CMV titer < 10 000 units day 7	6.945	1.17-41.31	.033

Abbreviations: CMV, cytomegalovirus; D, donor; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G; R, recipient.

4 | DISCUSSION

Various studies^{3-4,6-7,9-15} reported significant associations between definitions of serum hypogammaglobulinemia and specific infectious outcomes (infections in general, bacterial infections in particular, *Clostridium difficile*-associated diarrhea, bronchiectasis, and CMV infection), while no association between low IgG levels and infections was observed elsewhere.^{5,8} These studies covered an extended period, during which several immunosuppressive protocols were used and covered various geographic areas, mainly Europe, the United States, and Australia.

This is the first multicenter study to demonstrate that IgG hypogammaglobulinemia and secondary antibody deficiency defined as IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-CMV titers were associated with development of CMV disease requiring antiviral therapy in kidney recipients.

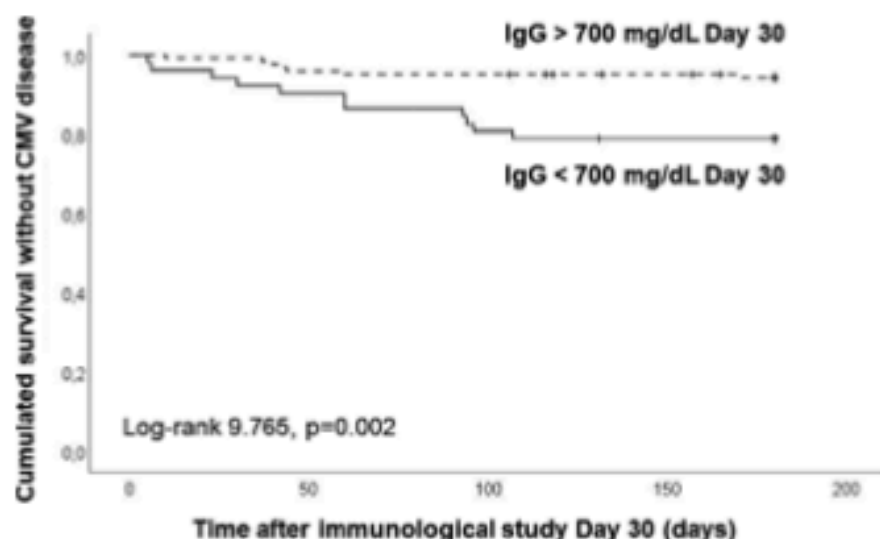


FIGURE 3 Kaplan-Meier plots showing the cumulative free survival without cytomegalovirus (CMV) disease in patients who disclosed and did not disclose immunoglobulin G (IgG) hypogammaglobulinemia at 1 mo after kidney transplantation

TABLE 3 Microorganisms during the first episode of infection in patients with recurrent bacterial infections

Microorganism	Number	Percentage
<i>Escherichia coli</i>	14	18.4
<i>Enterococcus</i> spp	9	11.8
<i>Klebsiella</i> spp	8	10.5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	6.5
<i>Pseudomona</i> spp	5	6.5
<i>Proteus mirabilis</i>	3	3.9
Enterobacteriaceae (other)	2	2.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	2.6
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	2	2.6
<i>Streptococcus viridans</i>	2	2.6
<i>Serratia marcescens</i>	2	2.6
<i>Burkholderia cepacea</i>	1	1.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1.3
<i>Meningococcus</i>	1	1.3
Other or negative	19	25

No new immunological risk factors for CMV disease in kidney recipients have been extensively incorporated into clinical practice in the last few years. Measurement of the specific CD8 response to CMV antigens has been proposed as a risk factor for CMV disease and is being incorporated into updated guidelines.²³⁻²⁴ International guidelines recently included IgG hypogammaglobulinemia as a risk factor for testing in solid organ recipients with recalcitrant CMV disease.²⁴ In our study, secondary antibody deficiency added information to IgG hypogammaglobulinemia as a single biomarker. Since it is unlikely that any single biomarker will ever be sufficient to explain the risk of infection, we propose the use of combined parameters in future studies with larger samples. A potential limitation of the ELISA test we used to test IgG response to CMV antigens is that it is

based on fibroblasts, and it has been suggested that the functional activity of anti-CMV antibodies is better evaluated using epithelial cell-based ELISA tests.²⁵

Bacterial infections are the most common infectious clinical outcomes after kidney transplantation,¹ and reliable biomarkers of the risk of recurrent bacterial infection in kidney transplantation are lacking. In this study, we focused on recurrent bacterial infection as a definition that could better reflect the net state of secondary immunodeficiency than single bacterial infectious episodes. Recurrent bacterial infections are considered an indication for replacement of IgG therapy by the European Medicines Agency. Previous studies analyzed the relationship between IgG hypogammaglobulinemia and single bacterial infections. Bacterial infections that were treated under an outpatient regimen and those treated with oral antibiotics were not included in this study. We found that early after transplantation (ie, 1 month), IgG hypogammaglobulinemia was an independent risk factor for recurrent bacterial infections. The next step after evaluation of IgG hypogammaglobulinemia as a single biomarker of humoral immunocompetence against bacterial infection is to combine IgG testing with specific antibody titers. Decreased anti-pneumococcal antibody titers have been reported during the first year after kidney transplantation.²⁶ We observed a significant decrease in anti-PPS titers during the first month after transplantation. Of note, low anti-PPS IgG levels at post-transplant day 30 were associated with the development of recurrent bacterial infections. This test is commonly used as a surrogate for the anti-polysaccharide T-cell independent immune response in patients with recurrent bacterial infections as an alarm signal for primary antibody deficiency.² Pneumococcal vaccination was not routinely indicated in the pre-transplant protocol of all the participants in this study. Future studies should confirm the role of this biomarker in cohorts of patients who systematically receive conjugated or polysaccharide pneumococcal vaccinations. Post-vaccination anti-PPS levels can also be used to evaluate the functional status of antibacterial

TABLE 4 Clinical and immunological factors associated with development of recurrent bacterial infection

Parameter	OR	95% CI	P value
Center	1.223	0.695-2.152	.485
Age (per each year increase)	1.015	0.994-1.037	.161
Sex (male vs female)	1.186	0.622-2.262	.605
Pre-transplant diabetes mellitus	0.974	0.511-1.855	.936
Pre-transplant immunosuppressive therapy	2.498	1.221-5.110	.012
Pre-transplant neoplasia	1.292	0.491-3.399	.603
Pre-transplant nephrotic range proteinuria (3 g/24 h)	0.333	0.040-2.761	.308
End stage renal disease glomerulonephritis	0.863	0.402-1.853	.705
Previous solid organ transplantation	1.713	0.857-3.425	.128
Pre-transplant infection	0.956	0.443-2.061	.908
Time in waiting list (per each day increase)	0.999	0.998-1.000	.060
Recipient CMV serology (positive vs negative)	1.215	0.566-2.605	.617
Prophylaxis with cephalosporine	1.40	0.86-2.28	.168
Trimethoprim sulfamethoxazole prophylaxis	0.529	0.23-1.22	.135
Induction with basiliximab	0.769	0.423-1.40	.391
Induction with anti-thymocyte globulin	1.669	0.865-3.22	.127
Cold ischemia time (per each increase minute)	0.994	0.949-1.040	.791
Tacrolimus levels day 7 (per each increase in ng/mL)	1.053	0.944-1.176	.355
Acute rejection	1.145	0.603-2.171	.679
Humoral rejection	1.385	0.552-3.476	.488
Post-transplant plasmapheresis	1.097	0.426-2.826	.848
CMV disease	2.292	0.957-5.486	.063
IgG < 400 mg/dL day 7 and day 30	5.514	0.486-62.612	.168
IgG < 700 mg/dL day 7	1.219	0.568-2.620	.61
IgG < 700 mg/dL day 30	3.703	1.861-7.367	<.001
IgA < 80 mg/dL day 7	2.701	0.848-8.605	.093
IgA < 80 mg/dL day 30	5.450	0.884-15.766	.002
C3 < 80 mg/dL day 7	1.348	0.532-3.415	.529
C4 < 20 mg/dL day 7	1.051	0.476-2.320	.903
C3 < 80 mg/dL day 30	1.410	0.598-3.323	.432
IgG specific anti-PPS < 10 mg/dL day 7	5.075	1.905-13.521	.001
IgG specific anti-PPS < 10 mg/dL day 30	3.143	1.306-7.563	.011

Abbreviations: anti-PPS, IgG anti-pneumococcal polysaccharide antibodies; CMV, cytomegalovirus; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G.

humoral immunity. However, in general, it is suggested to wait until the first 3–6 months after kidney transplantation—the period of most intense immunosuppression—before attempting vaccination.^{25–29} However, this is precisely the time when most bacterial infections are concentrated. Therefore, the evaluation of antibody response to vaccination is limited during the first 3–6 months after kidney transplantation. Taking this into account, we propose that low levels of IgG anti-pneumococcal antibodies early after transplantation might be an acceptable surrogate biomarker for identifying the risk of recurrent bacterial infection.

The combination of IgG hypogammaglobulinemia and low levels of IgG specific anti-pneumococcal antibodies is the second humoral immunity profile of secondary antibody deficiency evaluated in this

study. We observed that patients with both abnormalities were at risk of recurrent bacterial infections.

In our multicenter study, C3 levels were lower at day 7 and day 30 in patients with recurrent bacterial infection, although we failed to identify a valid cut-off in the ROC analysis for risk of infection. Single-center studies report an association between hypocomplementemia and various definitions of infection in kidney recipients.³⁰ We observed specific kinetics of C3 in the participating centers, and this may have affected the relationship between hypocomplementemia and infection analyzed in our study. C3 levels tended to increase in the post-transplant period in some centers; this increase has been attributed to the prevalence of infections and rejection in previous studies.^{31–34}

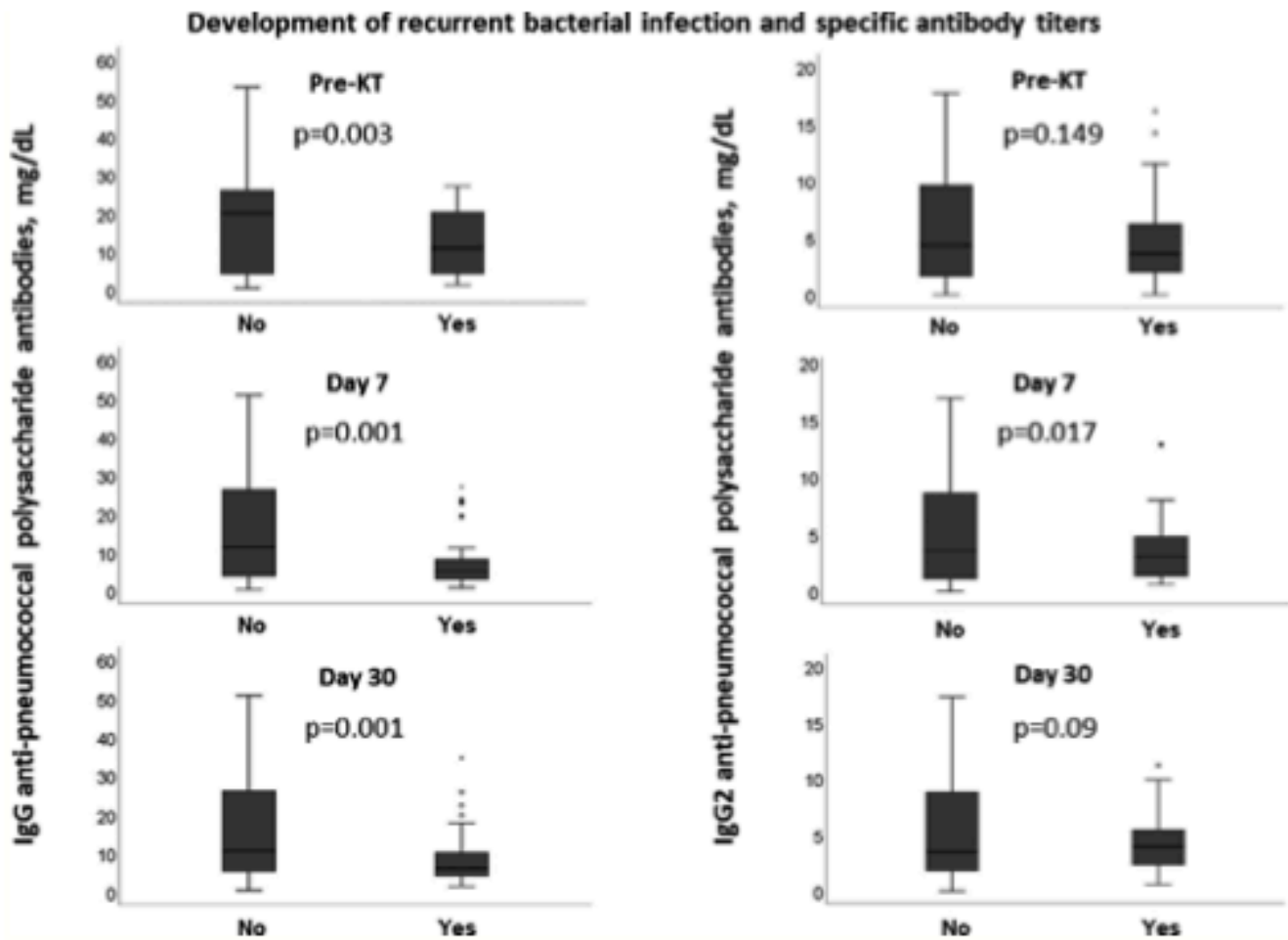


FIGURE 4 Anti-pneumococcal immunoglobulin G (IgG) and IgG2 antibody levels in patients without and with recurrent bacterial infection after kidney transplantation

Our multicenter study is limited by the small number of patients in some centers. Enrollment started earlier in some centers than in others; consequently, the number of recruited patients differs between the centers; in addition, most patients were from a single center. Low numbers of some clinical outcomes such as CMV disease is another limitation. The limited data for these outcomes prevented us from performing a separate analysis of patients with high, intermediate, or low risk for development of CMV diseases according to donor and recipient CMV IgG serology. Given that the study period limited the accumulation of a higher number of events, we aimed to assess early biomarkers for potential intervention and decided to concentrate the study in the first 6 months after transplantation. A more prolonged follow-up might be necessary for a better analysis of the risk of developing late onset or recurrent CMV disease. The finding that post-transplant IgG level and IgG hypogammaglobulinemia combined with low IgG anti-CMV titers rather than CMV D+/R- predicts post-transplant CMV disease might be due to the presence of potentially uncontrolled variables and/or the short follow-up. Further validation of these hazards in large-scale international multicenter studies is necessary before they can be accepted

as predictors of the risk of infection in clinical practice. Despite these limitations, by virtue of its prospective and multicenter design, this study takes prior single center studies of the role of IgG hypogammaglobulinemia as a single biomarker, one step further. Our study assessed the secondary antibody deficiency status defined as the combination of low IgG values with low titers of IgG relevant specific antibodies.

The potential role of monitoring secondary antibody deficiency in kidney recipients could be further evaluated to find new evidence that leads to modifications of current clinical protocols. Such an approach should include immunoguided long-term antimicrobial prophylaxis, individualized immunization protocols, or the role of IgG replacement therapy in patients with secondary antibody deficiency. A recent systematic review investigated the impact of immunoglobulin prophylaxis on infection after kidney transplantation.²⁵ None of the studies examined the effect of this intervention in transplant recipients with secondary antibody deficiency. Therefore, future immunoguided randomized clinical trials are needed to determine whether immunoglobulin replacement therapy is effective for reducing the risk of infection following kidney transplantation in patients with secondary

TABLE 5 Immunological factors associated with development of recurrent bacterial infection: multivariate regression analysis

Biomarkers after adjustment by clinical variables ^a	OR	95% CI	P value
IgG < 700 mg/dL day 30	3.429	1.709-6.877	.001
IgG anti-PPS < 10 mg/dL day 7	5.075	1.905-13.521	.001
IgG anti-PPS < 10 mg/dL day 30	3.143	1.306-7.563	.011
IgG < 700 mg/dL combined with anti-PPS < 10 mg/dL day 30	10.526	4.209-26.326	<.001
All parameters included in a multivariate regression model			
IgG < 700 mg/dL day 30	2.84	0.869-2.609	.266
IgG anti-PPS < 10 mg/dL day 7	1.099	0.231-5.236	.906
IgG anti-PPS < 10 mg/dL day 30	2.375	0.832-6.784	.106
IgG < 700 mg/dL combined with anti-PPS < 10 mg/dL day 30	5.942	1.943-18.172	.002
Center	1.201	0.280-5.152	.805
Pre-transplant immunosuppressive therapy	1.115	0.318-3.910	.865
Trimethoprim sulfamethoxazole prophylaxis	0.548	0.173-1.734	.306
CMV disease	1.168	0.201-6.80	.863

Abbreviations: anti-PPS, IgG anti-pneumococcal polysaccharide antibodies; CMV, cytomegalovirus; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G.

^aClinical variables for adjustment in all regression models: center, pre-transplant immunosuppressive therapy, CMV infection.

antibody deficiency. In January 2019, the European Medicines Agency updated the indications for intravenous immunoglobulin to include patients with secondary antibody deficiency (defined as IgG hypogammaglobulinemia and low levels of specific antibodies) and severe or recurrent infections that are not controlled with antimicrobial therapy. We provide relevant information in this regard. In this updated indication for intravenous immunoglobulin therapy, IgG hypogammaglobulinemia is defined as IgG levels < 400 mg/dL. In our multicenter study the prevalence of severe hypogammaglobulinemia (IgG < 400 mg/dL) we recorded was excessively low (<2%). Higher IgG hypogammaglobulinemia cut-offs were found to be significantly associated with viral and bacterial complications. This should be taken into account in the design of future clinical trials evaluating the role of IgG replacement therapy. Interestingly enough, we have previously reported in a proof-of-concept study, that IgG replacement therapy in patients with IgG hypogammaglobulinemia was associated with reconstitution of distinct specific antimicrobial antibodies along with lower rates of CMV disease and severe bacterial infections in heart recipients.³⁶

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Kidney Transplantation and Immunology nursing teams at all the participating centers. We are indebted to Juan Rodríguez-Molina for quality control of the humoral immunity markers at Gregorio Marañón Hospital in Madrid (UNE-EN ISO ENAC 15189 accreditation). Thomas O'Boyle reviewed the English version of the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST

The manuscript was written by the authors, and the decision to submit the manuscript for publication was made solely by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elizabeth Sarmiento participated in the research design, writing of the paper, performance of the research, and data analysis. Maricela Jimenez participated in the writing of the paper and in the performance of the research. Marisa di Natale participated in the performance of the research. Marisa Rodríguez-Ferrero participated in the performance of the research. Fernando Anaya participated in the performance of the research. Marcos López-Hoyos participated in the performance of the research and data analysis. Emilio Rodrigo participated in the performance of the research. Manuel Arias participated in the performance of the research. Manel Perello participated in the performance of the research. Daniel Seron participated in the performance of the research. Boris Karanovic participated in the performance of the research. Ikram Ezzahouri participated in the performance of the research. Sergio Mezzano participated in the performance of the research. María Jaramillo participated in writing of the paper, performance of the research, and data analysis. Leticia Calahorra participated in writing of the paper, and performance of the research. Alba Alarcon participated in the performance of the research. Joaquin Navarro participated in research design, and performance of the research. Patricia Muñoz participated in the performance of the research. Javier Carbone participated in the research design, writing of the paper, in the performance of the research, and data analysis.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

ORCID

Patricia Muñoz  <https://orcid.org/0000-0001-5706-5583>

Javier Carbone  <https://orcid.org/0000-0003-2056-0534>

REFERENCES

- Chan S, Pascoe EM, Clayton PA, et al. Infection-related mortality in recipients of a kidney transplant in Australia and New Zealand. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2019;14(10):1484–1492.
- Patel SY, Carbone J, Jolles S. The expanding field of secondary antibody deficiency: causes, diagnosis, and management. *Front Immunol*. 2019;10:33.
- Deborska-Materkowska D, Perkowska-Ptasinska A, Sadowska A, et al. Diagnostic utility of monitoring cytomegalovirus-specific immunity by QuantIFERON-cytomegalovirus assay in kidney transplant recipients. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):179.
- Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, San-Juan R, et al. Post-transplant hypogammaglobulinemia and risk of infection after kidney transplantation: magnitude matters. *Transpl Infect Dis*. 2017;19(1):e12628.
- Augusto J-F, Garnier A-S, Demiselle J, et al. Hypogammaglobulinemia and risk of severe infection in kidney transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2016;18(5):741–751.
- Dury S, Colosio C, Etienne I, et al. Bronchiectasis diagnosed after renal transplantation: a retrospective multicenter study. *BMC Pulm Med*. 2015;15:141.
- Orígüen J, Fernández-Ruiz M, Lumbreras C, et al. Potential role of post-transplant hypogammaglobulinemia in the risk of *Clostridium difficile* infection after kidney transplantation: a case-control study. *Infection*. 2015;43(4):413–422.
- Legris T, Picard C, Moal V, et al. Humoral immunity after kidney transplantation: impact of two randomized immunosuppressive protocols. *Ann Transplant*. 2013;18:622–634.
- Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, et al. Monitoring of immunoglobulin levels identifies kidney transplant recipients at high risk of infection. *Am J Transplant*. 2012;12(10):2763–2773.
- Boddana P, Webb LH, Unsworth J, et al. Hypogammaglobulinemia and bronchiectasis in mycophenolate mofetil-treated renal transplant recipients: an emerging clinical phenomenon? *Clin Transplant*. 2011;25(3):417–419.
- Broeders EN, Wissing KM, Hazzan M, et al. Evolution of immunoglobulin and mannose binding protein levels after renal transplantation: association with infectious complications. *Transpl Int*. 2008;21(1):57–64.
- Pollock CA, Mahony JF, Ibels LS, et al. Immunoglobulin abnormalities in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1989;47(6):952–956.
- Smolin MR, Rickman W, Hasbargen J. Hypogammaglobulinemia in a renal transplant recipient with antiglomerular basement membrane disease. *Am J Kidney Dis*. 1988;11(3):267–269.
- Oehninger H, Joller H, Largiadèr F, et al. Serum immunoglobulins during immunosuppressive therapy following kidney transplantation. *Schweiz Med Wochenschr*. 1978;108(13):486–489.
- Rifkind D, Marchioro TL, Waddell WR, et al. Infectious diseases associated with renal homotransplantation. *JAMA*. 1964;189:397–407.
- Florescu DF, Kalil AC, Qiu F, et al. What is the impact of hypogammaglobulinemia on the rate of infections and survival in solid organ transplantation? A meta-analysis. *Am J Transplant*. 2013;13(10):2601–2610.
- Carbone J, del Pozo N, Gallego A, et al. Immunological risk factors for infection after immunosuppressive and biologic therapies. *Exp Review Anti Infect Ther*. 2011;9(4):405–413.
- Sarmiento E, Jaramillo M, Calahorra L, et al. Evaluation of humoral immunity profiles to identify heart recipients at risk for development of severe infections: a multicenter prospective study. *J Heart Lung Transplant*. 2017;36(5):529–539.
- Sarmiento E, Cifrian J, Calahorra L, et al. Monitoring of early humoral immunity to identify lung recipients at risk for development of serious infections: a multicenter prospective study. *J Heart Lung Transplant*. 2018;37(8):1001–1012.
- da Cunha-Bang C, Sørensen SS, Iversen M, et al. Factors associated with the development of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation. *Scand J Infect Dis*. 2011;43(5):360–365.
- Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, et al. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2017;64(1):87–91.
- Goldberg RJ, Weng FL, Kandula P. Acute and chronic allograft dysfunction in kidney transplant recipients. *Med Clin North Am*. 2016;100(3):487–503.
- Kumar D, Chin-Hong P, Kayler L, et al. A prospective multicenter observational study of cell-mediated immunity as a predictor for cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019;19(9):2505–2516.
- Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):900–931.
- Wang X, Peden K, Murata H. RT-qPCR-based microneutralization assay for human cytomegalovirus using fibroblasts and epithelial cells. *Vaccine*. 2015;33(51):7254–7261.
- Broeders EN, Wissing KM, Ghisda L, et al. Large decrease of anti-tetanus anatoxin and anti-pneumococcal antibodies at one year after renal transplantation. *Clin Nephrol*. 2013;79(4):313–317.
- Krueger KM, Ison MG, Ghossein C. Practical guide to vaccination in all stages of CKD, including patients treated by dialysis or kidney transplantation. *Am J Kidney Dis*. 2020;75(3):417–425.
- Jain SR, Kumar D. Vaccination for the post-kidney transplant population. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2019;28(6):581–586.
- Danziger-Isakov L, Kumar D, AST ID Community of Practice. Vaccination of solid organ transplant candidates and recipients: guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clin Transplant*. 2019;33(9):e13563.
- Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, et al. Hypocomplementemia in kidney transplant recipients: impact on the risk of infectious complications. *Am J Transplant*. 2013;13(3):685–694.
- van Son WJ, van der Bij W, Tegzess AM, et al. Complement activation during an active cytomegalovirus infection after renal transplantation: due to circulating immune complexes or alternative pathway activation? *Clin Immunol Immunopathol*. 1989;50(1 Pt 1):109–121.
- Van Son WJ, Van der Woude FJ, Van der Hem GK, et al. Complement activation associated with active cytomegalovirus infection in renal transplant patients, and its absence in transplant rejection episodes. *Transplantation*. 1985;39(5):510–514.
- Chatterjee S, Fiala M, Arroyave C, et al. Complement components in kidney allograft recipients: relationship to cytomegalovirus infection. *J Med Virol*. 1982;9(3):237–244.
- Kumar P, Kodlin D, Marks C, et al. Predictive value of serum complement (C3) in renal allograft rejection. *Br J Surg*. 1980;67(7):500–502.
- Bourassa-Blanchette S, Knoll GA, Hutton B, et al. Clinical outcomes of polyvalent immunoglobulin use in solid organ transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Transplant*. 2019;33(6):e13560.

36. Sarmiento E, Diez P, Arraya M, et al. Early intravenous immunoglobulin replacement in hypogammaglobulinemic heart transplant recipients: results of a clinical trial. *Transpl Infect Dis*. 2016;18(6):832-843.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Sarmiento E, Jimenez M, di Natale M, et al. Secondary antibody deficiency is associated with development of infection in kidney transplantation: Results of a multicenter study. *Transpl Infect Dis*. 2021;23:e13494. <https://doi.org/10.1111/tid.13494>

Anexo 2. Relación de centros trasplantadores contactados para participar en el estudio prospectivo multicéntrico.

País	Centro	Contactos
Alemania	Institut für Transplantations immunologie, IFB-Tx, Medizinische Hochschule Hannover	Christine S. Falk
Austria	Medical University of Vienna. Dept for Cardiac Surgery	Andreas Zuckermann
Bélgica	University Hospitals Leuven	Jan Van Keer, Jo Van Cleemput
Brasil	Hospital Pro-Cardiaco. Rio de Janeiro.	Anna Karinina Sá
Chile	Universidad Austral de Chile. Valdivia.	Maria Jaramillo, Sergio Mezzano
Chile	Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena	Jaime Inostroza S, Ricardo U Sorensen
España	Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona	Manuel Hernandez, Manel Perello, Daniel Serón
España	Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander	Marcos López-Hoyos, David Sansegundo, Emilio Rodrigo, Manuel Arias
Francia	La Pitié-Salpêtrière Hospital. Paris	Shaida Varnous
Italia	Universidad de Bologna	Luciano Potena
Italia	Azienda Ospedaliera Universitaria Città della Salute e della Scienza di Torino	Paolo Solidoro
México	Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.	Eduardo Ferat Ramón Espinoza
México	Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas"	Ricardo Sandoval
México	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán	Mario Vilatoba
México	Hospital General Regional No. 1 "Julián MacGregor"	Marco SanMartin
Perú	Hospital Guillermo Almenara Irigoyen	José Carlos Chaman, Pedro Martin Padilla, Carmen Ana Cerrón.
Suecia	Sahlgrenska University Hospital Göteborg.	Vanda Friman
UK	University of Birmingham	Alec Richter
USA	Johns Hopkins Hospital, Baltimore	Robin Avery
USA	University of Nebraska Medical Center	Natasha Wilson, Diana Florescu