

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

Monitorización periódica de la carga viral del virus de Epstein-Barr en sangre como marcador del grado de inmunosupresión y del riesgo de infección en portadores de trasplante de pulmón

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

José Tiago Sequeira Lopes da Silva

Directores

Francisco López Medrano
Rodrigo Alonso Moralejo
José María Aguado García

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



Monitorización periódica de la carga viral de virus de Epstein-Barr en sangre como marcador del grado de inmunosupresión y del riesgo de infección en portadores de trasplante de pulmón

TESIS DOCTORAL

JOSÉ TIAGO SEQUEIRA LOPES DA SILVA

Directores de la Tesis:

Francisco López Medrano

Rodrigo Alonso Moralejo

José Maria Aguado García

Madrid, 2016

Agradecimientos

La parte más complicada de cualquier proyecto es, sin lugar a duda, su final. Comenzar es sencillo: con un poco de voluntad y una cierta organización, todos podemos comenzar un diseño, un texto, un proyecto de investigación, un máster o hasta una Tesis Doctoral. Pero terminarlos y, principalmente, terminarlos correctamente es la parte más dura y complicada. Y nada es más complicado que finalizar escribiendo la dedicatoria, dada la preocupación de que nos olvidemos de alguien querido o de alguien que mucho nos ayudó...

La primera persona a quien quiero manifestar mi agradecimiento es a mi querida Nazaré. A ti se debe que, al final, este proyecto de investigación haya podido ser terminado. Sin tu gran paciencia, dulce cariño y amistad, persistente apoyo y continua preocupación a lo largo de todos estos años (algunos con momentos que han dejado recuerdos bastante tristes), este proyecto de investigación no hubiera visto este deseado final. Tu presencia a mi lado es inestimable y espero que siempre lo estés por mucho, mucho tiempo.

Me gustaría también darle las gracias a mi madre y a mi padre, por haber confiado siempre en mí, por haberme dado continuamente sus consejos, apoyo y fuerza para seguir trabajando y soñando, para encontrar las soluciones para superar las muchas dificultades. Me tranquiliza mucho saber que estáis ahí, para ayudarme siempre que lo necesite, aunque sólo sea con una simple conversación.

Me gustaría destacar también a los padres y a la tía de Nazaré, que siempre demostraron un gran afecto por mí y que también siempre cuidaron de que mi estancia en Madrid fuera lo más agradable posible. Me gustaría agradecerles el gran aprecio y preocupación que siempre manifestaron a lo largo de este tiempo.

Desde un punto de vista profesional, me gustaría agradecer a todos mis tutores a lo largo de la residencia, principalmente a la Dra. Dolores Magro, al Dr. Juan Lucio Ramos y al Dr. Juan de Dios Arrebola, los adjuntos y tutores de Medicina Interna que me han acompañado desde el inicio de la residencia en el Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Por algún sitio se empieza a escribir una historia...

Me gustaría mencionar la gran amistad, respeto y buen recibimiento que tuve a mi llegada y que todavía recibo de todos los adjuntos y distintos becarios que forman la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid. Siempre me encontré muy a gusto en la Unidad. Me gustaría mencionar de forma más específica a tres personas que considero más trascendentales en mi proceso formativo y en este proyecto doctoral:

Mi agradecimiento al Profesor José María Aguado, por su invitación y por haberme dado la oportunidad de poder aprender y trabajar en una Unidad tan dinámica y activa como ésta. Reconozco que incorporar a un joven médico internista, de nacionalidad portuguesa, recientemente formado en Badajoz y prácticamente sin conocerle salvo por tres meses de una breve rotación, se podría considerar, como mínimo, arriesgado. Espero que considere que su apuesta ha merecido la pena y que sus expectativas se han cumplido.

Darle las gracias también al Profesor Francisco López Medrano, por aconsejarme para realizar este proyecto de investigación, por su apoyo y su magnífica revisión de esta Tesis (especialmente si reconocemos que la primera versión estaba más bien escrita en *portunhol*). Mencionar que muchos de los proyectos en los que pude participar y/o publicar a lo largo de mi estancia en la Unidad fueron ideados o revisados por el Profesor López Medrano, a quien mucho agradezco su voto de confianza.

Muchas gracias también a mi compañero el Dr. Mario Fernández Ruiz, por su enorme paciencia en enseñarme estadística y a utilizar el programa SPSS, por sus valiosos consejos y sus magníficas revisiones de los manuscritos, siempre sin ningún reproche ni mala cara. ¡No cambies nunca!

Agradezco a la Dra. María Dolores Folgueira por toda su paciencia para explicarme la técnica de PCR para VEB y el funcionamiento de la sección de Virología del Servicio de Microbiología, por su revisión de la Tesis Doctoral y sus consejos.

Por último, agradecer a todo el equipo del Servicio de Neumología que se dedica a que los receptores de trasplante pulmonar vayan bien: la Dra. Alicia de Pablo Gafas y la Dra. Virginia Pérez González, que a lo largo de estos años fueron recogiendo las distintas muestras para realizar la PCR de VEB y, específicamente, al Dr. Rodrigo Alonso

Moralejo, que además de aportarme una visión más amplia del trasplante pulmonar, realizó una excelente revisión de esta Tesis.

Muchas, muchas gracias a todos por vuestro cariño, amistad, apoyo y consejos a lo largo de todos estos años.

Indice

Resumen / Abstract p.8

Glosario de abreviaturas p.10

1. Introducción p.12

1.1 La importancia del trasplante pulmonar p.13

1.2 Uso de inmunosupresores en receptores de órgano sólido p.18

1.3 Infección en receptores de órgano sólido p.20

1.4 Infecciones específicas del trasplante de pulmón y complicaciones asociadas p.21

1.4.1 Infecciones bacterias p.22

1.4.2 Infecciones víricas p.25

1.4.3 Infecciones fúngicas p.27

1.5 El Virus de Epstein-Barr p.33

1.5.1 Infecciones producidas por el Virus de Epstein-Barr: la mononucleosis Infecciosa p.35

1.5.2 Virus de Epstein-Barr y su relación con las enfermedades neoplásicas p.38

1.5.3 VEB y su relación con el TOS: el síndrome linfoproliferativo post-trasplante p.39

1.6 Reactivación del Virus Epstein-Barr en receptores de trasplante de pulmón p.42

1.7 Estudios previos sobre marcadores de inmunosupresión en pacientes trasplantados p.43

1.8 Estudios previos sobre viremia de Virus de Epstein-Barr y riesgo de infección en portadores de trasplante de órgano sólido p.44

1.9 Otros virus del grupo herpes como marcadores subrogados de inmunosupresión p.47

2. Justificación del estudio p.50

3. Objetivos p.51

4. Material y Métodos p.52

4.1 Pacientes y diseño del estudio p.53

4.2	Protocolo de inmunosupresión y profilaxis del trasplante de pulmón en el Hospital Universitario 12 de Octubre	p.53
4.3	Monitorización del Virus de Epstein-Barr	p.57
4.4	Técnica de PCR para detección del Virus de Epstein-Barr	p.58
4.5	Definiciones del estudio	p.59
4.6	Definición de disfunción crónica del injerto pulmonar	p.61
4.7	Estudio estadístico	p.61
5.	Resultados	p.63
5.1	Características de la cohorte de pacientes	p.63
5.2	Complicaciones infecciosas	p.66
5.2.1	Infecciones bacterianas a lo largo del post-trasplante	p.66
5.2.2	Infecciones víricas a lo largo del post-trasplante	p.69
5.2.3	Infecciones fúngicas a lo largo del post-trasplante	p.70
5.2.4	Infecciones por parásitos a lo largo del post-trasplante	p.72
5.3	Episodios de rechazo agudo y rechazo crónico	p.72
5.4	Enfermedad neoplásica a lo largo del seguimiento	p.73
5.5	Supervivencia a lo largo del post-trasplante	p.73
5.6	Evolución de las cargas virales de Virus de Epstein-Barr a lo largo del post-trasplante	p.74
5.7	Relación entre Virus de Epstein-Barr y riesgo de infección global e infección oportunista a lo largo del post-trasplante	p.77
5.8	Relación entre Virus de Epstein-Barr y rechazo agudo	p.81
5.9	Relación entre Virus de Epstein-Barr y complicaciones tardías	p.82
5.10	Curvas de supervivencia	p.83
6.	Discusión	p.85
6.1	Incidencia de infección global e infección oportunista	p.85
6.2	Incidencia de Virus de Epstein-Barr a lo largo del post-trasplante	p.87
6.3	Relación entre detección de Virus Epstein-Barr y rechazo agudo	p.90
6.4	Relación entre detección del Virus Epstein-Barr y disfunción crónica del injerto pulmonar	p.91
6.5	Virus de Epstein-Barr como marcador del riesgo de infección	p.92
6.6	Limitaciones del estudio	p.95

- 6.7 Perspectivas de futuro p.96**
- 7. Corolario p.98**
- 8. Conclusión p.99**
- 9. Comunicaciones en relación con la Tesis p.100**
- 10. Bibliografía p.101**

Resumen

Introducción: Estudios recientes sugieren que la viremia del Virus Epstein-Barr (VEBd) puede actuar como un marcador de grado de inmunosupresión en portadores de trasplante de órgano sólido. Esta hipótesis no ha sido probada hasta ahora en el trasplante de pulmón (TP).

Objetivos: Estudiar la historia natural de VEB en el TP y valorar la relación entre la detección de VEB en sangre periférica y el desarrollo de infecciones, rechazo agudo y rechazo crónico.

Pacientes y Métodos: Se incluyeron a 63 pacientes sometidos a TP en el Hospital Universitario 12 de Octubre entre Octubre de 2008 y Mayo de 2013. La VEBd se evaluó por RT-PCR de manera trimestral. La aparición de complicaciones tardías (disfunción crónica del injerto pulmonar [DCIP], cualquier infección o infección oportunista [IO]) se analizó en función de la detección de la VEBd dentro de los primeros seis meses tras el trasplante.

Resultados: Se detectó VEBd en 30 pacientes (47,6%). El pico VEBd fue mayor en pacientes con cualquier tipo de infección tardía (2,23 vs 1,73 log₁₀ copias/mL; $P = 0,026$) e IO tardía (2,39 vs 1,74 log₁₀ copias/mL; $P = 0,004$). La presencia de VEBd ≥ 2 log₁₀ copias/mL en los primeros seis meses después del trasplante se asoció con un mayor riesgo de IO tardía (*Hazard ratio* ajustado [aHR]: 7,92; intervalo de confianza [IC] del 95%: 2,10-29,85; $P = 0,002$). Los receptores con VEBd detectable durante los primeros 6 meses tras el trasplante también tuvieron un menor periodo libre de DCIP ($P = 0,035$), aunque esta asociación no se mantuvo estadísticamente significativo en el análisis multivariante (aHR: 1,26; IC 95%: 0,87-5,29; $P = 0,099$).

Conclusiones: La detección de VEBd dentro de los primeros 6 meses después del TP es frecuente. Nuestros resultados sugieren que este fenómeno se correlaciona con la aparición de complicaciones tardías en el post-trasplante.

Abstract

Background: Recent studies suggest that Epstein-Barr Virus viremia (EBVd) can act as a marker of immunosuppression in the post-transplant period. This hypothesis has not been proven so far in lung transplantation (LT).

Objectives: To study the natural history of EBV in LT and assess the relationship between the detection of EBV in peripheral blood and the development of infections, acute rejection and chronic rejection.

Patients and Methods: 63 patients undergoing LT in the University Hospital "12 de Octubre" between October 2008 and May 2013 were included. EBVd was assessed by RT-PCR on a quarterly basis. The occurrence of late complications (chronic lung allograft dysfunction [CLAD] and any infection or opportunistic infection [OI], respectively) was analyzed according to the detecting of EBVd within the first six months after transplantation.

Results: EBVd was detected in 30 patients (47.6%). The EBVd peak was higher in patients with late systemic infection (2.23 vs 1.73 log₁₀ copies/mL; $P = 0.026$) and late OI (2.39 vs 1.74 log₁₀ copies/mL; $P = 0.004$). The presence of EBVd ≥ 2 log₁₀ copies/mL in the first six months after transplantation was associated with an increased risk of late OI (adjusted hazard ratio [aHR]: 7.92; confidence interval [CI] 95%: 2.10 -29.85, $P = 0.002$). Recipients with EBVd during the first six months also had a smaller CLAD free period ($P = 0.035$), although this association was not statistically significant in the multivariate analysis (aHR: 1.26; 95% CI: 0,87- 5.29; $P = 0.099$).

Conclusions: The detection of EBVd within the first 6 months after LT is common. Our results suggest that this phenomenon shows correlation with the appearance of post-transplant late complications.

Glosario de Abreviaturas

BOS:	síndrome de bronquiolitis obliterante
CMV:	citomegalovirus
DCIP:	disfunción crónica del injerto pulmonar
EBNA:	Epstein-Barr virus nuclear antigen
EORTC/MSG:	European Organization on Research and Treatment in Cancer and the Mycoses Study Group
EPOC:	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
FEVI:	fracción eyección ventrículo izquierdo
FEV1:	volumen máximo de aire espirado en el primer segundo
FPI:	fibrosis pulmonar idiopática
FQ:	fibrosis quística
IL:	Interleucina
IO:	infección oportunista
IQR:	rango intercuartílico
MI:	mononucleosis infecciosa
m-TOR:	mammalian Target of Rapamycin
NYHA:	New York Heart Association
PCR:	reacción en cadena de polimerasa
VEB:	virus Epstein-Barr
VHB:	virus hepatitis B
VHC:	virus hepatitis C
VIH:	virus de la inmunodeficiencia humana
RESITRA:	Red Española de Investigación de la Infección en el Trasplante
SAOR:	<i>Staphylococcus aureus</i> oxaxilina-resistente
SLPT:	síndrome linfoproliferativo post-trasplante
TOS:	trasplante de órgano sólido
TRANSNET:	Transplant-Associated Infections Surveillance Network
RA:	rechazo agudo
RAS:	síndrome restrictivo del injerto

VCA: virus capsid-antigen
VHH-6 y 7 virus herpes humano 6 y virus herpes humano 7
VRS: virus respiratorio sincitial
VVZ: virus varicela-zóster

1. Introducción

El trasplante de pulmón es actualmente la única opción para garantizar la supervivencia a medio plazo de pacientes con diversas enfermedades pulmonares en fase avanzada. Desde 1963¹, año en el que por primera vez se realizó un trasplante pulmonar, los avances médicos y quirúrgicos han sido muy significativos en este campo. Los nuevos fármacos inmunosupresores han reducido la incidencia del rechazo agudo y del rechazo crónico, aumentado la supervivencia del injerto, mientras que la mejoría de la técnica quirúrgica ha reducido las complicaciones post-cirugía. Sin embargo, el aumento de la esperanza de vida de los pacientes se ha asociado a un incremento de otro tipo de complicaciones, como las complicaciones infecciosas y tumorales.

Las infecciones son actualmente una de las principales causas de morbimortalidad en el trasplante pulmonar. El trasplante pulmonar presenta algunas características peculiares que lo distinguen de otros tipos de trasplante de órgano sólido (TOS): exposición constante al medio externo, colonización pre y post-trasplante, disminución de los mecanismos habituales de defensa frente a las infecciones respiratorias... Estas peculiaridades justifican que se trate del TOS que presenta mayor riesgo para el desarrollo de infecciones.

Además del daño directo que producen sobre el injerto, hoy día se sabe que las infecciones tienen un efecto indirecto sobre la supervivencia del pulmón trasplantado, al asociarse con un aumento de los episodios de rechazo crónico y con una peor evolución del órgano trasplantado. Específicamente en el caso del trasplante pulmonar, del síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS). El BOS es una forma clínico-patológica de rechazo crónico que se manifiesta por una progresiva afectación de la vía aérea acompañada por un deterioro progresivo de la función pulmonar, que finalmente conduce al fallecimiento del paciente.

Es fundamental alcanzar un equilibrio entre el riesgo de rechazo y el de infección. Por una parte, se debe reducir al mínimo la posibilidad de desarrollar un rechazo, pero por la otra no se debe aumentar de forma importante la posibilidad de sufrir infecciones oportunistas o graves.

Para ello, se necesitan de marcadores fiables y sencillos, fácilmente aplicables en la práctica clínica, que permitan conocer el estado neto del sistema inmunitario del receptor. Los pacientes con mayor riesgo de infección serían candidatos a una reducción de la pauta inmunosupresora, de un seguimiento más estrecho en consultas y de un mayor periodo de profilaxis frente a determinadas infecciones. En los últimos años, se han realizado varios estudios con distintos tipos de marcadores inmunitarios (subpoblaciones linfocitarias, inmunoglobulinas y complemento). Más recientemente, se ha publicado tres trabajos sobre la presencia de replicación del virus de Epstein-Barr (VEB) en el periodo post-trasplante y el riesgo de desarrollo de infecciones, pero la mayoría de estos estudios se realizaron en el trasplante renal y sus conclusiones fueron contradictorias²⁻⁴.

En el presente trabajo se establece como hipótesis que la presencia de VEB en la sangre del receptor de trasplante de pulmón es un marcador subrogado de mayor inmunosupresión y un indicador de mayor riesgo de desarrollo de infecciones oportunistas.

1.1 La importancia del trasplante pulmonar

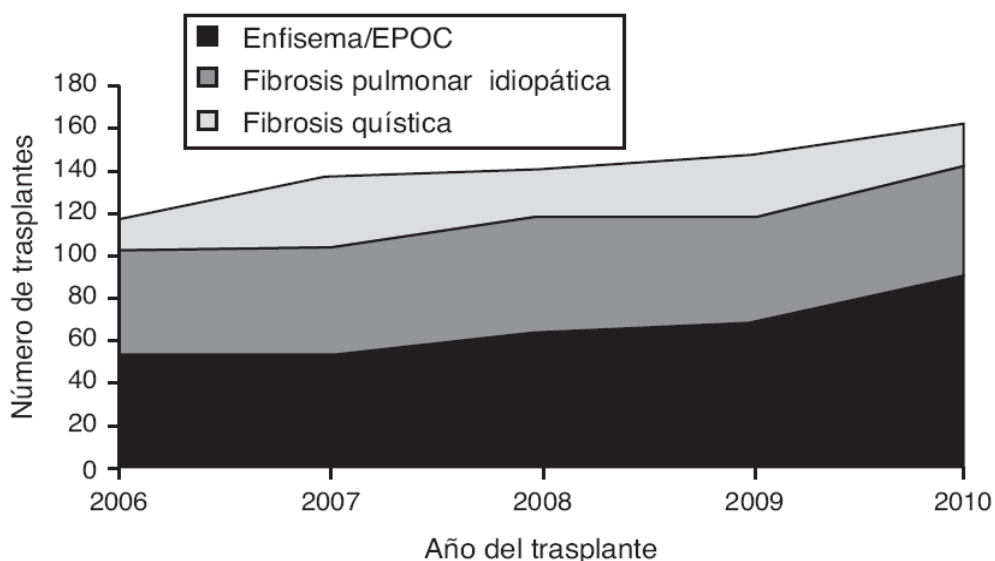
España es el país líder a nivel mundial en donación y realización de trasplantes desde hace 23 años, con una tasa de donación de 36 donantes por millón de personas y un total de 4.360 pacientes trasplantados en 2014⁵. Ese año se realizaron 262 trasplantes de pulmón (lo que supuso una disminución del 8% con respecto a 2013), quedándose detrás del trasplante renal (2.678 trasplantes), del trasplante hepático (1.068 trasplantes) y del trasplante cardiaco (265 trasplantes). Hasta Enero de 2015 se habían realizado un total de 3.487 trasplantes pulmonares en España⁵.

El trasplante pulmonar ha evolucionado de forma importante en los últimos 20 años y se considera actualmente como la mejor opción terapéutica en niños y adultos con diversas enfermedades pulmonares en fase terminal⁶. Hoy día, el trasplante de pulmón está indicado en adultos con edad inferior a 65 años, que presenten enfermedades pulmonares en fase avanzada con clase funcional III o IV de la clasificación de la New York Heart Association (NYHA) y con esperanza de vida inferior a dos años. Las

principales contraindicaciones generales absolutas para el trasplante son: existencia de hábitos tóxicos (alcohol, tabaco, drogas) en los 6 meses previos; disfunción moderada-severa de otros órganos vitales (cardiaco, renal, hepático); cardiopatía isquémica severa no revascularizable; disfunción cardíaca sistólica grave (fracción eyección ventrículo izquierdo [FEVI]<40%); infección activa por cualquier germen, incluyendo el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Las principales contraindicaciones generales relativas son: infección crónica por VHB y enfermedad maligna con menos de 5 años libres de enfermedad (a excepción de los carcinomas escamosos y de células basales de la piel, o de los carcinomas “in situ” de cérvix).

En España, al igual que en otros países desarrollados, la indicación más frecuente de trasplante pulmonar en adultos en las últimas décadas fue la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), seguida de la Fibrosis Pulmonar Idiopática (FPI) y de la Fibrosis Quística (FQ)⁷. Sin embargo los porcentajes son diferentes que los de las series internacionales. A nivel mundial se ha producido una disminución de casi un 10% del número de trasplantados por EPOC entre 1998 y 2012, con un aumento concomitante de 12% en el número de trasplantados por FPI. Simultáneamente en España se verificó un incremento progresivo de la indicación de trasplante por EPOC, con una estabilización de las demás indicaciones (Figura 1).

Figura 1 - Número de trasplantados pulmonares realizados en España y su evolución temporal (Registro Español - Organización Nacional de Trasplante - 2006 - 2010)



Según el *Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation*⁸, la supervivencia media de los pacientes adultos sometidos a trasplante pulmonar entre enero de 1990 y junio de 2012 fue de 5,7 años, con una supervivencia no ajustada a los tres meses, al año y a los tres años del trasplante de 88,0%, 80,0% y 65,0% respectivamente (Figura 2). Cuando la supervivencia fue ajustada por periodos (1990 - 1997, 1998 - 2004 y 2005 - 2012), se observó una progresiva mejoría entre el periodo más antiguo y el periodo más reciente: la supervivencia a los tres meses mejoró de 83,0% al 91,0% y la supervivencia al año del trasplante pasó de 72,0% al 83,0%, con la supervivencia media de cada periodo que aumentó de 4,3 años a 5,8 años y, finalmente, a 6,3 años en el periodo comprendido entre 2005 y 2012. En España, la supervivencia no ajustada de los pacientes adultos trasplantados de pulmón entre 2006 y 2012 era similar a la del registro internacional: 79,9% a los tres meses, 71,7% al año y 60,1% a los tres años del trasplante (Figura 3).

Figura 2 - Curvas de supervivencia de pacientes adultos sometidos a trasplante de pulmón entre 1990 y 2012 (*Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation*)

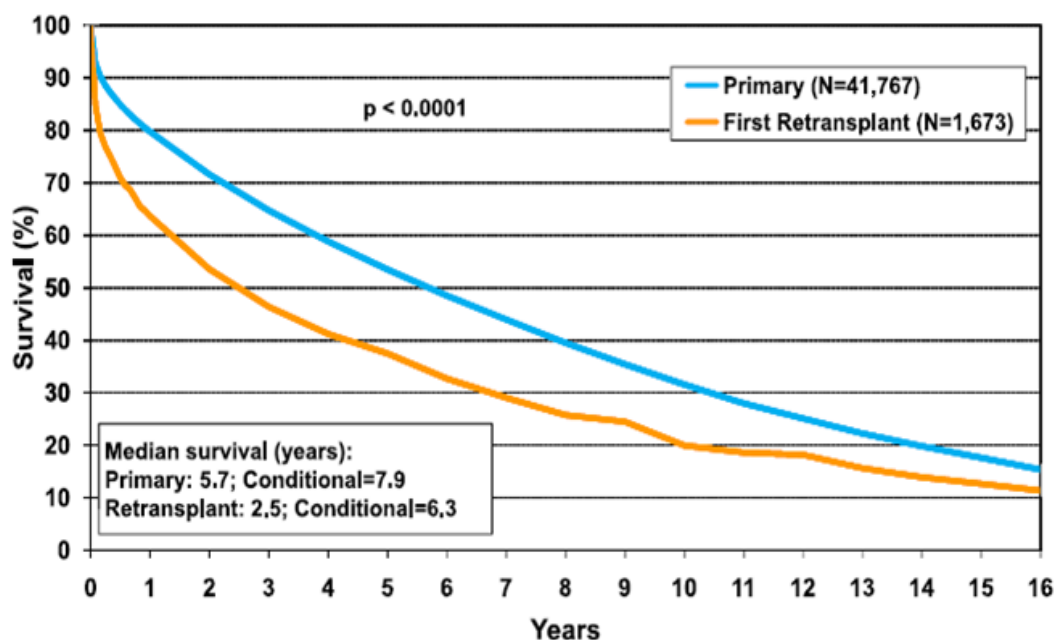
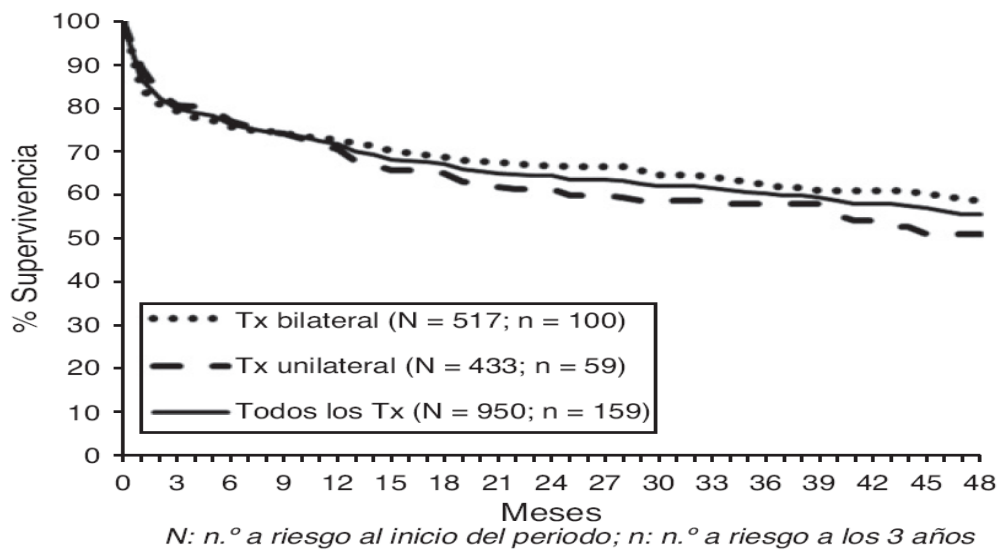


Figura 3 - Curva de supervivencia (Kaplan-Meier, *log rank*) global y por tipo de procedimiento de los receptores pulmonares adultos (Registro Español - Organización Nacional de Trasplante -2006 - 2010)



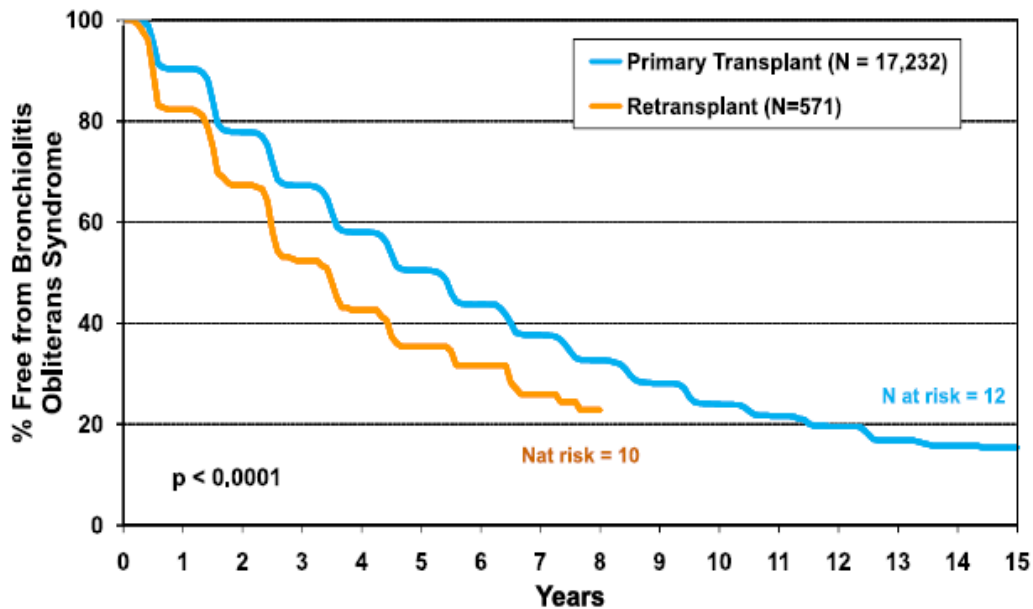
Los pacientes sometidos a trasplante pulmonar presentaron una peor evolución, con una supervivencia media de 2,5 años y una supervivencia no ajustada a los tres meses del 77,0%, al año del 64,0% y a los tres años del trasplante del 46,0% (Figura 2). Sin embargo, también en este caso, se observó una mejoría progresiva de la supervivencia a lo largo de las últimas dos décadas.

Las infecciones fueron la causa más importante de mortalidad a lo largo de todo el post-trasplante. Según el Registro Español, que es similar al Registro Internacional, las principales causas de mortalidad en los primeros treinta días del post-trasplante fueron las infecciones no producidas por citomegalovirus (CMV) - 19,5% -, seguido del fallo primario del injerto (que se produce por un daño de la membrana alveolocapilar secundario a la isquemia y posterior reperfusión pulmonar). Entre el mes y el año tras el trasplante, el 45,7% de la mortalidad registrada se asoció a infecciones no secundarias a CMV. A partir del primer año, las infecciones se mantienen como la principal causa de mortalidad (37,7%), pero perdieron importancia frente al rechazo crónico/BOS (19,5%). Entre 1995 y 2013, el BOS fue la indicación más frecuente para el trasplante (Figura 4).

Es importante también mencionar que a partir del año, las neoplasias ganaron importancia: fueron responsables del 13,0% de las defunciones. Los tumores cutáneos

fueron los más frecuentes, excepto en el primer año post-trasplante en el que la causa más frecuente fue el síndrome linfoproliferativo post-trasplante (SLPT).

Figura 4 - Receptores de trasplante pulmonar libres de BOS a lo largo del post-trasplante (*Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation*)



En resumen, el trasplante pulmonar constituye un avance muy significativo de la Medicina moderna. Aumenta de forma notable la supervivencia de los pacientes y permite una calidad de vida que habían perdido por la patología pulmonar de base y que se suele mantener hasta el desarrollo del rechazo crónico (se describen cifras de capacidad vital y de volumen espiratorio forzado en el primer segundo [FEV1] superiores al 50% en el trasplante unipulmonar y cercanos o superiores al 100% en el bipulmonar en el periodo inicial tras el trasplante). Las grandes limitaciones en el trasplante pulmonar siguen siendo las infecciones y, con el paso del tiempo, el rechazo crónico del injerto.

En los siguientes epígrafes revisaremos el uso de inmunosupresores y el riesgo de infección en el TOS en general y las infecciones más frecuentes en el trasplante pulmonar, así como su posible asociación con el rechazo del injerto.

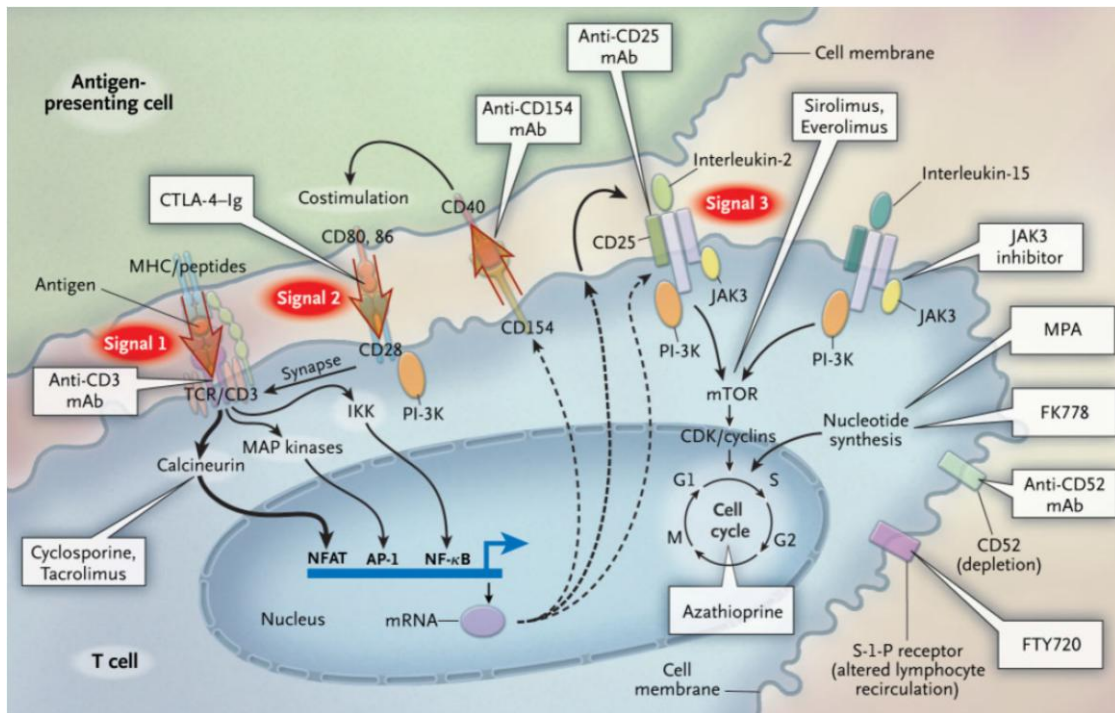
1.2 Uso de inmunosupresores en receptores de órgano sólido

Todos los receptores de un TOS tienen riesgo de presentar rechazo del injerto, sea agudo o crónico. Como mencionado previamente, el rechazo tiene una especial importancia en el trasplante pulmonar porque condiciona la función del injerto y la supervivencia. Con el objetivo de reducir la incidencia de rechazo se han desarrollado inmunosupresores cada vez más potentes, que disminuyen de forma muy significativa la capacidad de respuesta del sistema inmune (Tabla 1 y Figura 5).

Tabla 1 - Principales inmunosupresores utilizados en el TOS

Fármaco	Mecanismo acción	Principales efectos secundarios
Basiliximab	Anti-CD25 (receptor de IL-2)	Fiebre y leucopenia, no efectos graves
Timoglobulina	Bloqueo de proteínas de membranas de linfocitos T	Enfermedad del suero, leucopenia
Alemtuzumab	Anti-CD52	Mielotoxicidad
Rituximab	Anti-CD20	Reactivación VHB
Glucocorticoides	Agonistas de los receptores glucocorticoides	Diabetes, hipertensión, osteoporosis
Tacrolimus	Inhibidor de la calcineurina	Nefrotoxicidad, neurotoxicidad, diabetes
Ciclosporina	Inhibidor de la calcineurina	Nefrotoxicidad, hipertensión, hirsutismo, diabetes
Micofenolato mofetilo / Ácido micofenólico	Inhibidor de la síntesis de la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa	Diarrea, mielotoxicidad
Azatioprina	Inhibidor de la síntesis de enzima inosina monofosfato deshidrogenasa	Mielotoxicidad
Sirolimus	Inhibidor de la señal IL-2	Toxicidad pulmonar, dehiscencia de sutura, nefrotoxicidad
Everolimus	Inhibidor de la señal IL-2	Toxicidad pulmonar, dehiscencia de sutura, nefrotoxicidad
IL: interleucina. CD: <i>cluster of differentiation</i> . VHB: virus de la hepatitis B		

Figura 5 - Dianas de los principales inmunosupresores utilizados en el TOS (adaptado de Halloran PF et al.⁹)



En las últimas décadas, la pauta inmunosupresora estuvo basada en una inducción inicial, en el momento del trasplante, con un fármaco deplector de linfocitos o un anti-CD25 acompañado de glucocorticoides a dosis elevadas, seguido de una pauta con tres fármacos: un inhibidor de la calcineurina (pilar de la inmunosupresión) más un fármaco de segunda línea (azatioprina o ácido midofenólico/micofenolato) y glucocorticoides. A lo largo del post-trasplante, se reducía progresivamente la dosis administrada⁹.

El rechazo se ha tratado con glucocorticoides a dosis altas o fármacos depletores de linfocitos⁹.

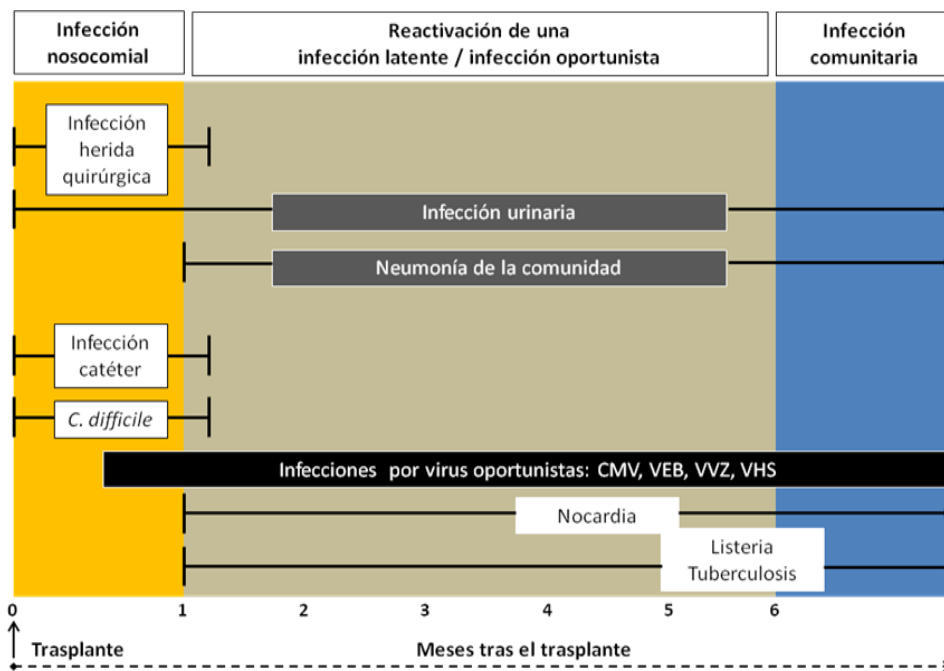
Actualmente, se están ensayando nuevas combinaciones, sin glucocorticoides, con dosis más bajas de los inhibidores de la calcineurina o basadas en fármacos m-TOR, en un intento de reducir la toxicidad asociada a los fármacos inmunosupresores y de reducir el riesgo de infección y de neoplasia a largo plazo⁹.

1.3 Infección en receptores de órgano sólido

Clásicamente, se han considerado tres 3 periodos bien definidos (Figura 6)¹⁰:

- Precoz: primer mes tras el trasplante;
- Intermedio: entre el segundo y el sexto mes tras el trasplante, ambos inclusive;
- Tardío: a partir del séptimo sexto mes tras el trasplante.

Figura 6 - Espectro de infecciones a lo largo del post-trasplante en portadores de TOS (adaptado de Fishman JA et al.¹⁰)



En el primer mes tras el trasplante las infecciones son típicamente de origen nosocomial: bacteriemias de catéter por *Staphylococcus* spp, infecciones de heridas quirúrgicas, colitis por *Clostridium difficile* o complicaciones de la propia técnica quirúrgica (fístulas de la vía biliar o bronco-pleurales, dehiscencia de suturas intraabdominales o bronquiales,...). Son también frecuentes de este periodo, las infecciones derivadas del propio donante o del líquido de preservación y por microorganismos que colonizaban al receptor antes del trasplante¹⁰.

En el periodo intermedio las infecciones oportunistas tienen más importancia: neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, reactivación de virus herpéticos como el CMV, virus varicela-zóster (VVZ), virus herpes simple (VHS) o el propio VEB, infecciones por bacterias como *Nocardia*, *Listeria monocytogenes* o *Mycobacterium tuberculosis* o por parásitos como *Toxoplasma gondii* son característicos de este periodo.

Transcurridos 6 meses desde el trasplante, con la reducción progresiva del tratamiento inmunosupresor, coexisten las infecciones comunitarias y las infecciones oportunistas tardías. Es también típica la aparición de enfermedades neoplásicas, sean tumores sólidos o síndromes linfoproliferativos, algunos asociados al VEB.

Es importante mencionar que el desarrollo de nuevos fármacos inmunosupresores y de nuevas pautas de profilaxis infecciosa en las últimas décadas han dado lugar a variaciones en la distribución temporal de las infecciones respecto del esquema clásico presentado previamente¹¹. Por ejemplo, el uso de trimetoprim-sulfametoxazol como profilaxis frente a *P. jiroveci* ha reducido de forma significativa las infecciones producidas por este hongo, mientras que el uso del ganciclovir o valganciclovir entre tres a seis meses después del trasplante como profilaxis para CMV ha desplazado la incidencia de enfermedad por este virus hacia etapas más tardías en el post-trasplante.

Cada episodio de rechazo supone un aumento de las dosis de inmunosupresores o el empleo de otras opciones más potentes de inmunosupresión. Esto conlleva un aumento considerable del riesgo de infecciones oportunistas y un desplazamiento del riesgo de infecciones oportunistas graves también hacia etapas más tardías del post-trasplante.

1.4 Infecciones específicas del trasplante de pulmón y complicaciones asociadas

El portador de trasplante pulmonar presenta características y factores de riesgo muy específicos, que le hacen susceptible de desarrollar infecciones claramente distintas a los demás portadores de TOS.

El tracto respiratorio es el área más susceptible de infectarse y la neumonía bacteriana es la complicación infecciosa más frecuente, seguida de las infecciones virales y de las fúngicas¹². El periodo más crítico para el desarrollo de infecciones está en los primeros 90 días después del trasplante.

A lo largo de todo el post-trasplante, las infecciones son las principales responsables de la mortalidad. De acuerdo con el *Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation*⁸ aproximadamente el 35,5% de las muertes entre el segundo mes y el primer año del post-trasplante son secundarias a complicaciones infecciosas.

Recientemente se ha demostrado también que ciertas infecciones de las vías aéreas predisponen al desarrollo de BOS, asociándose con una mala evolución del injerto^{12, 13}.

Tabla 2 - Factores que predisponen a la infección en el trasplante de pulmón

<p>Interrupción de la circulación bronquial Disrupción de la integridad del epitelio Función ciliar anormal Producción de esputo reducida</p>
<p>Denervación del injerto Reflejo tusígeno y respuesta bronquial reducidos</p>
<p>Disrupción del drenaje linfático</p>
<p>Complicaciones en las zonas de anastomosis del injerto Isquemia, necrosis y dehiscencia de la zona de suturas bronquiales Estenosis con retención de secreciones</p>
<p>Colonización pre-trasplante por agentes infecciosos Del pulmón nativo del receptor (principalmente en trasplantes unipulmonares) Del donante</p>
<p>Pauta inmunosupresora Disfunción de linfocitos T (inmunosupresores calcineurínicos) Disfunción de linfocitos B (micofenolato de mofetilo/ácido micofenólico) Desregulación de macrófagos y citoquinas (corticoides)</p>

1.4.1 Infecciones bacterianas

La neumonía es la complicación infecciosa más frecuente tras el trasplante. Las bacterias son los principales patógenos aislados. En un estudio multicéntrico y prospectivo realizado en España, el 82,7% de las neumonías diagnosticadas etiológicamente eran de origen bacteriana¹⁴.

Las neumonías bacterianas son más frecuentes en el primer mes del post-trasplante y la mayoría son de origen nosocomial¹⁵. En el estudio previamente mencionado el patógeno más frecuentemente aislado fue *Pseudomonas aeruginosa*, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii*.

A partir del sexto mes, las neumonías de origen comunitario ganan importancia, pese a que las neumonías nosocomiales o asociadas a cuidados sanitarios afectan al portador de trasplante pulmonar a lo largo de todo el periodo post-trasplante (los ingresos frecuentes, las revisiones en consultas y la exposición a antibióticos de amplio espectro hacen que el portador de trasplante pulmonar siempre esté expuesto a microorganismos nosocomiales, y muchas veces multirresistentes).

Otras infecciones bacterianas que se diagnostican en el trasplante pulmonar son las infecciones de la herida quirúrgica y las bacteriemias asociadas a infección de catéter de acceso vascular, principalmente producidas por bacterias de la flora cutánea, como es el caso de *Staphylococcus aureus*.

De entre las bacterias que producen infección en portadores de trasplante de pulmón, las siguientes bacterias merecen una revisión más detenida:

Pseudomonas spp. es la bacteria responsable del mayor número de neumonías tras el trasplante de pulmón. Se encuentra en casi el 40% de las neumonías diagnosticadas etiológicamente¹⁶. La colonización pre-trasplante es mayor en pacientes con FQ, razón que explica el mayor número de neumonías por *Pseudomonas* en receptores con esta enfermedad de base¹⁷. Recientemente, la colonización del tracto respiratorio por *Pseudomonas spp.* tras el trasplante se ha asociado con el desarrollo de BOS¹⁶.

Staphylococcus aureus es la bacteria grampositiva responsable de más infecciones tras el trasplante (principalmente bacteriemias asociadas a infección de catéter vascular e infecciones de la herida quirúrgica) y la bacteria que más neumonías produce después de *Pseudomonas spp.*¹³. El uso de mupirocina intranasal y de baños de clorhexidina en pacientes colonizados por *S. aureus* en el momento del trasplante demostró una reducción del 60% de infecciones nosocomiales y del 80% de infecciones de la herida quirúrgica.

Nocardia spp., es una bacteria ramificada y débilmente ácido-alcohol-resistente que puede producir infecciones graves en portadores de trasplante de pulmón. La mortalidad directamente atribuible a este patógeno alcanza el 30,0%¹². Clásicamente, se presenta en forma de nódulos pulmonares, aunque es capaz de afectar a prácticamente todos los órganos y aparatos. El diagnóstico de una infección pulmonar por *Nocardia* siempre obliga a la realización de una resonancia magnética cerebral, dado la tendencia que tiene a producir abscesos cerebrales de progresión lenta y paucisintomáticos. El tratamiento de elección para *Nocardia* es trimetoprim-sulfametoxazol (10-15 mg/kg/día). Como tratamientos alternativos se puede emplear imipenem, tigeciclina, linezolid o quinolonas. Es importante mencionar que las dosis utilizadas de trimetoprim-sulfametoxazol para la profilaxis de *Pneumocystis jiroveci* son claramente insuficientes para la prevención de infecciones por *Nocardia*¹⁸.

Burkholderia cepacia está asociada a infecciones graves y de mal pronóstico. Dentro de la familia *B. cepacia*, las especies que más infecciones producen son *B. cenocepacia* (previamente conocida como genomovar III) y *B. multivorans*¹⁶. La mayoría de los receptores colonizados por estos gérmenes en el momento del trasplante presentan re-infección por la misma especie a lo largo del post-trasplante, desarrollando neumonía, invasión local con empiema y diseminación con bacteriemia. Se ha demostrado que los pacientes infectados por *B. cenocepacia* presentan una peor evolución¹⁹, con mayor mortalidad al año del trasplante que pacientes no infectados o infectados por otras especies de *B. cepacia* (ocho veces y seis veces mayor, respectivamente)²⁰. Algunos centros consideran que la colonización pre-trasplante por *B. cenocepacia* es una contraindicación absoluta para el trasplante, aunque en nuestro centro se considere como una contraindicación relativa. Se debe de tener mucha precaución a la hora de identificar especies pertenecientes al grupo *Burkholderia*, dada la elevada tasa de fallos en la identificación y su potencial impacto en la supervivencia del paciente. Meropenem junto con tobramicina es el tratamiento de elección.

Todos los candidatos a trasplante pulmonar deberán ser evaluados para infección latente por ***Mycobacterium tuberculosis*** con un test de tuberculina y una radiografía de tórax²¹. El uso de profilaxis pre-trasplante ha disminuido de forma importante la

incidencia de infecciones por *M. tuberculosis*¹⁶. En una reciente publicación de la Red Española de Investigación de la Infección en el Trasplante (RESITRA), el 71,0% de los receptores de un trasplante pulmonar que desarrollaron tuberculosis activa post-trasplante no habían realizado *screening*, frente al 0,9% que sí habían realizado *screening*²².

La frecuencia de infecciones por micobacterias atípicas se cifra entre un 3,0% y un 9,0%^{23, 24}. Es mayor en pacientes con FQ (13,0 - 15,0%), dado que el riesgo de desarrollar enfermedad por estas bacterias se asocia principalmente con la colonización pre-trasplante (es seis veces mayor en receptores colonizados antes del trasplante que pacientes no colonizados). *Mycobacterium abscessus*, debido a su alta resistencia y dificultad de curación, produce infecciones graves en receptores de trasplante de pulmón, específicamente enfermedad del injerto, que se puede acompañar de diseminación a distancia¹². Hoy en día se recomienda iniciar la terapia de erradicación para las micobacterias atípicas antes del trasplante y continuar tras el mismo²⁵.

1.4.2 Infecciones víricas

El portador de trasplante de pulmón es particularmente susceptible de sufrir infecciones virales por CMV, virus respiratorios y VEB. Además de producir enfermedad, estos virus se asocian también con un aumento del riesgo de rechazo y de evolución a BOS, con una reducción de la vida media del injerto^{12, 13}.

CMV es un virus que causa una gran morbilidad en el trasplante de pulmón y constituye la principal causa de infección oportunista que se diagnostican en este tipo de trasplante^{26, 27}. Su incidencia es mucho mayor que en otros tipos de TOS¹².

La infección ocurre más frecuentemente entre el tercer y el sexto mes del post-trasplante. El riesgo disminuye progresivamente a partir del primer año tras el trasplante, excepto en los casos en que se vuelve a aumentar la inmunosupresión (por ejemplo, pacientes tratados para rechazo agudo o crónico).

Se reserva el término de “infección por CMV” para todos los casos en que se detecta replicación viral asintomática. “Enfermedad por CMV” indica que además de replicarse, el virus produce síntomas, sea en forma de síndrome viral (cuadro que remeda un síndrome mononucleósico con fiebre, astenia intensa y mialgias) o una afectación de órgano diana (neumonitis, hepatitis, enteritis,...)²⁸.

Aunque el trasplante de pulmón se considere en general como un trasplante de alto riesgo para desarrollar infecciones por CMV, son particularmente susceptibles los receptores seronegativos para CMV antes del trasplante (R-) que reciben injertos de donantes seropositivos (D+/R-)²⁹. Por otro lado, se considera que receptores seronegativos para CMV que reciben injertos de donantes seronegativos tienen muy bajo riesgo de sufrir infecciones por CMV (D-/R-). Receptores seropositivos (R+) que reciben injertos de donantes seropositivos o seronegativos (D+/R+ o D-/R+) presentan un riesgo intermedio de infección por CMV¹².

La pauta de profilaxis post-trasplante varía de forma importante entre centros. Muchos centros realizan profilaxis universal con un antiviral activo frente a CMV durante varios meses en todos los trasplantes pulmonares en riesgo (D+/R-, D-/R+ y D+/R+). En otros centros, para casos de R+ en el momento del trasplante, se prefiere una monitorización semanal o bisemanal de la presencia de CMV en sangre mediante antigenemia pp65 o medición de la carga viral. En estos casos, sólo se inicia el tratamiento antiviral si se detecta replicación viral.

Los antivirales de primera elección empleados tanto para la profilaxis como para el tratamiento de CMV son ganciclovir intravenoso y valganciclovir por vía oral^{12, 13}. Valganciclovir es un profármaco de ganciclovir³⁰. Para ambos antivirales, la dosis empleada para tratamiento es el doble que la dosis utilizada para profilaxis. La inmunoglobulina específica para CMV es utilizada por algunos grupos como profilaxis en pacientes de alto riesgo¹³. Los principales efectos adversos del ganciclovir y valganciclovir son la neutropenia, la trombopenia y la nefrotoxicidad²⁹.

Los **virus respiratorios** incluyen principalmente al virus de la Gripe, virus respiratorio sincitial (VRS), parainfluenza, rinovirus, coronavirus, metapneumovirus y adenovirus³¹. Se han asociado con un aumento del riesgo para desarrollar BOS³¹.

La infección por el virus de la Gripe en el trasplante de pulmón, se asocia con un aumento del riesgo de progresión de la infección a las vías respiratorias inferiores y al parénquima pulmonar, con sobreinfección bacteriana o fúngica acompañante¹². Esto conlleva a un aumento importante de la mortalidad en estos pacientes. Se han descrito casos de transmisión del virus de la Gripe desde el donante al receptor de un trasplante pulmonar^{32, 33}.

Es muy importante una correcta vacunación anual frente a virus de la Gripe, tanto del receptor como de sus convivientes, con la intención de reducir el riesgo de desarrollar esta enfermedad³¹. En caso de sospecha clínica de infección por virus de la Gripe, está indicado iniciar tratamiento precoz con un inhibidor de la neuraminidasa (oseltamivir o zanamivir)³⁴. En muchas ocasiones, al tratamiento antiviral, se asocian antibióticos para cubrir la posible sobreinfección bacteriana.

El VRS, al igual que el virus de la Gripe, es capaz de producir en trasplantados de pulmón formas graves de neumonía, con aumento de la mortalidad y lesión del parénquima del injerto¹². Las recomendaciones para su prevención son similares a las de la gripe: higiene de manos, cortesía del estornudo, evitar lugares hacinados, evitar contacto con niños o adultos acatarrados.... El tratamiento fundamental es el de soporte, asociado a tratamiento antibiótico para evitar la sobreinfección bacteriana en caso de afectación de vías respiratorias inferiores (traqueobronquitis) o del propio parénquima pulmonar (neumonía). Ribavirina ha demostrado actividad *in vitro* frente a VRS, y en algunos estudios se ha demostrado su utilidad clínica en portadores de trasplante de pulmón (ya sea administrada por vía oral, inhalada o intravenosa). Se trata de un fármaco con múltiples efectos secundarios graves que limitan su empleo rutinario^{35, 36}. Hay estudios prometedores en marcha en trasplantados pulmonares con otros fármacos activos frente a VRS³⁷ y vacunas frente a este virus³⁸.

1.4.3 Infecciones fúngicas

Entre un 15 y un 35% aproximadamente de los trasplantados pulmonares desarrollan infecciones fúngicas, que suponen la tercera causa de infecciones en este grupo de trasplantes³⁹. Pese al empleo cada vez más extendido de profilaxis

antifúngica dirigida frente a los hongos filamentosos, las infecciones producidas por éstos predominan frente a las producidas por levaduras⁴⁰. Las infecciones fúngicas tienen una alta mortalidad y se correlacionan con una peor evolución del injerto³⁹.

La **aspergilosis pulmonar invasiva** (API) es la infección fúngica más frecuente en el trasplante de pulmón, supone el 44% de todas las infecciones fúngicas de estos pacientes⁴⁰. La infección es adquirida por vía inhalatoria, lo que justifica su preferencia por el tracto respiratorio. Los factores de riesgo para desarrollar API son la colonización pre-trasplante (más frecuente en pacientes con fibrosis quística), la colonización post-trasplante, dosis elevadas de fármacos inmunosupresores (rechazo agudo, rechazo crónico,...), disfunción renal e infección previa por CMV^{41, 42}. *Aspergillus fumigatus* es la especie responsable del mayor número de infecciones, seguida de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*⁴⁰.

La API implica invasión del parénquima pulmonar. El tiempo medio entre el trasplante y el desarrollo de API es de aproximadamente 500 días⁴³. Este retraso en la aparición de la infección es seguramente secundario al uso universal de profilaxis antifúngica frente a *Aspergillus* en trasplante pulmonar³⁹. Los síntomas clínicos y los hallazgos radiográficos iniciales son muchas veces inespecíficos⁴⁰, aunque pueden evolucionar a la producción de cuadros de hemoptisis grave acompañada de disnea de reposo. La supervivencia las 12 semanas se cifra actualmente en el 65,0% aproximadamente⁴⁴, pero son de especial gravedad las formas diseminadas, que tienen un especial tropismo por el sistema nervioso central.

La traqueobronquitis por *Aspergillus* es una forma de presentación de la infección prácticamente exclusiva del trasplante de pulmón entre los portadores de TOS³⁹. Principalmente, se caracteriza por la afectación de las zonas sutura dentro de la vía aérea, aunque las formas no tratadas evolucionarán hacia API. El tiempo medio de presentación es de aproximadamente 50 días tras el trasplante y se ve favorecido por la isquemia que se produce en la zona de la sutura traqueal⁴⁵. Existen tres formas de presentación: ulcerativa, nodular y pseudomembranosa. Las formas ulcerativas se caracterizan por la afectación de las zonas de sutura, las formas nodulares por la existencia de mamelones fúngicos que obstruyen la vía aérea mientras que la forma pseudomembranosa se caracteriza por un tapizado infeccioso que recubre el tracto

respiratorio. La clínica suele ser inespecífica y muchos receptores son diagnosticados al realizarse las fibrobronoscopias de control, cuando están todavía asintomáticos. Las complicaciones incluyen la estenosis de zonas anastomóticas, dehiscencia de suturas y hemoptisis. La mortalidad alcanza un 20%⁴⁵.

El diagnóstico de la infección por *Aspergillus* se realiza, por consenso, mediante los criterios de la *European Organization on Research and Treatment in Cancer and the Mycoses Study Group* (EORTC/MSG)⁴⁶.

Tabla 3 - Resumen de los criterios de API probada y probable según la EORTC/MSG

<p>API Probada</p> <p>Observación histológica o citológica de un espécimen compatible con <i>Aspergillus</i> y que se acompaña de un claro daño tisular</p> <p>Cultivo de hongo filamentoso de una muestra normalmente estéril y clínica o radiológicamente compatible con un proceso infeccioso</p>
<p>API Probable</p> <p>Requiere la presencia de un factor de riesgo, de un criterio clínico y de uno radiológico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Factor de riesgo: uso prolongado de corticoides (0,3 mg/Kg/día durante más de 3 semanas), tratamiento con fármacos supresores de linfocitos T en los últimos 3 meses, trasplante de médula ósea... • Criterios clínicos: signo del halo o cavitación en TAC de tórax, traqueobronquitis ulcerada, nodular o pseudomembranosa, infección nasosinusal... • Criterios microbiológicos: cultivo del hongo en esputo, lavado broncoalveolar (LBA) o detección de galactomanano en plasma, suero, LBA, líquido cefalorraquídeo o de β-D-glucano en suero

Aunque las pruebas radiológicas sean imprescindibles para el diagnóstico de API, no son útiles en el caso de una afectación traqueobronquial. Ésta requiere, para la confirmación diagnóstica, de la realización de una fibrobronoscopia.

El tratamiento de la API se basa, por una parte, en la reducción del nivel de inmunosupresión (siempre que esto sea posible), y, por otra parte, en el empleo de antifúngicos. Actualmente voriconazol es el antifúngico de elección^{13, 39}. La duración del tratamiento no está bien establecida, pero se recomienda un mínimo 12 semanas³⁹, dependiendo de la inmunosupresión del recipiente, otras comorbilidades asociadas y respuesta al tratamiento. La afectación traqueobronquial, además de lo anteriormente descrito, suele requerir excisión y limpieza broncoscópica. Los efectos adversos más frecuentes asociados al voriconazol son la interacción con los

anticalcineurínicos, elevación de las transaminasas, fotosensibilidad y el síndrome confusional⁴⁷.

La profilaxis antifúngica post-trasplante varía de centro a centro⁴⁸. Las pautas más frecuentemente utilizadas son voriconazol, anfotericina B inhalada e itraconazol⁴⁸. Anfotericina B inhalada permite una administración directa del antifúngico al injerto, evitando al mismo tiempo efectos sistémicos e interacciones con otros fármacos. El itraconazol en forma de cápsulas tiene como inconveniente una biodisponibilidad errática, un problema que aparentemente se ha reducido con la administración en forma de solución oral⁴⁸.

Dentro de la especie ***Candida***, es *Candida albicans* la responsable del mayor número de infecciones, pese a que en los últimos años se esté observando un aumento de la incidencia de otras especies de *Candida*⁴⁹. Puede diagnosticarse en cualquier momento del post-trasplante, pero típicamente ocurre en los primeros 30 días. Está directamente relacionada con el grado de colonización del donante y receptor¹². Se manifiesta desde una infección mucocutánea leve hasta una traqueobronquitis moderada (principalmente afectando de las zonas de sutura) o una enfermedad invasiva con candidemia acompañante (la candidemia se asocia frecuentemente con los procedimientos quirúrgicos y con la estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos, en relación con el empleo de catéteres venosos centrales)^{12, 13}. Sin embargo, la infección del parénquima pulmonar por esta levadura es poco frecuente¹².

Tras el diagnóstico, se puede iniciar tratamiento empírico con fluconazol, aunque normalmente se suele reservar este antifúngico para casos de enfermedad leve, para pacientes no neutropénicos y para casos en que el riesgo de infección por *C. glabrata* y *C. krusei* es bajo. En los demás casos, se suele pautar una equinocandina o anfotericina B hasta obtener la identificación y la sensibilidad de la levadura. Para infecciones producidas por *C. albicans* y *C. parapsilosis*, fluconazol suele ser efectivo. En caso de infecciones por *C. glabrata* y *C. krusei*, se recomienda el tratamiento con una equinocandina. Dado que anfotericina B presenta una toxicidad renal importante, actualmente se suele reservar este antifúngico para casos de fracaso de tratamiento con azoles o equinocandinas, situaciones en que la *Candida* aislada sea resistente a estos antifúngicos y para pacientes que presenten intolerancia a otro tipo de

antifúngicos¹³. La mortalidad asociada a las infecciones invasivas se cifra en más del 50%¹².

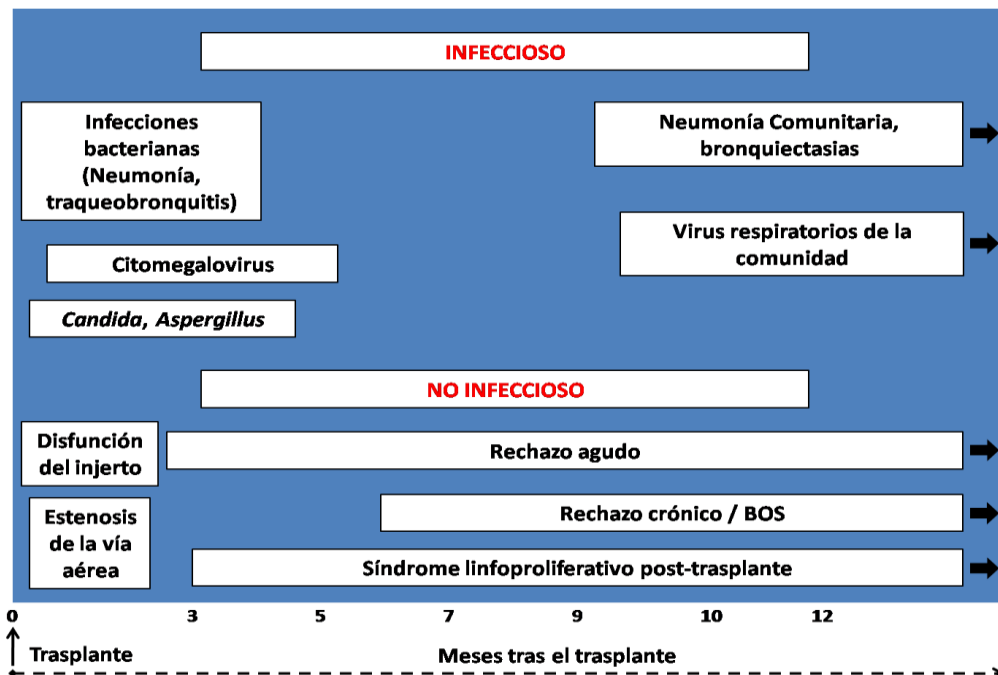
Scedosporium es un hongo filamentoso septado similar a *Aspergillus*. Se conocen dos especies capaces de producir infecciones en humanos: *S. apiospermum* y *S. prolificans*. *S. apiospermum* frecuentemente produce infecciones en trasplantados de pulmón, mientras que *S. prolificans* típicamente afecta a trasplantados de médula ósea y pacientes neutropénicos³⁹. Producen queratits/endoftalmitis de origen traumática en pacientes inmunocompetentes, pero en trasplantados de pulmón pueden infectar el injerto y originar una enfermedad diseminada. Voriconazol es el antifúngico de elección en el caso de infecciones producidas por *S. apiospermum*. *S. prolificans* es más difícil de tratar: en algunos casos se ha obtenido éxito terapéutico con la asociación de voriconazol y terbinafina^{50, 51}. Son intrínsecamente resistentes a anfotericina B. La mortalidad es aproximadamente del 54% y del 78% para *S. apiospermum* y *S. prolificans*, respectivamente⁵².

Fusarium es un hongo ubicuo. Las dos especies que más frecuentemente producen infecciones en humanos son *F. solani* y *F. oxysporum*⁵³. Al igual que *Scedosporium*, en pacientes inmunocompetentes, suele producir queratitis traumáticas o asociadas a lentillas de contacto. En el caso de enfermos con neutropenia prolongada por neoplasias hematológicas o que han recibido un trasplante de médula ósea, *Fusarium* es capaz de producir una enfermedad invasiva con fungemia acompañante. Es el hongo filamentoso que más frecuentemente se aísla en los hemocultivos. Las infecciones por *Fusarium* son infrecuentes en el caso del TOS. Solamente se han descrito nueve casos en el caso del trasplante de pulmón⁵⁴. En el caso del trasplante pulmonar suele producir infecciones primarias pulmonares con diseminación posterior³⁹. La mortalidad es de aproximadamente el 34,0%, pese al tratamiento antifúngico. Anfotericina B es considerado como el antifúngico de elección, acompañado de una reducción de la inmunosupresión, siempre que sea posible. Recientemente se han publicado varios casos describiendo una buena evolución de infecciones producidas por *Fusarium* tratadas con voriconazol⁵⁵.

La **mucormicosis** incluye a las especies *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cunninghamella*, *Apophysomyces* y *Saksenaea*³⁹. Son responsables del 2,0% de las infecciones fúngicas en TOS según la base de datos Transplant-Associated Infections Surveillance Network (TRANSNET)⁴⁰. Se han publicado siete casos de infección en el trasplante pulmonar hasta este momento³⁹. En cinco de los casos existía afectación pulmonar, mientras que en los demás casos la infección era seno-orbital y cutánea. Anfotericina B (5 mg/kg/día) es el tratamiento de elección. La mortalidad descrita por mucormicosis en TOS es del 49,0%, pero puede ser de casi 90,0% en caso de afectación cerebral o en formas diseminadas³⁹.

La incidencia de infecciones producidas por *Pneumocystis jiroveci* ha disminuido de manera considerable tras la introducción del tratamiento profiláctico con trimetoprim-sulfametoxazol o con pentamidina inhalada^{12, 13}. La infección responde bien al tratamiento con dosis elevadas de trimetoprim-sulfametoxazol, acompañado de un aumento de la dosis administrada de corticoides, principalmente indicada en casos de hipoxemia moderada-grave¹³.

Figura 7- Complicaciones infecciosas y no infecciosas tras el trasplante de pulmón



1.5. El Virus de Epstein-Barr

El VEB es un miembro de la familia de los virus herpes gamma, ampliamente diseminado en la población mundial (entre el 90 y el 95% de los adultos son seropositivos)⁵⁶. A lo largo de los siglos, este virus co-evolucionó en paralelo con el ser humano, adaptando su ciclo viral al ciclo de las células humanas, lo que le permitió transformarse en uno de los mejores “parásitos” de nuestras células⁵⁶.

El genoma del VEB consiste en una molécula de ADN bicatenario con una longitud aproximada de 172 kb⁵⁷, rodeado por una cápside. La cápside está rodeada por un tegumento de proteínas, que a su vez está englobada en una envoltura glicoproteica. Se pueden diferenciar dos subtipos principales: tipo 1 y tipo 2⁵⁶. Estos dos subtipos se diferencian en los genes Epstein-Barr virus nuclear antigen (EBNA)-2, EBNA-LP y EBNA-3, genes que se asocian con la latencia del VEB. El tipo 1 es dominante en casi todo el mundo, pero los dos tipos son igualmente prevalentes en África y Papúa Nueva Guinea⁵⁸. Los dos subtipos producen un cuadro clínico similar.

El VEB se transmite principalmente a través del contacto íntimo entre sujetos susceptibles y sujetos sintomáticos o asintomáticos con infección previa reciente que liberan el virus a través de la saliva⁵⁹. La mayoría de las infecciones ocurren a través del beso⁵⁹. La transfusión de sangre, en la que se transfunden linfocitos B del donante infectados por VEB a un receptor, y el TOS son otras vías de transmisión de este virus, aunque mucho menos frecuentes⁵⁶.

Tabla 4 - Mecanismos a través de los cuales el VEB establece y mantiene la infección (adaptado de Thorley-Lawson et al.⁶⁰)

Linfocito B infectado	Fase	Gen	Resultado
Linfocito B <i>naïve</i>	Crecimiento	EBNA1 al EBNA6 LMP-1, LMP-2a, LMP-2b	Activa al linfocito B
Linfocito B del centro germinal	-----	EBNA-1, LMP-1, LMP-2a	Diferencia el linfocito B activado en una célula memoria
Célula memoria en sangre periférica	Latencia	Ninguno	Latencia viral

Célula memoria dividiéndose	Replicación de genoma viral	EBNA-1	Permite división del DNA viral en fase de latencia
Célula plasmática	Fase lítica	Todos genes líticos	Replicación viral en células plasmáticas

Al igual que otros miembros de la familia herpes, el VEB se caracteriza por presentar dos fases de infección. Por una parte una fase de latencia, en la que es capaz de perpetuarse en el interior de linfocitos B, linfocitos T, células epiteliales y miocitos. Por otra parte una fase lítica, que se caracteriza por replicación y transmisión viral⁶⁰. Hoy en día, se considera que tras la transmisión inicial existe una fase lítica con replicación viral en el epitelio amigdalor y posterior infección de los linfocitos B *naïve* o una infección directa de los linfocitos B *naïve* a nivel del anillo de Waldeyer. El VEB activa estos linfocitos para transformarse en linfocitos B activados y posteriormente en células de memoria. Estas células de memoria, al sufrir divisiones mitóticas, solamente expresan EBNA-1. En condiciones favorables, estas células de memoria se pueden diferenciar en células plasmáticas, reactivando la replicación viral (Figuras 8 y 9). Todas las células de este ciclo son susceptibles de ser eliminadas por el sistema inmune, a excepción de las células de memoria, en las que el virus es quiescente. Este equilibrio es mantenido por los linfocitos T citotóxicos, capaces de reconocer y eliminar a las células infectadas, y por los anticuerpos que neutralizan al VEB⁶⁰.

Figura 8 - Mecanismos de infección del VEB (tomado de Thorley-Lawson et al.⁶⁰)

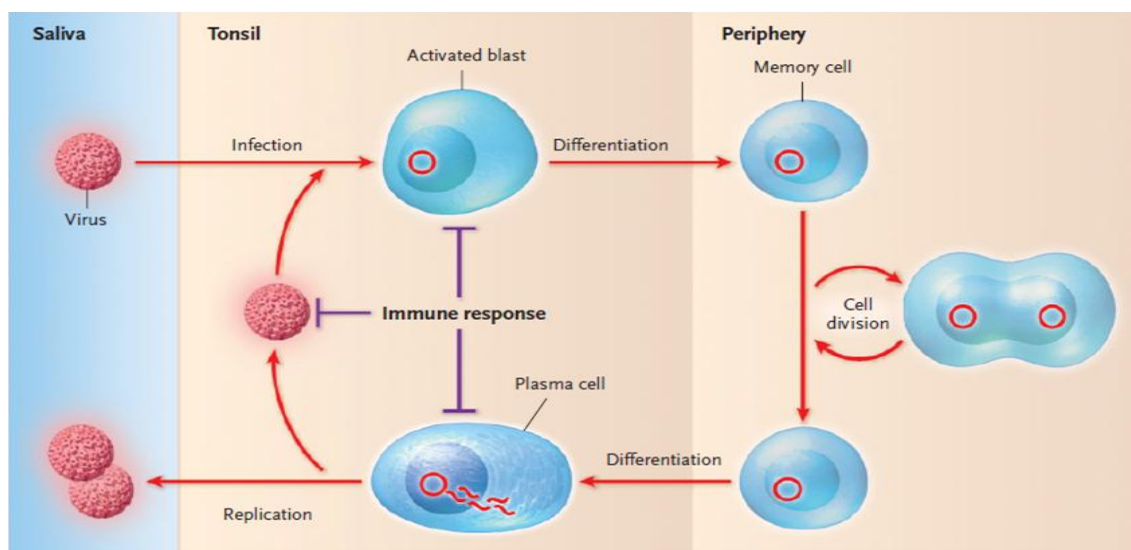
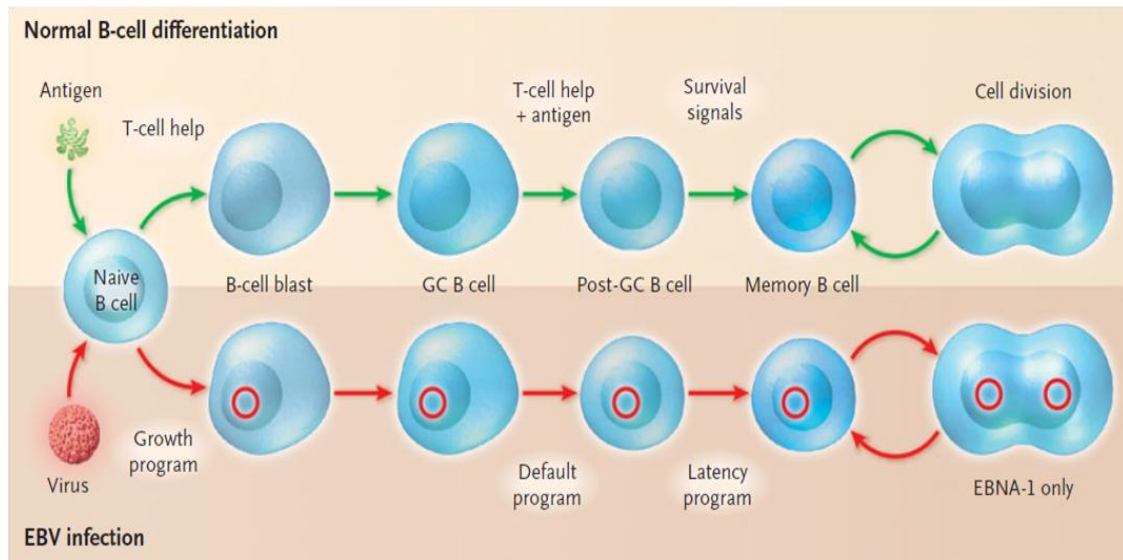


Figura 9 - Ciclo viral en los linfocitos B (tomado de Thorley-Lawson et al.⁶⁰)



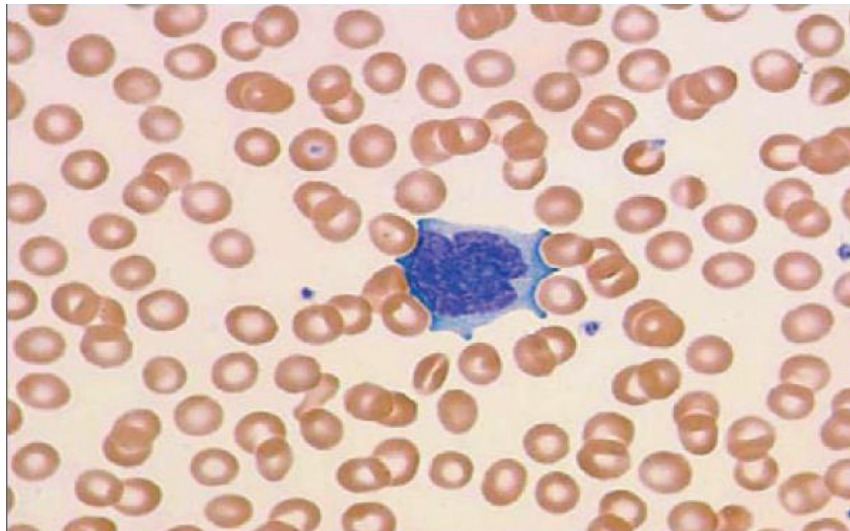
1.5.1 Infecciones producidas por el VEB: la mononucleosis infecciosa

La primoinfección por VEB es rara en el primer año de vida, principalmente por la elevada seroprevalencia materna y el paso de anticuerpos maternos con efecto protector al recién nacido⁵⁷. En los países en desarrollo y grupos socioeconómicos más desfavorecidos, la mayoría de las infecciones por VEB ocurren en la primera infancia. En los países industrializados y grupos socioeconómicos más elevados, la mitad de la población se infecta entre el año y los cinco años de vida, y otro gran porcentaje se infecta en la segunda década de la vida^{56, 57}. Las infecciones que ocurren en los primeros años de vida suelen pasar desapercibidas y los síntomas típicos de mononucleosis infecciosa (MI) son poco frecuentes⁵⁶.

La MI afecta principalmente a sujetos que entran en contacto por primera vez con el VEB durante o tras la segunda década de la vida⁵⁷. Dada la importante mejoría de las condiciones económicas y sanitarias de las últimas décadas, la primoinfección está disminuyendo en la primera infancia y cada vez más jóvenes llegan a la adolescencia sin haberse infectado por VEB^{56, 57}.

La MI se caracteriza clínicamente por fiebre, faringitis, adenopatías mayoritariamente cervicales, astenia (que puede ser persistente y grave) y linfocitosis atípica en sangre periférica.

Figura 10 - Linfocito atípico en un paciente diagnosticado de MI (tomado de Luzuriaga et al.⁵⁷)

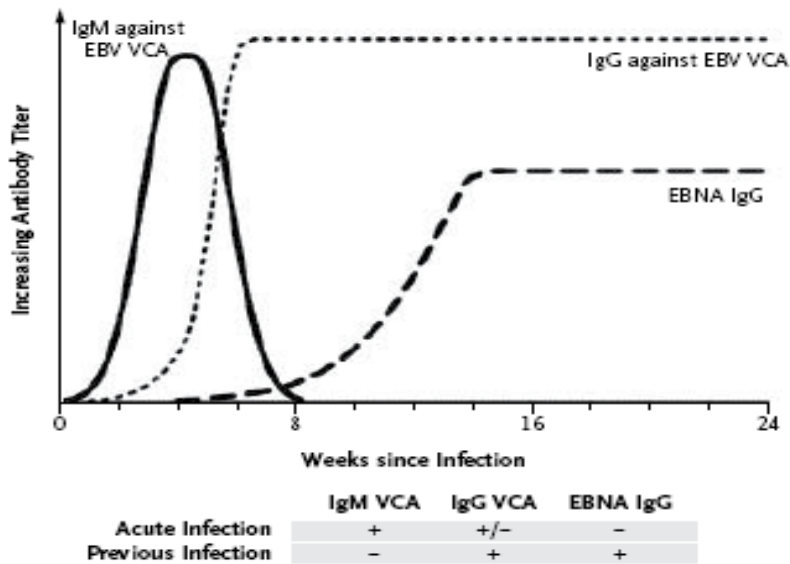


La mayoría de los síntomas remite entre una y dos semanas desde el inicio del cuadro clínico, aunque la astenia pueda persistir durante seis o más meses. Algunos pacientes pueden desarrollar complicaciones agudas graves, que van desde alteraciones hematológicas (anemia hemolítica o aplasia medular [con o sin síndrome hemofagocítico linfohistiocítico], trombocitopenia y coagulación intravascular diseminada), neurológicas (síndrome Guillán-Barré, parálisis facial, meningitis aséptica o cerebritis y mielitis), rotura esplénica (0,5 a 1% de los casos) y obstrucción de la vía aérea (1% de los pacientes)⁵⁷. Se han descrito casos de hepatitis fulminante⁵⁷.

El diagnóstico suele basarse en el reconocimiento de la presentación clínica, en la visualización de linfocitos atípicos en un frotis de sangre periférica y en el test de anticuerpos heterófilos o de Paul-Bunnell positivo. El diagnóstico definitivo de infección por el VEB requiere de un estudio serológico. La presencia de IgM contra la cápside viral (IgM anti-VCA) es prácticamente diagnóstico de primoinfección (estos anticuerpos desaparecen entre cuatro y ocho semanas). La IgG frente a la cápside viral (IgG anti-VCA), que suele estar presente en el momento de la presentación clínica,

persiste a lo largo de la vida. Los anticuerpos contra el antígeno nuclear (IgG anti-EBNA), suelen aparecer entre las seis y las doce semanas y persisten a lo largo de toda la vida (su positividad prácticamente excluye infección aguda).

Figura 11 - Evolución serológica de la primoinfección por VEB (tomado de Luzuriaga et al.⁵⁷)



El tratamiento se dirige principalmente al control de los síntomas utilizando paracetamol o antiinflamatorios no esteroideos (AINE). El uso de corticoides no aporta un gran beneficio en pacientes con MI no complicada y se reservan para casos de obstrucción de la vía aérea, anemia hemolítica o trombocitopenia autoinmune^{56, 57}. Los antivíricos no han demostrado ser eficaces dado que los síntomas son secundarios a la propia respuesta del sistema inmune, con una gran producción de citoquinas por los linfocitos CD8, y no por una acción directa del propio VEB⁵⁶.

La infección crónica activa por VEB es un síndrome poco frecuente⁵⁶, caracterizado por la persistencia o recurrencia de los síntomas típicos de MI y por la detección de cargas virales altas de este virus en sangre periférica. Habitualmente los anticuerpos IgM e IgG anti-VCA persisten elevados y existe una incapacidad para producir el anticuerpo IgG anti-EBNA. Presenta una elevada mortalidad a medio-largo plazo al asociarse al desarrollo de complicaciones como fracaso hepático, linfoma, sepsis y síndrome hemofagocítico⁵⁶.

1.5.2 VEB y su relación con las enfermedades neoplásicas

El VEB se ha asociado con una serie de linfomas (linfoma de tipo Burkitt, linfoma de tipo Hodgkin, linfomas de células T) y tumores sólidos (carcinoma nasofaríngeo y otros tumores sólidos de cabeza y cuello)⁶⁰. En el TOS, el VEB también se ha asociado con la aparición de distintos linfomas, agrupados en lo que se denomina síndrome linfoproliferativo post-trasplante (SLPT).

El **linfoma de tipo Burkitt** (LB) es la enfermedad maligna más frecuente en niños de África ecuatorial (más del 95,0% de los niños africanos ya han sido infectados por el VEB antes de los tres años)⁶¹. Estudios de células tumorales del LB endémico han mostrado contener copias del genoma del VEB con mucha más frecuencia que en LB esporádico diagnosticados en zonas con baja incidencia (>95% versus 15% a 20%)⁶². El estudio del mismo genoma demostró que los LB se originan de una única línea de células B infectadas por VEB.

Hoy se sabe que una gran parte de las células tumorales del **linfoma de tipo Hodgkin** contienen genoma de VEB⁶³. Se postula que un linfocito B activado en el centro germinal no evolucionaría a una célula de memoria. Los genes LMP-1 y LPM-2 virales permitirían el crecimiento y la supervivencia de la células tumorales^{64, 65}.

Los linfocitos T son también susceptibles de ser infectados por el VEB. Varios **linfomas T** han sido detectados en pacientes con infección crónica por VEB y una forma fulminante y mortal fue descrita tras un episodio de MI⁶⁶. Además, varios genes de VEB como el EBNA-1, LMP-1 y LPM-2 han sido detectados en células malignas de linfomas tipo T.

El **carcinoma nasofaríngeo** es una de los cánceres más frecuentes en sureste de China, con una incidencia de 55 por 100.000 habitantes⁶⁷. La descripción del genoma de VEB en células clonales pre-malignas, tal como la displasia nasofaríngea o el carcinoma *in situ*, indica que la proliferación de células inducida por el VEB precede a la fase invasora de estos tumores. Al igual que en los linfomas T, las células tumorales

del carcinoma nasofaríngeo también expresan un subgrupo de proteínas de VEB, incluyendo EBNA-1, LMP-1 y LMP-2⁶⁸. Hoy en día se considera que la presencia del LMP-1 es un requisito para la completa transformación neoplásica⁶⁹.

1.5.3 VEB y su relación con el TOS: el síndrome linfoproliferativo post-trasplante

El SLPT es una de las complicaciones asociadas al VEB más graves en los portadores de TOS^{70, 71}. Corresponde a un grupo heterogéneo de síndromes linfoproliferativos que ocurre entre un 3,0% a 10,0% de los portadores de TOS adultos, pero que es responsable de más de la mitad de todas las enfermedades malignas post-trasplante en el TOS pediátrico¹⁰. Su incidencia en adultos portadores de trasplante pulmonar está entre el 2,8% y 8,0%⁷². Su presentación abarca desde una proliferación policlonal de linfocitos B hasta un síndrome linfoproliferativo monoclonal altamente maligno. Los factores de riesgo para el desarrollo del SLPT incluyen la primoinfección por VEB tras el trasplante (receptores seronegativos en el momento del trasplante que reciben injertos de donantes seropositivos), rechazo del injerto y coinfección por el CMV.

Tabla 5 - Principales factores de riesgo para SLPT en el TOS (tomado de Allen et al.⁷¹)

<p>SLPT precoz (primer año del trasplante)</p> <ul style="list-style-type: none"> Infección primaria por VEB Tipo de órgano trasplantado Inducción con OKT3 u otros tipos de anticuerpos anti-linfocitos Receptores de menor edad (niños, por ejemplo) Discordancia serológica para CMV entre donante y receptor o enfermedad por CMV
<p>SLPT tardío (tras el primer año del trasplante)</p> <ul style="list-style-type: none"> Duración del tratamiento inmunosupresor Tipo de órgano trasplantado Recipientes con mayor edad (adultos)
<p>El riesgo de SLPT es máximo en el trasplante intestinal (32%), mientras que el riesgo de desarrollar SLPT en el trasplante pulmonar es considerado como moderado (3 - 12%)</p>

Más del 90,0% de los linfocitos B asociados al SLPT precoz presentan genoma de VEB. La relación entre este virus y el SLPT es compleja, pero se piensa que está asociada con la capacidad del VEB para transformar e inmortalizar a los linfocitos B⁷¹.

El retraso en el desarrollo de la respuesta inmune en el caso de una primoinfección en trasplantados pulmonares en el periodo precoz permitiría prolongar la infección en los linfocitos B *naïve*, una mayor latencia de las células memoria y reactivaciones con replicación viral⁷¹. Esto resultaría en una mayor carga viral con infección masiva de los linfocitos B y de las demás células (linfocitos T, NK, células B de memoria). La inmunomodulación causada directamente por las proteínas del VEB, así como por otras infecciones, y los fármacos inmunosupresores alterarían la supervivencia y la proliferación de las células infectadas y la respuesta de los linfocitos T citotóxicos VEB-específicos⁷¹.

Los TOS más susceptibles de desarrollar SLPT son los portadores de intestinal, cardiaco y pulmonar, muy probablemente relacionado con el tratamiento inmunosupresor más potente que se utiliza en estos receptores. El SLPT que se desarrolla en el primer año post-trasplante típicamente presenta una proliferación de linfocitos B, mientras que el SLPT tardío típicamente es secundario a una proliferación de linfocitos T y tiene peor pronóstico⁷¹.

Tabla 6 - Distintas neoplasias asociadas al SLPT (tomado de Allen et al.⁷¹)

<p>Presentación inicial Hiperplasia plasmocítica Biopsia ganglionar compatible con mononucleosis infecciosa</p> <p>Proliferación policlonal</p> <p>Proliferación monoclonal</p> <p>Linfoma de linfocitos B Linfoma difuso de células B grandes Linfoma de tipo Burkitt Mieloma de células plasmáticas</p> <p>Linfoma de linfocitos T Linfoma periférico de células T Linfoma T hepatoesplénico</p> <p>Linfomas de tipo Hodgkin clásicos</p>
--

El diagnóstico se basa en la medición de las cargas virales de VEB, citometría de flujo celular, estudio de monoclonalidad de las cadenas de inmunoglobulinas y estudio inmunohistoquímico para VEB en las biopsias⁷³.

El tratamiento sigue siendo un reto y no existe consenso con respecto a ninguna pauta⁷⁴. El paso inicial es la reducción de la inmunosupresión, pero su efectividad es ampliamente variable (0,0% - 73,0%) y siempre existe el riesgo de rechazo agudo⁷⁴.

Algunos autores también sugieren el cambio a regímenes inmunosupresores basados en mammalian Target of Rapamycin (m-TOR), aunque la información sea todavía escasa. Ganciclovir también se utiliza en el tratamiento de esta entidad, pero el uso de este antivírico en monoterapia no está indicado. Rituximab, un anticuerpo monoclonal anti-CD20, forma parte del tratamiento estándar, sea en monoterapia o en combinación con quimioterapia, combinándose con distintas pautas de quimioterapia como CHOP, ACVBP y ProMACE CytoBOM⁷¹. La cirugía puede ser curativa en SLPT localizados. Pese a los recientes tratamientos con fármacos anti-CD20, como rituximab, así como de los tratamientos quimioterápicos y radioterápicos, la remisión completa varía entre el 42,0% y el 92,0%⁷¹.

Un tratamiento en desarrollo es la terapia adoptiva de células T, en la que se transfunden al receptor linfocitos T citotóxicos VEB-específicos del donante. Estudios iniciales han demostrado buenos resultados en TOS, pero actualmente solamente se utiliza a nivel experimental en centros muy especializados⁷⁴. Otros tratamientos experimentales son el uso de interferón- α (IFN α), una citoquina con capacidad inmunomoduladora y actividad antiviral y anti-proliferativa, y terapias con anti-interleucina 6⁷⁴.

Dado su complejidad, se recomienda que el tratamiento y seguimiento del SLPT sea realizado o supervisado por una equipa con experiencia en pacientes trasplantados y que incluya a hematólogos, oncólogos y especialistas en enfermedades infecciosas.

Tabla 7 - Marcadores de mal pronóstico en el SLPT (tomado de Allen et al.⁷¹)

Caquexia
Enfermedad extendida
Afectación del Sistema Nervioso Central
SLPT secundario a linfocitos T o NK
SLPT no asociado a VEB
Co-infección por VHB o VHC
Enfermedad monoclonal
Presencia de mutaciones en los proto-oncogenes o genes supresores de tumor

1.6 Reactivación del VEB en receptores de trasplante de pulmón

En los últimos años se han publicado distintos trabajos intentando relacionar la presencia de viremia por VEB y la aparición de rechazo agudo, rechazo crónico y de SLPT en trasplantados de pulmón. Es importante mencionar que ninguno de estos trabajos ha analizado de forma exhaustiva la presencia de VEB con el riesgo de infección como nuestro estudio, que es innovador en este sentido.

En el trabajo de Ahya et al.⁷⁵, se realizó un estudio retrospectivo de 31 trasplantes pulmonares seguidos por aproximadamente dos años. La carga viral de VEB fue medida de forma puntual en las distintas revisiones médicas a través de PCR en plasma y sangre completo. Se observó una reducción significativa del número de episodios de rechazo agudo en pacientes con viremia detectable (45,0% vs 83,0%), siendo además considerado como un factor protector (HR, 0,17; 95% IC, 0,021 - 1,2; $P = 0,048$). Sus autores concluyeron que la detección de VEB representó un marcador funcional de inmunosupresión, con una menor capacidad de respuesta del sistema inmune.

En su estudio, Bakker et al.⁷⁶ incluyeron a 75 trasplantes pulmonares, seguidos por aproximadamente 10 años. La carga viral fue medida al menos dos veces al año, siendo repetida a las dos o cuatro semanas en caso de viremia detectable. En casos de reactivación, con viremia superior a 10.000 copias/mL, se reducía la inmunosupresión: primero se reducía la azatioprina o el micofenolato en un 50,0% y, en caso de ausencia de respuesta, se suspendía el fármaco. 26 (35,0%) pacientes presentaron reactivación, siendo que en 19 se ha reducido la dosis de los fármacos inmunosupresores según el protocolo. Sus autores no observaron un aumento de los casos de rechazo agudo o crónico, o peor evolución en estos pacientes. Además, de forma global, se detectó una reducción significativa de la viremia de VEB tras la reducción de la inmunosupresión.

En el estudio de Haqqe⁷⁷ se ha valorado la capacidad funcional de linfocitos T específicos para VEB en 30 trasplantes cardiopulmonares (11 eran pulmonares aislados). Sus autores observaron que el momento de la máxima inmunosupresión se acompañaba de la reducción de la capacidad funcional de estos linfocitos y del máximo de viremia detectable en sangre periférica (80,0%). Sus autores concluyeron que la inmunosupresión ha reducido la respuesta inmune específica, con un aumento concomitante de la viremia por VEB.

Engelmann et al.⁷⁸ han estudiado la relación entre VEB y el BOS. En su estudio prospectivo se han incluido a 385 trasplantados pulmonares, en los cuales se ha medido la presencia de viremia de VEB por aproximadamente seis meses. 202 receptores presentaron reactivación por VEB. La persistencia de viremia de VEB fue considerado como un factor de riesgo para desarrollar BOS (HR, 3,17; 95% IC, 1,41 - 7,13).

1.7 Estudios previos sobre marcadores de inmunosupresión en pacientes trasplantados

Varios estudios se han desarrollado buscando marcadores fiables y sencillos, fácilmente aplicables en la práctica clínica, que permitieran conocer el estado neto del sistema inmunitario del receptor. Subpoblaciones linfocitarias, niveles de inmunoglobulinas y de complemento y replicación viral en el post-trasplante han sido algunos de los marcadores estudiados (tabla 8). En este epígrafe revisaremos los principales trabajos publicados en los últimos años. Los estudios en los que el VEB fue el marcador escogido, serán revisados más detenidamente en el siguiente apartado.

Tabla 8 - Principales estudios de marcadores biológicos y clínicos de inmunosupresión en TOS

Autor	Tipo de trasplante	Marcador	Conclusión
Fernández-Ruiz et al ⁷⁹	Trasplante hepático	Subpoblaciones linfocitarias pre-trasplante	La linfopenia pretrasplante (< 1.00 x 10 ³ /μl) se asocia con un aumento de infecciones en los dos años posteriores al trasplante
Fernández-Ruiz et al ⁸⁰	Trasplante renal	Subpoblaciones linfocitarias pre y post-trasplante	La linfopenia al mes y sexto mes del post-trasplante se asocia con un aumento del riesgo de infección
Goldfarb et al ⁸¹	Trasplante pulmonar	Nivel de inmunoglobulinas post-trasplante	Nivel de IgG < 400mg/dl se asocia con aumento de infecciones en el post-trasplante

Fernández-Ruiz et al ⁸²	Trasplante renal	Nivel de inmunoglobulinas pre y post-trasplante	Hipogammaglobulinemia al primer y sexto mes del trasplante se asocia con aumento de infecciones en el periodo intermedio y tardío
Muñoz et al ⁸³	Trasplante cardiaco	Nivel de inmunoglobulinas post-trasplante	Hipogammaglobulinemia en el post-trasplante se asocia con aumento de diarrea por <i>Clostridium difficile</i>
Kawut et al ⁸⁴	Trasplante pulmonar	Nivel de inmunoglobulinas post-trasplante	IgG < 400mg/dl se asocia con más neumonías en el post-trasplante
Sarmiento et al ⁸⁵	Trasplante cardiaco	Nivel de IgG, C3, NK en el post-trasplante	Nivel de IgG2, C3 y NK bajos se asocian con mayor riesgo de infecciones
Fernández-Ruiz et al ⁸⁶	Trasplante renal	Complemento pre y post-trasplante	Nivel de C3 bajo al primer y sexto mes del trasplante se asocia con aumento de infecciones en los meses siguientes
Fernández-Ruiz et al ⁸⁷	Trasplante hepático	Replicación del virus herpes 6 y 7 en el post-trasplante	No se encontró una asociación entre la replicación del virus y mayor riesgo de infección oportunista

1.8 Estudios previos sobre viremia de VEB y riesgo de infección en portadores de trasplante de órgano sólido

En los últimos años se han publicado varios estudios intentando relacionar la detección de una reactivación del VEB con replicación en sangre periférica y el riesgo de desarrollar infecciones en periodo post-trasplante (Tabla 9).

En el estudio de San-Juan et al.³, se incluyeron a 81 receptores de trasplante de órgano sólido que incluía trasplantes renales (65,4%), hepáticos (25,9%) y cardiacos (8,7%), pero ninguno pulmonar. La detección del VEB se realizó de forma semanal durante el primer mes, quincenalmente durante el segundo mes y mensualmente en los cuatro siguientes meses. El seguimiento fue de aproximadamente 67 meses (9 - 76 meses). Aproximadamente el 72,0% de los receptores fueron seguidos durante 5 años.

Un total de 68 pacientes (84,0%) presentaron replicación viral (principalmente en el primer mes). En 40 pacientes (49,4%), la viremia persistió más de un mes y en 35 pacientes (43,3%) las cargas virales de VEB fueron superiores a 1500 copias/ml. A lo largo del seguimiento, 27 pacientes presentaron “eventos tardíos asociados a inmunosupresión” (definida como la suma de infección oportunista, infección grave y neoplasia): hubo 16 episodios de infección grave, 9 episodios de infección oportunista y 7 pacientes fueron diagnosticados de un tumor sólido a lo largo del periodo post-trasplante. El análisis de regresión univariante y multivariante de Cox mostró que la viremia persistente y las cargas virales más altas se asociaban de forma significativa con el sumatorio de eventos tardíos (HR, 2,95; 95% IC, 1,23 - 7,1; $P = 0,015$ y HR, 4,31; 95% IC, 1,8 - 10,8; $P = 0,001$, respectivamente). Estos pacientes presentaban un riesgo cuatro veces superior de desarrollar complicaciones infecciosas y tumorales que los pacientes sin cargas virales detectables. Los autores concluían que la monitorización del VEB en los primeros meses tras el trasplante podría ser una herramienta muy útil para identificar a receptores de TOS con mayor riesgo de desarrollar infecciones oportunistas, infecciones graves o neoplasias.

El estudio de Bamoulid et al.² incluyó a 383 pacientes portadores de trasplante renal entre enero de 2002 y diciembre de 2010. Las cargas virales de VEB se midieron quincenalmente en los primeros 3 meses y mensualmente en los siguientes 9 meses. Un total de 73 pacientes (19,1%) presentaron viremia con una carga viral >1000 copias/ml a lo largo del primer año post-trasplante y 23 (6,0%) presentaron una viremia detectable durante más de seis meses. Los autores observaron que el número de infecciones oportunistas en los pacientes con reactivación de VEB era superior que en los pacientes sin reactivación (HR, 3,03; 95% IC, 1,72 - 8,29; $P = 0,01$), principalmente a expensas de infecciones por virus varicela-zóster (9 casos), *Pneumocystis jiroveci* (6 casos) e infecciones por virus del grupo herpes (5 casos). Receptores seronegativos para VEB y que recibían el injerto de un donante seropositivo (discordancia VEB D+/R-) y la inducción con timoglobulina fueron factores de riesgo para presentar replicación de VEB en el primer año post-trasplante. Además, cuando se correlacionó la supervivencia del injerto con la presencia de replicación viral de VEB, observaron que ésta era un factor de riesgo para pérdida del injerto (HR, 1,84; 95% IC, 1,11 - 6,22; $P = 0,033$). Los autores terminaban concluyendo que la

reactivación del VEB en trasplantados renales era un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones oportunistas y para la pérdida del injerto y que ésta era más frecuente en pacientes que recibían tratamiento inmunosupresor de inducción con timoglobulina o que presentaban discordancia donante / receptor para VEB.

Sin embargo, en el estudio más reciente de Morton et al.⁴, no se han confirmado las observaciones de los dos estudios previos. En este estudio se incluyó a 499 trasplantes renales, en momentos muy variados del post-trasplante, que iba desde 1 mes hasta 33 años. La detección del VEB se realizó trimestralmente durante 1 año y el seguimiento fue de 3 años. Hasta 232 pacientes (46,0%) presentaron replicación viral en algún momento, principalmente entre los 20 y 25 años post-trasplante. Los autores observaron que la detección de VEB no se asociaba con una peor evolución del injerto ($P = 0,18$) ni con un mayor riesgo de desarrollar infecciones oportunistas (infección por *Pneumocystis jiroveci* [$P = 0,40$], infección oral por VHS [$P = 0,58$], VVZ [$P = 0,97$] o tuberculosis pulmonar [$P = 0,26$]). Es posible que la inclusión de una cohorte de pacientes en periodos tan diferentes del periodo post-trasplante (desde meses hasta varios años tras el trasplante), englobando distintas pautas de inmunosupresión, de profilaxis infecciosa y de evolución del propio injerto, justifique los resultados antagónicos con los estudios de San-Juan et al.³ y de Bamoulid et al.², que se han centrado en el post-trasplante más inmediato (entre 6 meses y 1 año tras el trasplante).

En resumen, hasta este momento, la monitorización de las cargas virales del VEB hasta los 6 o 12 meses del post-trasplante parece de utilidad en identificar a receptores de TOS con mayor riesgo de desarrollar complicaciones asociadas a un exceso de inmunosupresión. Todos estos estudios se han centrado principalmente en el trasplante renal.

En el caso del trasplante pulmonar todavía no se ha comunicado un estudio de iguales características. Éste ha sido el objetivo principal de nuestro estudio.

Tabla 9 - Estudios de VEB como marcador de inmunosupresión en TOS

Autor	Tipo de trasplante	Monitorización VEB	Seguimiento medio	Conclusión
San-Juan et al ³	53 trasplantes renales, 21 hepáticos, 7 cardíacos	Semanal el primer mes, quincenal el segundo mes y mensual en los cuatro siguientes meses del post-trasplante	67 meses	Viremias persistentes y cargas virales altas del VEB se asocian con infección oportunista, grave y neoplasias
Bamoulid et al ²	383 trasplantes renales	Quincenalmente en los primeros 3 meses y mensualmente en los siguientes 9 meses del post-trasplante	No descrito	La reactivación del VEB se asocia con infecciones oportunistas y pérdida del injerto
Morton et al ⁴	499 trasplantes renales	Trimestralmente durante 1 año (post-trasplante entre 1 mes y 33 años)	3 años	No asociación entre VEB e infecciones oportunistas

1.9 Otros virus del grupo herpes como marcadores subrogados de inmunosupresión

Se han desarrollado varios trabajos de investigación con un diseño similar al presente estudio, intentando correlacionar la viremia post-trasplante de Virus Herpes Humano tipo 6 (VHH-6) y de Virus Herpes Humano tipo 7 (VHH-7) en receptores de trasplante hepático con una peor evolución a lo largo del post-trasplante, así como su potencial utilidad para el ajuste del tratamiento inmunosupresor.

En uno de estos estudios, liderado por DesJardin⁸⁸, se realizó un análisis retrospectivo de 139 portadores de trasplante hepático. Los receptores habían participado en un estudio sobre CMV y, utilizando las mismas muestras, se evaluó la evolución de los títulos de IgM e IgG para VHH-6 a lo largo del post-trasplante. Las muestras se habían extraído a las 72 horas del trasplante, cada 2 semanas en los primeros dos meses y posteriormente a los tres meses y al año tras el trasplante. Se definió como reactivación un aumento de cuatro veces del título de IgG frente a VHH-6, con o sin la presencia de IgM positiva, y la detección de IgM para VHH-6 en alguna de las muestras. Un total de 87 de los 139 receptores (62,6%) presentaron reactivación por este virus. Sus autores no observaron una relación entre la reactivación del VHH-6

y la infección por CMV, pero sí con el desarrollo de enfermedad activa por CMV ($P = 0,01$). No se detectó una relación estadísticamente significativa entre reactivación por VHH-6 e infección fúngica invasiva ($P = 0,12$).

En el estudio de Rogers⁸⁹, se detectó VHH-6 en 80 receptores de trasplante hepático en la segunda, tercera, cuarta y sexta semana tras el trasplante. Su autor no observó una relación estadísticamente significativa con infección primaria ($P = 0,3$) o reactivación por CMV ($P = 0,45$), aunque sí detectó un aumento significativo de infección fúngica invasora en pacientes con reactivación del VHH-6 (32,0% vs 4,0%; $P < 0,001$).

Más recientemente, Fernández-Ruiz et al.⁸⁷, valoró la presencia del VHH-6 y VHH-7 a lo largo del post-trasplante como marcador de inmunosupresión y si su monitorización permitía disminuir los “efectos adversos post-trasplante”, definidos como enfermedad por VHH-6 y VHH-7 sintomática, enfermedad por CMV, IO, SLPT, recurrencia grave de VHC, rechazo agudo, retrasplante o muerte. Se incluyeron a 129 receptores de trasplante hepático, que se dividieron en dos grupos: un grupo (64 receptores) en que se monitorizaron las cargas virales de ambos virus, y otro grupo (65 receptores) en que no se realizó tal monitorización. La inclusión fue 1:1, estando los grupos, según su autor, bien balanceados según riesgo inmunológico, terapia inmunosupresora de inducción y de mantenimiento. Las cargas virales de VHH-6 y VHH-7 se detectaron por PCR cuantitativa en sangre total al momento del trasplante y, a partir de ese momento, semanalmente hasta la 12ª semana. El equipo médico que acompañaba a los receptores tenía posibilidad de reducir la inmunosupresión o de iniciar tratamiento antiviral según el nivel de las cargas virales. Un total de 650 muestras fueron recogidas (mediana de 11 por receptor [IQR: 10 - 12]). 23 pacientes (35,9%) presentaron cargas virales positivas para VHH-6, 21 receptores (32,8%) demostraron tener cargas virales detectables de VHH-7 y 4 (6,3%) fueron positivos para VHH-6 y VHH-7 (3 casos de forma consecutiva y 1 caso simultáneamente). En 15/23 pacientes y en 11/21 receptores se realizó una intervención médica: reducir la inmunosupresión (11), tratamiento antiviral (4) y ambos (11). Sus autores concluyeron que la reactivación por VHH-6 y VHH-7 fue frecuente en el primer año del post-trasplante, siendo mayormente asintomática, pero que no existió un claro beneficio en tal monitorización. Analizando la incidencia acumulada al año, se diagnosticaron un mayor número de casos de IO en

el grupo monitorizado que en el grupo no monitorizado (12,7% vs 3,1; $P = 0,043$), sin existir un claro beneficio en la reducción de “efectos adversos” entre los dos grupos (58,7% vs 52,3%, $P = 0,465$). Además, la tasa de supervivencia libre de “efectos adversos” al año y a los cinco años del trasplante no difería significativamente entre el grupo monitorizado y el no monitorizado (30,0% y 23,0% vs 42,0% y 30,0%, respectivamente, *log-rank test* $P = 0,473$).

2. Justificación del estudio

Las infecciones cobran una especial importancia en el trasplante de pulmón. En el primer año post-trasplante son las principales responsables de la mortalidad y se asocian de forma indirecta con los episodios de rechazo y de disfunción del injerto.

En los últimos años se han desarrollado fármacos inmunosupresores cada vez más potentes, con mejor control del rechazo. Sin embargo, la mayor inmunosupresión desarrollada por estos fármacos ha conllevado a un aumento de los episodios de infecciones oportunistas y graves.

Las pautas de profilaxis infecciosa, aunque efectivas mientras se estén realizando, han retrasado la aparición de las infecciones oportunistas pero no las han conseguido evitar del todo.

Así que es importante tener marcadores fiables y sencillos a disposición del clínico, que permitan conocer el estado neto del sistema inmunitario del receptor. Los pacientes en riesgo de infección serían candidatos a una reducción de la pauta inmunosupresora, de un seguimiento estrecho en consultas externas o de un aumento del tiempo de la profilaxis infecciosa.

Dado que el trasplante pulmonar es el TOS con mayor riesgo para desarrollar infecciones, sería el trasplante que más se podría beneficiar de estos marcadores.

Varios estudios recientemente publicados, aunque realizados en trasplantados renales, han puesto de manifiesto que la presencia de replicación del VEB en sangre periférica a lo largo del post-trasplante se asociaba con un mayor riesgo de desarrollo de infecciones y de mala evolución del injerto.

Consideramos importante confirmar las mismas observaciones en el caso del trasplante pulmonar, razón por la cual hemos desarrollado este proyecto de investigación.

3. Objetivos

1 - Estudiar la historia natural de VEB en el periodo post-trasplante de receptores de trasplante pulmonar

2 - Validar si la detección de VEB en sangre periférica de pacientes sometidos a trasplante pulmonar es un indicador precoz y fiable de un mayor riesgo de desarrollo de infecciones en el periodo post-trasplante

3 - Valorar la relación entre la detección de VEB en sangre periférica y el rechazo agudo o crónico, así como su relación con la pérdida del injerto y muerte

4. Material y Métodos

El presente estudio se ha realizado en el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid (adscrito a la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid). Se trata de un hospital general con aproximadamente 1.360 camas, con servicios que incluyen a múltiples especialidades médicas y quirúrgicas.

En 1976 se inició el programa de trasplante de órgano sólido que incluye actualmente al trasplante renal, hepático, intestinal, pancreático, cardíaco y, más recientemente, el trasplante pulmonar (en 2014, el Hospital Universitario 12 de Octubre, fue el centro que presentó la cifra máxima tanto en donación, como del número total de trasplantes realizados en España)⁵. Iniciado en 2008, hasta diciembre de 2014 se habían realizado en este hospital 115 trasplantes pulmonares.

Tabla 10 - Centros que realizan trasplante pulmonar en España y número de trasplantes realizados en los últimos 4 años⁵

Comunidad Autónoma	Hospital	2011	2012	2013	2014
Andalucía	Hospital Reina Sofía	24	24	34	26
Cantabria	H. Marqués Valdecilla	44	34	49	36
Cataluña	H. Vall d'Hebron	49	66	69	67
Com. Valenciana	H. La Fe	28	30	29	30
Galicia	H.U. de A Coruña	36	35	42	26
Madrid	H. Puerta de Hierro	32	30	37	47
	H. La Paz Infantil		1		
	H. 12 de Octubre	17	18	25	30
Total		230	238	285	262

4.1 Pacientes y Diseño del Estudio

Para elaborar el estudio, se realizó un análisis retrospectivo de una cohorte de pacientes del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid sometidos a trasplante pulmonar entre Octubre de 2008 y Diciembre de 2012. Para determinar la posible relación entre la presencia de VEB en sangre periférica y el desarrollo de infecciones, se monitorizó de forma periódica las cargas virales de VEB en sangre periférica, mientras que se iba realizando un seguimiento estrecho de los pacientes en consultas externas y en la hospitalización.

Las variables clínicas se han recogido directamente de los informes clínicos de la hospitalización y de consultas externas. El seguimiento mínimo fue de año y medio o hasta retrasplante o muerte.

4.2 Protocolo de Inmunosupresión y Profilaxis del Trasplante de Pulmón en el Hospital Universitario 12 de Octubre

En el Hospital Universitario 12 de Octubre, al igual que en otros centros que realizan TOS, los protocolos de inmunosupresión y de profilaxis antibiótica, antiviral y antifúngica están adaptados al tipo de órgano trasplantado y a las características clínicas y microbiológicas pre-trasplante del donante y del receptor.

En el caso del trasplante pulmonar, en nuestro centro, la inmunosupresión habitualmente se realiza con la combinación de un fármaco inductor seguido de un tratamiento inmunosupresor de mantenimiento. Normalmente se utiliza una línea de tres fármacos inmunosupresores.

El fármaco inductor utilizado en todos los trasplantados fue el basiliximab, administrándose 20 mg iv en las primeras 6 horas tras el trasplante y 20 mg iv al 4º día del trasplante.

Para el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento se utilizó una combinación de corticoides (habitualmente metilprednisolona), al cual se añadió un anti-calcineurínico (tacrolimus o ciclosporina) y/o un inhibidor de la síntesis de los ácidos nucleicos (azatioprina o micofenolato mofetil).

La metilprednisolona se inició con dosis elevadas, para progresivamente reducirse la dosis administrada: 125 mg iv cada 8 horas el primer día, 125 mg iv el segundo día, 1 mg/kg iv el tercer y cuarto día y 0,5 mg/kg desde el quinto día, durante aproximadamente tres meses, para posteriormente empezar a disminuir progresivamente la dosis.

Según el tipo de paciente, se eligió entre ciclosporina y tacrolimus: la ciclosporina se administró inicialmente a dosis de 250 mg/12 horas hasta alcanzar en 48 horas una dosis de 5 mg/kg/12 horas, ajustado a un nivel de 300 - 400 mg/ml en los primeros meses tras el trasplante. No se administró iv por su nefrotoxicidad. El tacrolimus se inició con una dosis de inicio de 1 mg/12 horas hasta alcanzar una dosis de 0,1 a 0,3 mg/kg/día, buscándose un nivel valle de 10 - 15 ng/ml hasta el 6º mes y posteriormente de 5 - 10 ng/ml.

El micofenolato mofetilo/ácido micofenólico se inició a 1 - 1,5 gr/12 horas desde la salida del quirófano (rango entre 2 - 5 µg/ml), mientras que la azatioprina se administró a 2 mg/kg al día. Estaban contraindicados en caso de menos de 60.000 plaquetas o menos de 3.000 leucocitos por microlitro. En el caso de una cifra de plaquetas entre 60.000 y 90.000 o de leucocitos entre 3.000 y 4.000 por microlitro, se redujo la dosis administrada a la mitad.

Los rechazos agudos sintomáticos o con deterioro funcional y/o radiológico fueron tratados con metilprednisolona a dosis de 10 a 15 mg/kg/día, en dosis única, durante tres días consecutivos. En el cuarto día se administró 1 mg/kg y, en las siguientes dos semanas, se fue progresivamente reduciendo la dosis hasta alcanzar los niveles de corticoterapia previo al diagnóstico del rechazo.

Para la prevención del rechazo crónico se administró azitromicina (250 mg tres veces a la semana por vía oral), que se inició en todos los pacientes a partir del primer mes del trasplante. Se mantuvo de forma indefinida, salvo aparición de efectos secundarios⁹⁰.

Los antibióticos pre-cirugía fueron elegidos según las bacterias aisladas en esputos pre-trasplante o en secreciones del donante o del receptor obtenidas durante la cirugía.

En el caso de no existir aislamientos bacterianos previos al trasplante y el cultivo obtenido durante la cirugía ha sido estéril, se administró amoxicilina-ácido clavulánico, (2 gr iv cada 8 horas durante 10 días). Si se había detectado colonización previa por *Pseudomonas* spp. se pautó ceftazidima (2 gr iv cada 8 horas) o piperacilina-tazobactam (4/0,5 gr iv cada 8 horas) o meropenem (1 gr iv cada 8 horas) acompañado de ciprofloxacino (400 mg iv cada 12 horas). Tras la cirugía, en el caso de pacientes con colonización crónica pre-transplante o en que el *Pseudomonas* presentara resistencia a varios fármacos, se añadió al tratamiento antibiótico iv, colistina (2 millones de U cada 8 horas) o tobramicina (300 mg cada 24 horas), ambas por vía inhalada.

En el caso de aislarse cocos gram positivos, se inició tratamiento con linezolid (600 mg iv cada 12 horas) hasta conocerse el resultado de los cultivos y de la sensibilidad de las muestras. Además, en todos los pacientes, se inició tratamiento empírico con mupirocina tópica (una aplicación en ambas coanas cada 8 horas), que se mantuvo por siete días en casos de muestra nasal positiva para colonización por *Staphylococcus aureus*.

Todos los receptores seropositivos para CMV (R+) o receptores seronegativos para CMV (R-), con donante seropositivos para CMV (D+) o seronegativos para CMV (D-) recibieron profilaxis universal con ganciclovir iv (5 mg/kg/día) seguido de valganciclovir (900 mg cada 24 horas), desde el primer día hasta los seis meses post-trasplante. En el caso de la administración de corticoides en *bolus* o de globulinas antilinfocíticas, se reinició el tratamiento profiláctico durante uno a tres meses más. Los pacientes D+/R-, con un riesgo elevado de infección por CMV, además de ganciclovir o valganciclovir, recibieron gammaglobulina específica anti-CMV a dosis de 200 mg/Kg cada 48 horas en la primera semana del trasplante, seguido de una dosis semanal hasta el alta, quincenal el primer mes y mensualmente hasta completar un año tras el trasplante. El ganciclovir o valganciclovir, si no han existido efectos secundarios, se han extendido hasta el año del post-trasplante. Los pacientes D-/R-, con riesgo bajo de infección por CMV, recibieron profilaxis anti-vírica con aciclovir 400 mg cada 12 horas durante 3

meses y, al trasplante, solamente se transfundieron hemoderivados de pacientes serológicamente negativos, utilizándose además filtros leucocitarios.

Tras la suspensión de la profilaxis universal se monitorizó la antigenemia para CMV (pp65) y la carga vírica mediante PCR del CMV en sangre periférica. La monitorización, durante el primer mes de suspensión de profilaxis se realizó quincenalmente, para posteriormente hacerse de forma mensual hasta el 12º mes tras el trasplante. A partir de esa fecha se realizó de forma bimensual o en cada visita programada. En receptores D+/R- se reinició el tratamiento antivírico siempre que se demostró evidencia de replicación o antigenemia positiva, mientras que en el caso de pacientes D+/-/R+ se pautó tratamiento antivírico siempre que se demostró antigenemia positiva o PCR superior a 2000 copias por ml. El tratamiento se realizó con valganciclovir (900 mg vo cada 12 horas) o ganciclovir (5 mg/Kg iv cada 12 horas) ajustadas a función renal, monitorizándose, a lo largo del tratamiento, la posibilidad de toxicidad sobre la médula ósea.

Como profilaxis antifúngica todos los pacientes recibieron anfotericina liposomal nebulizada desde el primer día del trasplante a dosis de 6cc (25 mg) tres veces por semana el primer mes o hasta la curación de la sutura bronquial. Posteriormente, se realizó la profilaxis una vez a la semana entre el segundo y el sexto mes y una vez cada 15 días a partir del sexto mes.

Los pacientes que presentaron colonización por *Aspergillus* spp. en cualquier momento del trasplante, además del tratamiento nebulizado, recibieron voriconazol (200 mg cada 12 horas vo).

En el caso del aislamiento de *Candida* en muestras respiratorias del donante o del receptor en el post-trasplante inmediato se inició tratamiento con una equinocandina y se repitió la fibrobroncoscopia en 48 - 72 horas. Si en esta nueva fibrobroncoscopia no se detectaron signos de infección activa de las suturas bronquiales y en el cultivo de las secreciones respiratorias no se aisló *Candida*, se suspendió el tratamiento con la equinocandina. Si persistía el aislamiento de *Candida* se mantuvo el tratamiento con la equinocandina durante 10 - 15 días y se realizó una nueva fibrobroncoscopia. Si en la nueva fibrobroncoscopia no se detectaron signos de infección activa de las suturas bronquiales y en el cultivo de las secreciones respiratorias no se aisló *Candida*, se

suspendió el tratamiento con equinocandina. Si de nuevo se mantenía el aislamiento de *Candida* o se observaban signos sugestivos de infección de la sutura bronquial, se cambió el tratamiento por fluconazol de manera prolongada (al menos hasta la cicatrización de las suturas).

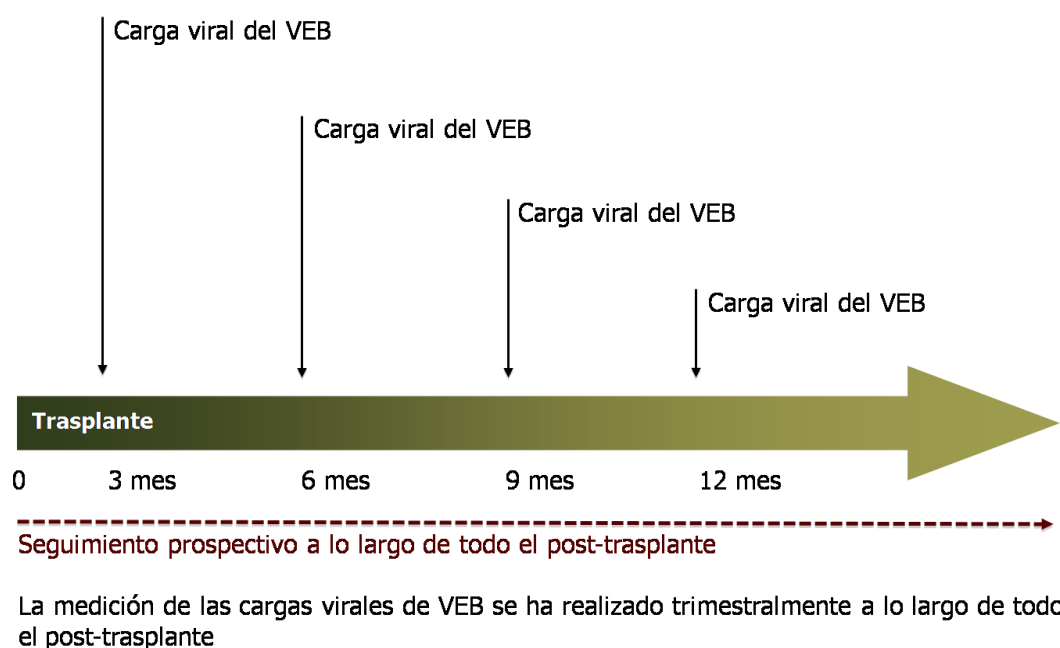
Los candidatos a trasplante pulmonar que presentaron un resultado positivo de la prueba de tuberculina (Mantoux), que no habían recibido tratamiento antituberculoso previamente y una vez descartada la enfermedad activa, realizaron tratamiento de infección latente con isoniacida más vitamina B6 (300 mg al día durante 6 meses), o una pauta alternativa de 3 meses con isoniacida más rifampicina.

Todos los portadores de trasplante de pulmón también recibieron profilaxis para *Pneumocystis jiroveci* de por vida con cotrimoxazol, un comprimido (800/160 mg) tres veces a la semana. Se asumió que esta profilaxis con cotrimoxazol protegía también al paciente frente a la infección activa por *Toxoplasma gondii*. Los pacientes con serología pre-trasplante negativa para *T. gondii* fueron advertidos sobre la importancia de evitar el contacto con los gatos, utilizar agua con lejía para lavar verduras y evitar carnes poco cocinadas.

4.3 Monitorización del VEB

La monitorización del VEB se inició al tercer mes post-trasplante. Las extracciones se realizaron de forma trimestral a lo largo de todo el periodo post-trasplante (Figura 12). Se definió como “**viremia detectable**” la presencia de cualquier copia VEB. “**Viremia persistente**” se definió por la presencia de cargas virales detectables en dos muestras consecutivas.

Figura 12 - Monitorización del VEB a lo largo del post-trasplante



4.4 Técnica de PCR para detección de VEB

Para realizar esta técnica se necesita, en una primera fase, la extracción del ADN del VEB para, en una segunda fase, amplificarlo.

Para la primera fase, se utiliza un sistema comercial y semiautomatizado de extracción de ácidos nucleicos (NucliSENS® easyMAG®, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Tras iniciar el sistema, se programa el easyMAG®, seleccionando el protocolo de “extracción con lisis externa”. Se cargan las cubetas en el sistema y, tras dispensar el tampón de lisis, se pipetea 200 µL de sangre del paciente en cada pocillo, sin mezclar. Posteriormente, se prepara la “mezcla sílice-control interno”: por cada muestra se mezclan 10 µL de calibrador interno y 140 µL de sílice. Finalmente se procede a adicionar la mezcla sílice-calibrador a la cubeta con muestra: se adicionan 150 µL a cada uno de los pocillos de cada cubeta, homogeneizándose. El sistema realiza la incubación, lavado, elución y la separación de las partículas del tampón de elución.

La técnica de amplificación está basada en el uso de tecnología de PCR en tiempo real utilizando sondas Taqman® (EBV R-gene Quantification Kit®, Argene, Varilhes,

France). El ensayo tiene un rango dinámico capaz de cuantificar entre 50 a 10⁷ copias/mL de VEB. El gen ampliado se corresponde con el gen *BXLF1* que codifica para la timidina kinasa. Las mezclas de amplificación contienen los dNTPs, el tampón de amplificación, la Taq Polimerasa, primers y sondas específicas para la amplificación del control interno y del VEB. El kit EBV R-gene incluye un control positivo de sensibilidad (SC) que contiene 500 copias de VEB/ml, un control interno que permite monitorizar la extracción y verificar la presencia de inhibidores de la amplificación y una gama 4 estándares (QS1, QS2, QS3 y QS4), cuya cuantificación está comprendida entre 10.000 y 10 copias/μl, lo que permite trazar una curva estándar a partir de la cual serán cuantificadas las muestras sometidas a estudio.

Para proceder a la amplificación, se pipetea en cada pocillo 15 μL de la pre-mezcla de amplificación, a la que se añade 10 μL de cada estándar (del QS4 al QS1) o 10 μL del control negativo, control positivo o eluidos de las muestras problema. Se centrifugan los tubos y se trasladan al termociclador donde se realiza la amplificación.

Tabla 11 - Programa de la amplificación

Etapas		Duración	Temperatura	Ciclos
Activación de la Taq Polimerasa		15 minutos	95 ^o C	1
Amplificación	Desnaturalización	10 segundos	95 ^o C	45
	Hibridación Elongación	40 segundos	60 ^o C	

El análisis de los resultados obtenidos se realiza en LIGHTCYCLER® 480 (System II) (Roche).

4.5 Definiciones del estudio

“**Neumonía adquirida en la comunidad**” (NAC) fue definida, según criterio utilizados en estudios previamente publicados⁹¹, como la presencia de un infiltrado en la radiografía torácica más uno o más de los siguientes criterios: fiebre (temperatura igual o superior a 38,0°C) o hipotermia (temperatura igual o inferior a 35,0°C),

aparición de tos con o sin producción de esputo, dolor torácico pleurítico, disnea y sonidos respiratorios patológicos en la auscultación. Se definió “**neumonía nosocomial**” (NN) como cualquier neumonía que ocurrió tras 48 horas o más horas del ingreso⁹². “**Neumonía asociada a ventilación mecánica**” (NAVM) se definió como toda neumonía que se presentó tras más de 48 a 72 horas después de la intubación endotraqueal. Se definió como “**neumonía bacteriana**” como todos los casos con infiltrado en la radiografía de tórax, que han respondido a tratamiento antibiótico y que sus médicos lo han considerado como tal, pese ausencia de una filiación microbiológica definitiva.

Se consideró como “**infección oportunista**” (IO) toda aquella producida por bacterias principalmente intracelulares (micobacterias, *Nocardia* spp., *Legionella* spp. y *Listeria monocytogenes*), virus herpes (CMV, VHS, VVZ y el síndrome linfoproliferativo post-trasplante secundario a VEB), levaduras (*Candida* spp. y *Cryptococcus* spp.), hongos (*Pneumocystis jiroveci*, *Aspergillus* spp. y *Mucor* spp.) y parásitos (*Toxoplasma gondii* y *Leishmania* spp.). Para el diagnóstico de infección tuberculosa fue necesario el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* o la identificación del ADN de *M. tuberculosis* por PCR en una muestra clínica. Se definió “**enfermedad por CMV**” (síndrome viral o enfermedad de órgano diana), como la demostración de replicación viral por antigenemia de CMV (pp65) o por PCR de CMV, y la presencia de uno o más de estos síntomas: fiebre, leucopenia, linfocitosis atípica, trombocitopenia, infiltrados pulmonares, diarrea y elevación de transaminasas dos veces por encima del límite superior de normalidad⁹³. Los criterios de la EORTC/MSG fueron utilizados para definir “**enfermedad fúngica invasiva**”. Solamente se han incluido casos de infección fúngica definidos como “probables” o “probados”⁴⁶.

Se consideró como “**terapia inmunosupresora pre-trasplante**”, el empleo de corticoides (prednisona en dosis igual o superior a 5 mg al día durante más de 2 semanas) u otros fármacos inmunosupresores (rituximab o ciclofosfamida) en los 6 meses previos al trasplante.

4.6 Definición de disfunción crónica del injerto pulmonar

Se definió “**disfunción crónica injerto pulmonar**” (DCIP) y sus diversos fenotipos (bronquiolitis obliterante [BO], BOS y síndrome restrictivo del injerto [RAS]) según criterios comúnmente aceptados⁹⁴⁻⁹⁷. Se definió DCIP como un declive del volumen máximo espirado en el primer segundo (FEV1) <80% del mejor valor alcanzado después del trasplante, siempre que se hayan descartado causas alternativas, es decir, infección, distensión del pulmón nativo y estenosis de la vía aérea. BO fue definido por la demostración histológica, en una muestra representativa, de tejido de fibrosis hialina eosinofílica en la submucosa y bronquiolos respiratorios, ocluyendo la luz, con fragmentación de músculo liso y elástica de la vía aérea. BOS fue definido por los siguientes criterios: obstrucción del flujo aéreo (FEV1 <80%) sin cambios significativos en la capacidad pulmonar total (CPT) acompañados por resultados sugestivos (dilatación bronquial, atrapamiento de aire y patrón de atenuación mosaico) en una tomografía computarizada (TC) torácica. RAS fue definido por los siguientes criterios: presencia de fibrosis con patrón reticular en vértices pulmonares y engrosamiento pleural en una TC torácica; caída del FEV1 y el CPT <80% y <90% del máximo previamente alcanzado, respectivamente; demostración en una muestra representativa de tejido pulmonar de fibrosis intersticial, alveolar y pleural, acompañada o no por el daño histológico típico de BO; infiltración predominantemente periférica de miofibroblastos y fibroblastos activados.

4.7 Estudio Estadístico

Las variables continuas se describieron en forma de media (si presentaban una distribución normal) o como mediana (en los casos de presentar una distribución no normal). Las variables cualitativas se presentaron como porcentajes. La prueba *t* de Student se utilizó para comparar variables continuas con distribución paramétrica, mientras que la prueba *U* de Mann-Whitney se utilizó para comparar variables continuas no paramétricas. Chi-cuadrado o test exacto de Fisher se utilizaron para

comparar variables cualitativas. Modelos de regresión de Cox univariante y multivariante se utilizaron para evaluar la asociación entre la replicación de VEB y la aparición de IO tardía y de DCIP. Algunas variables relevantes que no alcanzaron significación estadística en el análisis univariante, también fueron incluidas en los modelos multivariantes con el fin de evaluar su efecto. Los resultados se expresaron como Hazard ratio (HR) con intervalos de confianza (IC) del 95%. La comparación entre grupos se realizó con el test de los rangos logarítmicos (log-rank test). Se consideró como significativo una $P < 0,05$.

Para realizar el estudio estadístico se utilizó el programa SPSS v. 20 (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, IL) y EPIDAT v. 3.1 (Conselleria de Sanidade, Xunta de Galicia, Spain), mientras que los gráficos se crearon en el programa Prism v. 6.0 (Graph Pad Software Inc., La Jolla, CA).

5. Resultados

5.1 Características de la cohorte de pacientes

Entre Octubre de 2008 y Mayo de 2013 se realizaron 68 trasplantes pulmonares en el Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid. En el estudio se ha podido incluir a 63 trasplantados pulmonares (92,6%). Las **causas de exclusión** de los cinco pacientes restantes fueron:

- Un paciente falleció durante la intervención quirúrgica del propio trasplante;
- Tres pacientes fallecieron antes de los tres meses posteriores al trasplante;
- Un paciente falleció a los 8 meses del trasplante, pero no se habían extraído muestras para determinación de carga viral de VEB.

De los 63 pacientes incluidos había 38 varones y 25 mujeres, con una **edad media** de 53,7 años (rango 15 a 70 años, desviación estándar 12,8 años). Las enfermedades que conllevaron al trasplante se señalan en la Tabla 12:

Tabla 12 - Enfermedad pulmonar pre-trasplante

Enfermedad	Frecuencia	Porcentaje
Fibrosis quística	4	6,3%
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	28	44,4%
Hipertensión Pulmonar Primaria	7	11,1%
Fibrosis Pulmonar Idiopática	17	27,0%
Déficit alfa 1 anti-tripsina	2	3,2%
Histiocitosis X	1	1,6%
EPID no filiada	1	1,6%
Neumonía Alveolar Descamativa	1	1,6%
Linfangioleiomiomatosis	1	1,6%
EPID 2º a Polimiositis Inflamatoria Idiopática	1	1,6%
Total	63	100%
EPID: Enfermedad pulmonar intersticial difusa		

En relación con el **tipo de trasplante**, éste fue:

- Unipulmonar: 25 receptores (39,7%);
- Bipulmonar: 38 receptores (60,3%).

Respecto de la **colonización pre-trasplante**:

- Colonización por *Pseudomonas*: 7 receptores (11,1%);
- Colonización por *Staphylococcus aureus* oxacilina-resistente (SAOR): 3 receptores (4,8%);
- Colonización por *Aspergillus*: 3 receptores (4,8%).

Tabla 13 - Otras comorbilidades previas al trasplante

Enfermedad	Frecuencia	Porcentaje
Diabetes Mellitus	5	7,9%
Cardiopatía crónica ^a	14	22,2%
Hepatopatía crónica ^b	1	1,6%
Enfermedad arterial periférica	0	0,0%
Ingreso en UCI en los 3 meses previos	2	3,2%
Trasplante previo	0	0,0%
Tratamiento inmunosupresor	14	22,2%

^aSeis receptores con dilatación y disfunción ventrículo derecho, seis receptores con cardiopatía isquémica silente, tratadas con stent, dos receptores diagnosticados de arritmia supraventricular

^bReceptor diagnosticado de cirrosis biliar por fibrosis quística

De las **serologías y prueba de Mantoux pre-trasplante** cabe destacar:

- CMV: 58 receptores seropositivos (92,1%), 4 donantes seropositivos/receptores seronegativos (6,3%), 1 donante seronegativo/receptor seronegativo (1,6%);

- VEB: 61 receptores IgG anti-EBNA positivos (96,8%), uno IgG anti-EBNA negativo (1,6%), uno no realizado previo al trasplante (1,6%);
- Mantoux: negativo en 44 receptores (69,8%), positivo en 18 (28,6%), no consta en 1 receptor (1,6%).

Tabla 14 - Tratamiento inmunosupresor utilizado al alta del trasplante

Tratamiento inmunosupresor	Frecuencia	Porcentaje
Tratamiento de inducción		
Basiliximab	63	100%
Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento^a		
Esteroides ^b	63	100%
Tacrolimus	47	74,6%
Ciclosporina	16	25,4%
Micofenolato mofetilo / Ácido micofenólico	42	66,7%
Azatioprina	20	31,7%

^aUn paciente no ha tolerado una tercera línea de inmunosupresión por toxicidad medular
^bDosis media 28 mg ± 8,5 (rango 5 - 50)

Tabla 15 - Respecto a las complicaciones post-trasplante

Complicaciones post-trasplante	Frecuencia	Porcentaje
Reintubación precoz tras extubación	10	15,9%
Reintervención quirúrgica en los primeros siete días	5	7,9%
Lobectomía inferior dcha por fístula persistente	1	
Hemotórax con anemia grave	3	
Perforación de divertículo intestinal	1	
Reintervención entre la primera semana y el primer mes	2	3,2%
Perforación colónica	1	
Segmentectomías atípicas por fuga aérea persistente	1	

Seguimiento medio de 1.086 días (IQR: 724 - 1615), con un seguimiento total de 74.010 días de trasplante.

5.2 Complicaciones infecciosas

Se diagnosticaron un total de 110 episodios infecciosos. De éstos, 47 fueron de etiología bacteriana, 41 vírica, 21 fúngica y 1 por parásitos (tablas 16, 17, 18 y 19).

Un total de 32 cumplían criterios de IO (29,1%): una infección diseminada por *Mycobacterium tuberculosis complex*, una infección pulmonar por *Nocardia transvalensis*, once casos de enfermedad por CMV, nueve episodios de reactivación de VVZ, una neumonitis por VHS, tres casos aspergilosis pulmonar invasiva, una esofagitis por *Candida*, un caso de bronquiolitis por *Scedosporium* spp., un episodio de infección pulmonar por *Mucor* spp., un episodio de leishmaniasis diseminada, un episodio de SLPT por VEB y un caso de síndrome de mononucleosis infecciosa-like con cargas virales por VEB muy elevadas y que ha requerido Rituximab para su tratamiento y prevención de un futuro SLPT.

5.2.1 Infecciones bacterianas a lo largo del post-trasplante

A lo largo del seguimiento, se han diagnosticado un total de 47 infecciones bacterianas.

La neumonía fue la forma de presentación más frecuente de las infecciones bacterianas. En total, se han diagnosticado 20 neumonías (42,6% de todas las infecciones bacterianas).

La bacteria responsable del mayor número de infecciones bacterianas fue *Pseudomonas aeruginosa* (31,9%). Fue además el principal patógeno aislado en casos de neumonía (45,0% de las neumonías diagnosticadas fueron secundarias a infecciones por *P. aeruginosa*).

Sin embargo, en el 35,0% de las neumonías bacterianas no se ha podido aislar el microorganismo responsable.

Staphylococcus spp. fueron las bacterias más frecuentes tras *P. aeruginosa*. Fueron responsables del 10,6% de las infecciones diagnosticadas como de origen bacteriano.

A lo largo del seguimiento, se diagnosticaron **dos infecciones que cumplían criterios de infección oportunista**: una infección diseminada por *Mycobacterium tuberculosis complex* y una infección pulmonar por *Nocardia transvalensis*.

Tabla 16 - Episodios de infección bacteriana

Bacteria aislada	Número episodios n (%)	Forma de presentación n (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^a	15 (31,9)	Neumonía: 9 (60,0) Empiema: 1 (6,7) Bronquitis aguda: 5 (33,3)
<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	1 (2,1)	Tuberculosis diseminada: 1 (100)
<i>Escherichia coli</i>	2 (4,3)	Pielonefritis aguda: 1 (50,0) Diverticulitis: 1 (50,0)
<i>Enterobacter</i> spp.	3 (6,4)	Bacteriemia secundaria a infección de catéter venoso: 1 (33,3) Neumonía: 1 (33,3) Pielonefritis aguda: 1 (33,3)
<i>Klebsiella</i> spp. multirresistente	1 (2,1)	Bacteriemia: 1 (100)

<i>Clostridium difficile</i>	2 (4,3)	Diarrea: 2 (100)
<i>Nocardia transvalensis</i>	1 (2,1)	Nódulos pulmonares: 1 (100)
<i>Staphylococcus aureus</i> ^b	2 (4,3)	Bronquitis: 2 (100)
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i> ^c	3 (6,4)	Bacteriemia secundaria a infección de catéter venoso: 3 (100)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (4,3)	Neumonía: 1 (50,0) Bronquitis: 1 (50,0)
<i>Enterococcus</i> ^d spp.	2 (4,3)	Perforación colónica: 1 (50,0) Bacteriemia: 1 (50,0)
<i>Burkholderia</i> ^e spp.	3 (6,4)	Neumonía: 2 (66,7) Traqueítis: 1 (33,3)
No filiado	10 (21,3)	Neumonía: 7 (70,0) Colecistitis aguda: 2 (20,0) Celulitis: 1 (10,0)
Total episodios [n (%)]	47 (100)	47 (100)
^a 1 caso de <i>P. aeruginosa</i> multirresistente ^b 1 caso de <i>S. aureus</i> oxacilina-sensible y 1 caso de <i>S. aureus</i> oxacilina-resistente ^c Todos oxacilina-resistentes ^d 1 caso de <i>E. faecalis</i> y 1 de <i>E. faecium</i> ^e 2 neumonías por <i>B. cenocepacia</i> y 1 episodio de traqueítis por <i>B. cepacia</i>		

5.2.2 Infecciones víricas a lo largo del post-trasplante

A lo largo del seguimiento, se detectaron 61 episodios de replicación viral por CMV. 50 casos se diagnosticaron como “viremia asintomática” (82,0%), mientras que 11 casos fueron catalogados como “enfermedad orgánica por CMV” (18,0%) (Tabla 17).

Excepto en un caso, todos los episodios de enfermedad se han detectado tras los seis meses del post-trasplante, con una mediana 386 días (rango intercuartílico [IQR]: 246 - 439).

Tabla 17 - Características de los episodios de enfermedad por CMV

Forma de presentación de la enfermedad por CMV [n (%)]	Número de receptores [n (%)]
Síndrome viral	7 (63,6)
Enfermedad de órgano diana ^a	4 (36,4)
Total episodios	11 (100)
^a Dos receptores fueron diagnosticados de “colitis por CMV”, mientras que dos fueron diagnosticados de “neumonitis por CMV”	

También se han diagnosticado un total de 30 episodios de infección producidas por virus distintos a CMV. El virus de la gripe y los otros virus respiratorios fueron responsables del mayor número de infecciones (17 episodios [56,7%]), seguidos de reactivaciones de VVZ (9 episodios [30,0%]).

Tabla 18 - Enfermedades producidas por virus distintos de CMV

Virus responsable	Número episodios n (%)	Forma de presentación n (%)
VEB	2 (6,7)	SLPT: 1 (50,0) MI-like: 1 (50,0)

Virus de la gripe	5 (16,7)	Bronquitis aguda: 4 (80,0) Neumonía: 1 (20,0)
VRS	7 (23,3)	Bronquitis aguda: 5 (71,4) Neumonía: 2 (28,6)
Parainfluenza	4 (13,3)	Bronquitis aguda: 4 (100)
VVZ	9 (30,0)	Herpes zóster ^a : 9 (100)
Coronavirus humano NL63	1 (3,3)	Neumonía: 1 (100)
Virus hepatitis B	1 (3,3)	Primo-infección: 1 (100)
VHS	1 (3,3)	Neumonitis: 1 (100)
Total episodios [n (%)]	30 (100)	30 (100)
VEB: Virus Epstein-Barr; VRS: Virus respiratorio sincitial; VVZ: Virus varicela-zóster; VHS: Virus herpes simple; SLPT: Síndrome linfoproliferativo post-trasplante; MI: Mononucleosis infecciosa. ^a Un caso de VVZ diseminado que ha requerido ingreso hospitalario para tratamiento y ocho monometaméricos.		

En total, **23 infecciones víricas cumplían criterios de IO.**

5.2.3 Infecciones fúngicas a lo largo del post-trasplante

A lo largo del post-trasplante, se diagnosticaron un total de 21 infecciones producidas por hongos (10 casos en el primer mes, 6 episodios entre el primer y el sexto mes y 5 episodios pasado el sexto mes), con una mediana 34 días (IQR: 14 - 179,5). Dos pacientes presentaron más de un episodio a lo largo de su seguimiento.

Aspergillus spp. fue el patógeno responsable del mayor número de infecciones fúngicas (42,9%).

Tabla 19 - Etiología y forma de presentación de infecciones fúngicas

Hongo aislado	Número episodios n (%)	Forma de presentación n (%)
<i>Candida</i> spp.	5 (23,8)	Infección de suturas bronquiales: 3 (60,0) Afectación orofaríngea: 1 (20,0) Esofagitis: 1 (20,0)
<i>Aspergillus</i> spp.	9 (42,9)	Traqueobronquitis: 6 (66,7) Aspergilosis pulmonar invasiva: 3 (33,3)
<i>Scedosporium</i> spp.	2 (9,5)	Infección de suturas bronquiales: 1 (50,0) Pulmonar invasiva : 1 (50,0)
<i>Rhinocladiella</i> spp.	1 (3,5)	Infección de suturas bronquiales: 1 (100)
<i>Mucor</i> spp.	1 (3,5)	Nódulos pulmonares: 1 (100)
No filiado ^a	3 (16,7)	Neumonía: 1 (33,3) Traqueobronquitis: 1 (33,3) Nódulos pulmonares: 1 (33,3)
Total episodios [n (%)]	21 (100)	21 (100)
^a Un paciente se diagnosticó en la autopsia al visualizarse estructuras fúngicas en el pulmón, un paciente presentó nódulos pulmonares que mejoraron con tratamiento antifúngico, pero sin filiación microbiológica y un receptor presentó una imagen bronoscópica compatible con infección fúngica y buena respuesta al tratamiento antifúngico, pero sin aislamiento microbiológico.		

De estas 21 infecciones, **6 episodios cumplieron criterios de infección fúngica invasora probada o probable.**

5.2.4 Infecciones por parásitos a lo largo del post-trasplante

Un receptor fue diagnosticado de leishmaniasis visceral a los diez meses del post-trasplante.

5.3 Episodios de rechazo agudo y rechazo crónico

Treinta y nueve pacientes (61,9%) desarrollaron un total de 61 episodios de rechazo agudo, incluyendo 22 episodios tratados empíricamente sobre la única base de síntomas clínicos o disminución de la función pulmonar sin confirmación histológica. El intervalo promedio entre el trasplante pulmonar y el primer episodio de rechazo agudo fue 62 días (IQR: 24 - 116). El tratamiento para el rechazo consistió en bolos de esteroides (54 episodios), incremento de la inmunosupresión (6 episodios), plasmaféresis más administración de inmunoglobulinas policlonales (un episodio), solos o en régimen de combinación. En cinco episodios no se realizó ningún tratamiento específico del episodio de rechazo, dado que el paciente estaba asintomático y la biopsia era compatible con un rechazo 1A, diciéndose en ese momento realizar un control evolutivo.

Tabla 20 - Número total de episodios de rechazo agudo diagnosticados a lo largo del post-trasplante

Número de episodios	Número de receptores	Porcentaje
0	24	38,1%
1	21	33,3%
2	14	22,2%
3	4	6,3%
Total	63	100%

Tabla 21 - Pauta de tratamiento inicial utilizada para el rechazo agudo

Tratamiento pautado	Frecuencia	Porcentaje
Bolos de esteroides	54	81,8%
Aumento de la inmunosupresión	6	9,1%
Plasmaféresis e inmunoglobulinas	1	1,5%
No tratado	5	7,6%
Total	66	100%

Veinte pacientes (31,7%) fueron diagnosticados de DCIP después de un intervalo mediano desde el trasplante de 630,5 días (IQR: 371,25 - 1070): dieciocho fueron diagnosticado como BOS y dos como RAS.

Tabla 22 - Tratamiento inicial pautado al diagnóstico de rechazo crónico

Tratamiento pautado	Frecuencia	Porcentaje
Bolus de esteroides	7	29,2%
Aumento/cambio de la inmunosupresión	14	58,3%
Timoglobulina	2	8,3%
No tratado	1	4,2%
Total	24	100%

5.4 Enfermedad neoplásica a lo largo del seguimiento

Tres pacientes (4,8%) fueron diagnosticados de enfermedad neoplásica *de novo*, incluyendo dos tumores sólidos (carcinoma de células renales y adenocarcinoma de próstata con metástasis óseas) y uno de SLPT en relación con VEB (linfoma de células B).

Todos los casos de cáncer *de novo* fueron diagnosticados pasado el sexto mes del post-trasplante.

5.5 Supervivencia a lo largo del post-trasplante

La mortalidad global fue del 17,5% (11 pacientes murieron después de un intervalo mediano desde el trasplante de 676 días [IQR: 270 - 1126]). La supervivencia al primer, tercer y quinto año del post-trasplante fue de 88,0%, 80,0% y 74,0%, respectivamente. Las causas más comunes de muerte fueron infección (6 casos) y la disfunción del injerto (3 casos). Las 6 causas infecciosas fueron a) bronconeumonía por hongo filamentoso, b) neumonía bacteriana por un microorganismo no filiado, c) bacteriemia por *Klebsiella* spp. multirresistente, d) *B. cenocepacia* diseminada, e) leishmaniasis diseminada y f) síndrome de distrés respiratorio del adulto en el seno de una infección pulmonar por Coronavirus.

5.6 Evolución de las cargas virales de VEB a lo largo del post-trasplante

Se evaluó la presencia de VEB en un total de 493 muestras de sangre, con un promedio de 8 muestras (IQR: 5 - 11) por paciente. El intervalo promedio entre dos puntos consecutivos de monitorización de cargas virales de VEB fue días 99,5 (IQR: 65,5 - 181,3). La mediana de muestras obtenidas por paciente durante los primeros 3, 6 y 12 meses post-trasplante fue de 1 (IQR: 1 - 2), 2 (IQR: 1 - 3) y 4 muestras (IQR: 3 - 4,25), respectivamente.

Se detectaron cargas virales de VEB en 30 pacientes (47,6%). La mediana de tiempo transcurrido entre el trasplante y la primera carga viral detectable fue de 167,5 días (IQR: 100,5 - 481).

La mediana de la máxima carga viral fue de 2,92 log₁₀ copias/ml (IQR: 2,45 - 3,40). La tasa de VEB detectable (cualquier carga viral) entre pacientes con al menos una muestra disponible a lo largo de cada período post-trasplante aumentó de 16,7% (6/36) a 33,9% (21/62) entre los tres y los doce meses respectivamente (*P* de la prueba de McNemar = 0,031) (Figura 13). El paciente EBNA-seronegativo al trasplante seroconvirtió en el mes once y posteriormente fue diagnosticado de una enfermedad linfoproliferativa monomórfica de células B.

Se detectó viremia persistente (detección de VEB en al menos dos muestras consecutivas) durante los primeros 6 y 12 meses en 3,4% (2/59) y 9,7% (6/62) de los pacientes, respectivamente.

No se encontraron diferencias significativas entre pacientes con y sin viremia por VEB en cuanto a edad, género, tipo de trasplante o de estado serológico para CMV en el momento del trasplante (tabla 23).

Los pacientes con diagnóstico de enfermedad cardíaca crónica pre-trasplante fueron menos propensos a tener viremia detectable (10,0% [3/30] frente al 33,3% [11/33]; *P* = 0,026). Los pacientes con hipertensión arterial pulmonar primaria como

enfermedad subyacente que condujo al trasplante también presentaron menos viremia detectable (0,0% [0/30] contra 21,2% [7/33]; $P = 0,005$).

Con respecto a la inmunosupresión inicial, los pacientes que recibieron un régimen que contenía azatioprina presentaron tasas más altas de VEB detectable (46,7% [14/30] versus 18,2% [6/33]; $P = 0,015$), mientras que el uso de micofenolato mofetilo o ácido micofenólico (MMF/MPA) demostró el efecto contrario (53,3% [16/30] versus 78,8% [26/33]; $P = 0,032$). Sin embargo, cabe señalar que la azatioprina fue sustituida progresivamente por MMF/MPA como fármaco inmunosupresor de elección a lo largo del periodo de inclusión de los pacientes. Por lo tanto, los pacientes tratados con azatioprina tuvieron un seguimiento más largo y por lo tanto un mayor número de muestras extraídas en comparación con los tratados con MMF/MPA (mediana: 11 versus 6; $P < 0,001$), aumentando así la probabilidad de detectar viremia por VEB. De hecho, no hubo diferencias significativas en las tasas de VEB detectado a los meses 6 y 12 según el tipo de fármaco inmunosupresor de primera línea utilizado.

Figura 13 - Evolución del número de muestras positivas y del número de muestras con VEB $\geq 2 \log_{10}$ copias/ml a lo largo del primer año post-trasplante

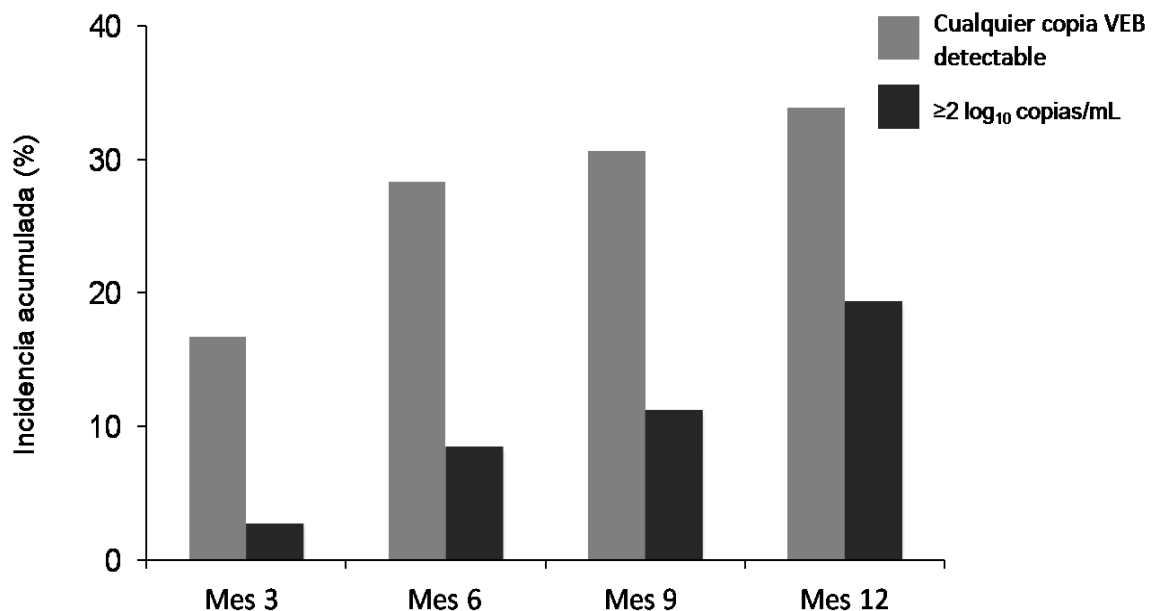


Tabla 23 - Características clínicas de los pacientes según detección de VEB

Variable	Cualquier carga viral de VEB detectable		
	Detectable (n = 30)	No detectable (n = 33)	P
Edad del receptor (media ± DS)	54,5 ± 11,7	53,0 ± 13,9	0,663
Sexo del receptor (hombre) [n (%)]	16 (53,3)	22 (66,7)	0,280
Edad del donante (media ± DS)	47,4 ± 13,8	46,6 ± 11,8	0,784
Sexo del donante (hombre) [n (%)]	17 (63,0)	16 (44,4)	0,203
Comorbilidades pre-trasplante [n (%)]			
Diabetes mellitus	3 (10,0)	2 (6,1)	0,662
Enf. cardiaca	3 (10,0)	11 (33,3)	0,026
Colonización pre-trasplante [n (%)]			
<i>P. aeruginosa</i>	4 (13,3)	3 (9,1)	0,700
SAOR	2 (6,7)	1 (3,0)	0,601
<i>Aspergillus spp.</i>	2 (6,7)	1 (3,0)	0,601
Enfermedad pulmonar pre-trasplante [n (%)]			
EPOC	14 (46,7)	14 (42,4)	0,735
Fibrosis quística	2 (6,7)	2 (6,1)	1,000
Hipertensión Pulmonar	0 (0,0)	7 (21,2)	0,005
Enf. pulmonar intersticial difusa	10 (33,3)	10 (30,3)	0,796
Otras ^a	4 (13,3)	0 (0,0)	0,046
Tipo de trasplante [n (%)]			0,280
Unipulmonar	14 (46,7)	11 (33,3)	
Bipulmonar	16 (53,3)	22 (66,7)	
Serología CMV pre-trasplante [n (%)]			
R+	29 (96,7)	29 (87,9)	0,357
D+/R-	0 (0,0)	4 (12,1)	0,115
D-/R-	1 (3,3)	0 (0,0)	0,476
Re-intubación precoz [n (%)]	4 (13,3)	6 (18,2)	0,735
Reintervención en el primer mes [n (%)]	3 (10,0)	1 (3,0)	0,340
Pauta inmunosupresora al alta hospitalaria [n (%)]			
Ciclosporina	8 (26,7)	8 (24,2)	0,825
Tacrolimus	22 (73,3)	25 (75,8)	0,825
Micofenolato mofetilo / Ácido micofenólico	16 (53,3)	26 (78,8)	0,032
Azatioprina	14 (46,7)	6 (18,2)	0,015

Diabetes Mellitus post-trasplante [n(%)]	8 (26,7)	4 (12,1)	0,142
SAOR: <i>Staphylococcus aureus</i> oxacilina-resistente; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; DS: desviación estándar ^a Incluye déficit de alfa-1 antitripsina (2 casos), linfangioleiomiomatosis e histiocitosis X (1 caso cada)			

5.7 Relación entre VEB y riesgo de infección global e IO a lo largo del post-trasplante

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa con respecto a infección global e IO entre los receptores con cargas virales de VEB detectables en los primeros seis meses y receptores sin cargas virales detectables, pese a un mayor número de episodios de enfermedad fúngica invasiva, VVZ y VHS diagnosticados en receptores con VEB detectable (Tabla 25). Sin embargo, la tasa de incidencia de IO tardía fue significativamente mayor en los trasplantados con viremias positivas (0,44 versus 0,11; $P = 0,018$) [Tabla 25].

Cuando se compararon las mismas variables entre receptores con cargas virales VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en los primeros seis meses del post-trasplante y los demás receptores, sí se detectó una mayor incidencia de infección global tardía (80,0% [4/5] versus 50,0% [27/54]; $P = 0,356$) y significativamente mayor de IO (80,0% [4/5] versus 27,8% [15/54]; $P = 0,033$), con una tasa de incidencia de 1,03 versus 0,37 episodios por 1.000 días-trasplante; $P = 0,044$. La mayoría de las IO diagnosticadas fueron enfermedad fúngica invasora (40,0% [2/5] versus 5,6% [3/54]; $P = 0,052$) y de infección por VVZ y VHS (60,0% [3/5] versus 13,0% [7/54]; $P = 0,030$) [Tabla 26].

El riesgo de desarrollar infección tardía (global [figura 15] o por microorganismos oportunistas [figura 16]) fue directamente proporcional al número de copias/ml de VEB detectables en los primeros seis meses post-trasplante.

Tabla 24 - Características de la viremia de los 5 receptores con cargas virales de VEB ≥ 2 log₁₀/ml en los primeros seis meses del post-trasplante

Receptor	Tiempo entre trasplante y 1ª carga viral ≥ 2 log ₁₀ /ml (días)	Tiempo entre trasplante y diagnóstico de IO (días)	Máxima carga viral (copias/ml)	Número de viremias positivas en el primer año	Viremia persistente durante el primer año
Receptor 1	162	359	3980	6	Sí
Receptor 2	104	183	1110	2	Sí
Receptor 3	66	661	3200	3	Sí
Receptor 4	93	383	426	1	No
Receptor 5	125	-----	1380	1	No

IO: infección oportunista; IQR: rango intercuartílico

Mediana de días entre la primera carga viral ≥ 2 log₁₀ /ml y el diagnóstico de la IO de 243,5 días (IQR: 108,5 - 518,75)

Tabla 25 - Relación entre detección de cualquier nivel de carga viral de VEB en los primeros seis meses del post-trasplante y riesgo de infección

Infección tardía (> 6 meses) [n (%)]	Cualquier nivel de carga viral de VEB detectable en los primeros seis meses del post-trasplante ^a		
	Detectable (n = 17)	No detectable (n = 42)	P
Infección global	8 (47,1)	23 (54,8)	0,592
Tasa de incidencia de infección global (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	0,88	0,92	0,880
Infección bacteriana	3 (17,6)	12 (28,6)	0,516
Tasa de incidencia de infección bacteriana (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	0,27	0,38	0,534
Neumonía bacteriana	3 (17,6)	7 (16,7)	1,000
Infección oportunista	6 (35,3)	13 (31,0)	0,747
Tasa de incidencia de infección oportunista (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	0,44	0,11	0,018
Enfermedad fúngica invasiva	3 (17,6)	2 (4,8)	0,138
Enfermedad por CMV	1 (5,9)	6 (14,3)	0,661
Infección VVZ y/o VHS	4 (23,5)	6 (14,3)	0,453

VEB: Virus Epstein-Barr; CMV: Citomegalovirus; VVZ: virus varicela-zóster; VHS: virus herpes simple

^aCuatro pacientes fueron excluidos por no tener determinación de la carga viral de VEB en los primeros seis meses

Tabla 26 - Relación entre cargas virales de VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en los primeros seis meses del post-trasplante y riesgo de infección

Infección tardía (> 6 meses) [n (%)]	$\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ de VEB detectable en los primeros seis meses del post-trasplante ^a		
	Detectable (n = 5)	No detectable (n = 54)	P
Infección global	4 (80,0)	27 (50,0)	0,356
Tasa de incidencia de infección global (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	1,38	0,86	0,231
Infección bacteriana	1 (20,0)	14 (25,9)	1,000
Tasa de incidencia de infección bacteriana (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	0,17	0,37	0,501
Neumonía bacteriana	1 (20,0)	9 (16,7)	1,000
Infección oportunista	4 (80,0)	15 (27,8)	0,033
Tasa de incidencia de infección oportunista (episodios por cada 1.000 días/trasplante)	1,03	0,37	0,044
Enfermedad fúngica invasiva	2 (40,0)	3 (5,6)	0,052
Enfermedad por CMV	1 (20,0)	6 (11,1)	0,481
Infección por VVZ y/o VHS	3 (60,0)	7 (13,0)	0,030

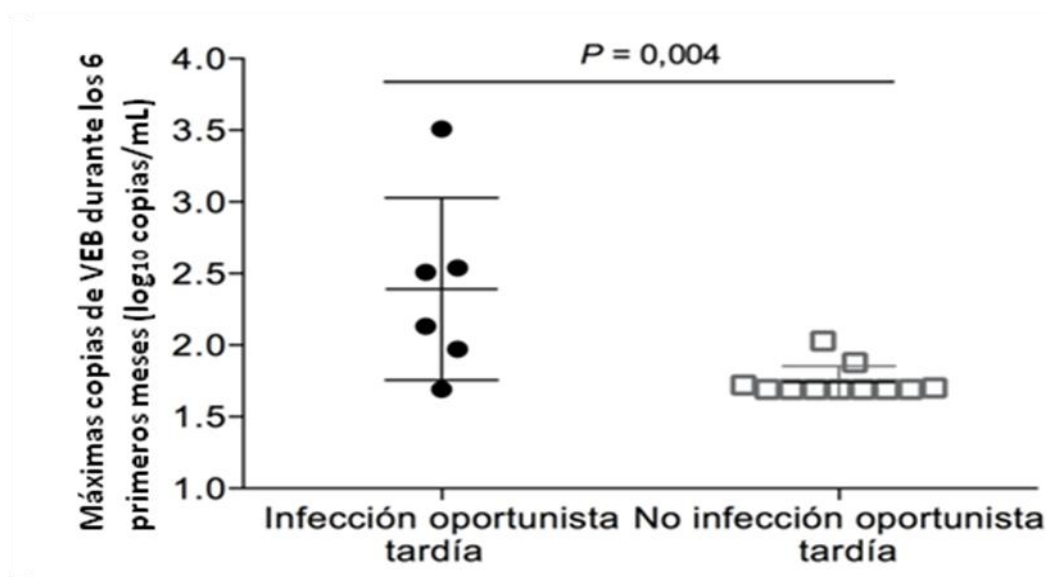
VEB: Virus Epstein-Barr; CMV: Citomegalovirus; VVZ: virus varicela-zóster; VHS: virus herpes simple
^aCuatro pacientes fueron excluidos por no tener determinación de la carga viral de VEB en los primeros seis meses

Tabla 27 - Modelo de regresión de Cox para los factores de riesgo para ocurrencia de IO tras los seis meses del post-trasplante

Variable ^a	Estudio univariante			Estudio multivariante		
	HR	95% IC	P	HR	95% IC	P
Mismatch CMV (D+/R-)	4,39	1,27 - 15,21	0,020	13,41	2,81 - 63,94	0,001
Rechazo agudo ^b	0,45	0,18 - 1,11	0,082			
Albumina sérica al mes 6, g/dl ^c	0,18	0,05 - 0,68	0,011	0,14	0,03 - 0,73	0,020
Niveles medios de tacrolimus en los primeros seis meses, ng/ml ^c	1,015	0,889 - 1,16	0,821			
$\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ de VEB en los primeros seis meses	3,86	1,27 - 11,68	0,017	7,92	2,10 - 29,85	0,002

VEB: Virus Epstein-Barr; CMV: Citomegalovirus; EBVd: EBV-DNAemia; IC: intervalo de confianza; HR: hazard ratio; D: donante; R: receptor; IO: infección oportunista
^aLas siguientes variables no se incluyeron en el modelo debido a la falta de significación estadística en el estudio univariante: edad del receptor y donante, comorbilidades antes del trasplante, tipo de enfermedad pulmonar subyacente, tipo de trasplante y tipo de inmunosupresión de mantenimiento
^bVariable tiempo-dependiente
^cSegún aumento de la unidad

Figura 16 - Máxima viremia de VEB durante los 6 primeros meses estratificada según el desarrollo de infección oportunista tardía (U Mann-Whitman)



5.8 Relación entre VEB y rechazo agudo

Los pacientes que requirieron tratamiento para un episodio de rechazo agudo en los primeros 90 días fueron más propensos a presentar posteriormente VEB detectable, con una diferencia que casi alcanza la significación estadística (43,3% [13/30] frente al 21,2% [7/33]; $P = 0,060$) (tabla 28). El intervalo promedio entre la administración de un tratamiento contra el rechazo y la primera viremia perceptible fue de 159 días (IQR: 61 - 495).

Tabla 28 - Relación entre rechazo agudo y detección de VEB

Variable	Cualquier carga viral de VEB detectable		
	Detectable (n = 30)	No detectable (n = 33)	P-valor
Rechazo agudo hasta 3º mes [n (%)]	13 (43,3)	7 (21,2)	0,060
Rechazo agudo ^a [n (%)]	23 (76,6)	16 (48,5)	0,021

^aIntervalo promedio entre la administración de un tratamiento contra el rechazo y la primera viremia perceptible de VEB fue de 159 días (IQR: 61 - 495)

Tabla 29 - Relación entre el número de episodios de rechazo agudo y detección de VEB ($P = 0,013$, comparando receptores con 2 o más episodios y receptores con menos)

Número de episodios de rechazo	Cualquier carga viral de VEB detectable		
	Detectable (n = 30)	No detectable (n = 33)	Total receptores
0 episodios [n (%)]	7 (23,2)	17 (51,5)	24
1 episodio [n (%)]	10 (33,3)	11 (33,3)	21
2 episodios [n (%)]	11 (36,7)	3 (9,1)	14
3 episodios [n (%)]	2 (6,7)	2 (6,1)	4

5.9 Relación entre VEB y complicaciones tardías

Los pacientes con VEB detectable durante los 6 primeros meses post-trasplante tenían una mayor incidencia acumulada de DCIP al final del seguimiento (58,8% [10/17] frente al 23,8% [10/42]; $P = 0,010$) (tabla 30, 31 y 32). Finalmente, no se encontraron diferencias significativas en la incidencia acumulada de cáncer *de novo* o mortalidad según la presencia de viremia de VEB (tablas 30 y 31).

Tabla 30 - Relación entre complicaciones tardías y carga viral de VEB en los primeros seis meses del post-trasplante

Complicación tardía [n (%)]	Cualquier carga viral de VEB detectable en los primeros seis meses del post-trasplante ^a		
	Detectable (n = 17)	No detectable (n = 42)	<i>P</i>
DCIP	10 (58,8)	10 (23,8)	0,010
Neoplasia <i>de novo</i>	2 (6,7)	1 (3,0)	0,601
Mortalidad global	3 (17,6)	8 (19,0)	1,000

VEB: Virus Epstein-Barr; DCIP: disfunción crónica del injerto pulmonar
^aCuatro pacientes fueron excluidos por no tener determinación de la carga viral VEB en los primeros seis meses del post-trasplante

Tabla 31 - Relación entre complicaciones tardías y carga viral de VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en los primeros seis meses del post-trasplante

Complicación tardía [n (%)]	Carga viral de VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ detectable en los primeros seis meses del post-trasplante ^a		
	Detectable (n = 17)	No detectable (n = 42)	P
DCIP	5 (60,0)	17 (31,5)	0,325
Neoplasia <i>de novo</i>	1 (20,0)	2 (3,7)	0,237
Mortalidad global	1 (20,0)	10 (18,5)	1,000

VEB: Virus Epstein-Barr; DCIP: disfunción crónica del injerto pulmonar
^aCuatro pacientes fueron excluidos por no tener determinación de la carga viral VEB

Tabla 32 - Modelo de regresión de Cox para los factores de riesgo para ocurrencia de DCIP tras los seis meses del post-trasplante

Variable	Estudio univariante			Estudio multivariante		
	HR	95% IC	P	HR	95% IC	P
Trasplante bipulmonar (versus unipulmonar)	0,24	0,09 - 0,63	0,004	0,28	0,11 - 0,75	0,011
Rechazo agudo ^a	1,85	0,60 - 5,71	0,283			
Presencia de VEB en los primeros seis meses	2,53	1,05 - 6,0	0,039	1,26	0,87 - 5,29	0,099

VEB: Virus Epstein-Barr; IC: intervalo de confianza; HR: hazard ratio
^aVariable tiempo-dependiente

5.10 Curvas de supervivencia

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la supervivencia entre receptores con cargas virales de VEB detectables en los primeros 6 meses y receptores sin cargas virales detectables (Figura 17).

Tampoco se detectó un aumento de la mortalidad en los receptores con copias VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en los primeros seis meses del post-trasplante (Figura 18).

Figura 17 - Supervivencia entre receptores con y sin VEB detectable en los primeros seis meses del trasplante

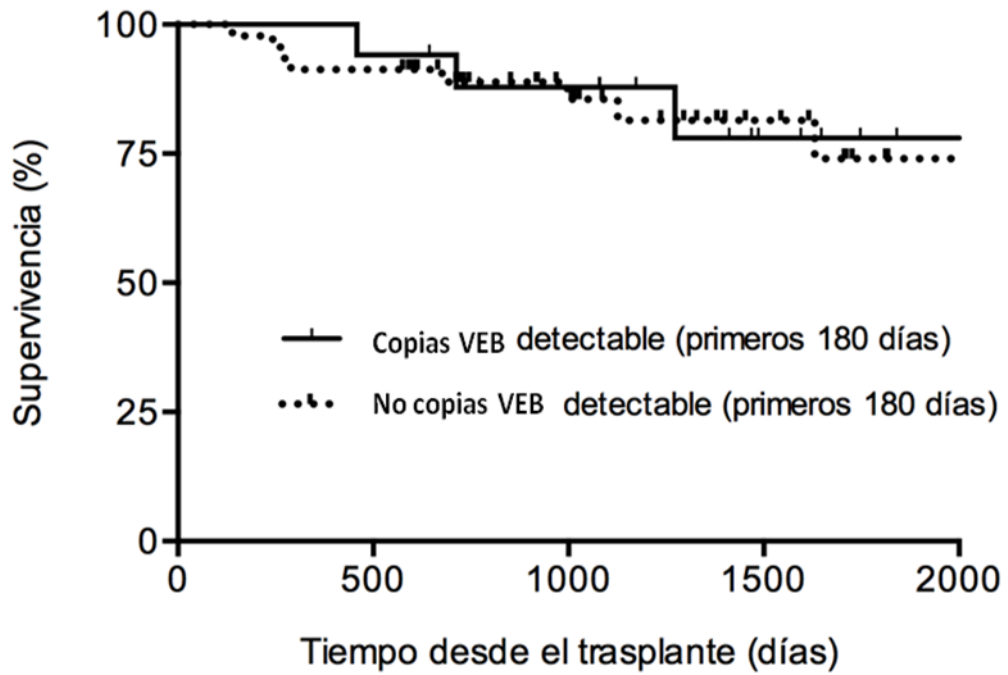
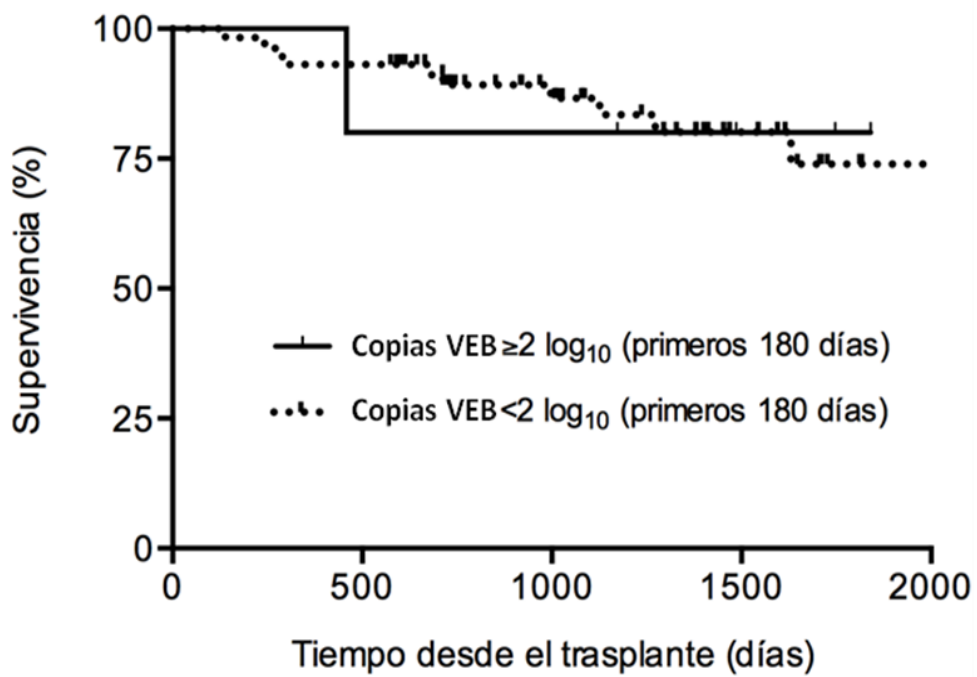


Figura 18 - Supervivencia entre receptores con y sin $\geq 2 \text{ Log}_{10}$ copias/ml detectables en los primeros seis meses del trasplante



6. Discusión

El presente estudio es pionero en la descripción desde un punto de vista clínico de una cohorte de receptores de trasplante pulmonar, seguidos prospectivamente, para valorar la relación entre la detección de replicación viral de VEB en los primeros seis meses post-trasplante y el riesgo de desarrollo de infecciones y DCIP.

Como se menciona en la introducción, solamente se han publicado tres estudios²⁻⁴ en que se evalúa la relación entre la replicación de VEB y el riesgo de infección en portadores de TOS. Ninguno de estos estudios incluía receptores de trasplante pulmonar.

6.1 Incidencia de infección global e IO

La incidencia de infección global y de IO varía de forma importante entre los distintos TOS. En la tabla 33 comparamos el número de episodios de IO de los estudios previos sobre VEB en portadores de TOS (San-Juan et al., Bamoulid et al. y Morton et al.)²⁻⁴ con los resultados de nuestro estudio.

Tabla 33 - Comparación de la incidencia de IO

Autor	Tipo de trasplante	Número de pacientes	Episodios de infección oportunista
San-Juan et al.	Trasplante renal, hepático y cardiaco	81	9 episodios
Bamoulid et al.	Trasplante renal	383	58 episodios
Morton et al.	Trasplante renal	499	No referido
Presente estudio	Trasplante pulmonar	63	32 episodios

Solamente dos de los tres estudios publicados indican el número total de episodios de IO, pero en ambos la incidencia referida es menor que la del presente estudio. Este resultado es razonable, dado el elevado riesgo que presentan los portadores de

trasplante pulmonar de desarrollar infecciones, tanto por microorganismos habituales como por oportunistas.

Al igual que lo publicado en otras series de receptores de trasplante pulmonar^{12, 13}, en la presente cohorte, *Pseudomonas aeruginosa* fue el microorganismo más frecuentemente responsable de las infecciones bacterianas, seguido de los cocos grampositivos.

P.aeruginosa fue también responsable del mayor número de neumonías en que se pudo filiar la etiología desde el punto de vista microbiológico.

CMV y VVZ fueron los virus que más infecciones produjeron (11 y 9 episodios, respectivamente). Pese a una profilaxis prolongada con antivirales activos frente a CMV y a una monitorización continua con antigenemia pp65, hasta un 26,8% de las enfermedades virales diagnosticadas fueron por CMV.

Se diagnosticaron hasta 17 episodios de infección por virus respiratorios. Aunque en nuestro centro se aconseje que todos los TOS se vacunen de forma anual frente al virus de la Gripe, 29,4% de las infecciones por virus respiratorios fueron secundarias a este virus. Esta cifra fue similar a la VRS, para el cuál no existe una vacuna efectiva. De estos cinco casos de gripe, solamente en tres el receptor estaba correctamente vacunado.

Similar también a lo descrito en la literatura³⁹, *Aspergillus* fue el hongo filamentoso responsable del mayor número infecciones respiratorias, principalmente en forma de traqueobronquitis. A pesar de la profilaxis con Anfotericina B y cultivos de esputo seriados, 3 receptores desarrollaron una API.

Cabe destacar que un receptor desarrolló una leishmaniasis diseminada, una infección muy poco frecuente en receptores de trasplante pulmonar. Esta infección muy posiblemente estuvo en relación con los viajes previos del paciente, por razones laborales, a diversos países del Golfo Pérsico.

6.2 Incidencia de VEB a lo largo del post-trasplante

Uno de los objetivos del presente estudio fue la descripción de la historia natural de VEB en el periodo post-trasplante de receptores de trasplante pulmonar. Se observó que en los primeros meses del post-trasplante ya se detecta una importante cifra de reactivación de VEB, que va aumentando a lo largo de todo el post-trasplante. Los datos del presente estudio coinciden, en cuanto a incidencia acumulada de positividad en la detección de VEB, con las cifras presentadas por Bamoulid et al.² y Morton et al.⁴, estudios en que solamente se incluyó a portadores de trasplante renal. Sin embargo, en los tres se detecta una incidencia que es aproximadamente la mitad de la detectada por San-Juan et al.³, en que participaron trasplantados renales, hepáticos y cardíacos. Este último estudio se limitó a los primeros seis meses posteriores al trasplante pero con una frecuencia de extracción de muestras muy exhaustiva (Tablas 9, 34 y 35).

La detección del VEB en el post-trasplante varía de forma muy importante según los estudios publicados, con cifras que van desde 0,0% hasta el 72,0%. Variaciones tan importantes entre estudios podrían ser secundarias a las distintas técnicas utilizadas, con diferentes puntos de cortes y tipo de muestras utilizadas (por ejemplo, las técnicas de amplificación que utilizan sangre total tienen una mayor sensibilidad que técnicas de amplificación que utilizan plasma⁹⁸), así como de las características del donante y receptor, de los tipos de inmunosupresores utilizados y del momento del post-trasplante analizado.

Los principales factores de riesgo para presentar viremia de VEB tras el trasplante descritos en estudios previos fueron la seroconversión de VEB en el periodo post-trasplante (receptores seronegativos que recibieron injertos de donantes seropositivos^{2, 4, 99, 100}), empleo de globulina anti-timocítica² u OKT3 como fármacos inductores¹⁰¹, empleo de ciclosporina como fármaco inmunosupresor de mantenimiento⁴ y el tiempo transcurrido desde el trasplante. Es importante mencionar que en el estudio de Morton et al.⁴, en el que los periodos post-trasplante de los pacientes incluidos variaron entre 1 mes y 33 años, se observó un aumento gradual de la proporción de pacientes con VEB detectable hasta los 20 - 25 años tras el trasplante, momento en que aproximadamente el 66,0% de los receptores incluidos presentaron VEB en sangre periférica, para posteriormente empezar a disminuir. En

otro estudio que incluyó a 75 pacientes sometidos a trasplante pulmonar entre 1990 y 2001 y seguidos durante cinco años, el porcentaje de detección de VEB fue directamente proporcional al tiempo transcurrido desde el trasplante⁷⁶. En este estudio, el tiempo transcurrido desde el trasplante fue el único factor de riesgo independiente para presentar reactivación por VEB ($P = 0,003$).

Al revés, cargas virales más bajas de VEB se asociaron con el uso de basiliximab como fármaco inductor⁴, la linfopenia $< 1 \times 10^9/L$ en el momento del trasplante⁴ y la exposición al ganciclovir (el uso de este antivírico en el post-trasplante significativamente redujo las cargas virales y el riesgo de SLPT en varios estudios en que se incluyeron a receptores de trasplante hepático y renal, tanto pediátrico como en adultos)¹⁰¹⁻¹⁰⁴.

En base a los resultados del presente estudio, podemos concluir que en los primeros meses del post-trasplante pulmonar hay una importante incidencia de viremia por VEB, muy probablemente relacionada con la intensa inmunosupresión en el momento del trasplante. La incidencia de viremia por VEB va progresivamente aumentando a lo largo del posterior post-trasplante, en muy probable relación con la persistente exposición a los fármacos inmunosupresores y/o la inmunosenescencia.

Consideramos también que el menor porcentaje de pacientes con viremia detectable al año del trasplante y que las cargas virales de VEB más bajas en nuestro estudio, cuando comparados con los demás trabajos de investigación, se pueden explicar por a) muestra más reducida de pacientes, siendo que 96,8% eran EBNA-seropositivos al trasplante; b) periodo más espaciado entre muestras extraídas; c) tipo de técnica de amplificación utilizada para medir la viremia de VEB; d) ausencia de empleo de fármacos depletors de linfocitos T en el momento del trasplante (como globulina anti-timocítica, OKT3 o alemtuzumab), siendo que todos los pacientes recibieron basiliximab como fármaco de inducción; e) periodo más prolongado de profilaxis para CMV con ganciclovir o valganciclovir, en comparación con lo que se realiza habitualmente en otro tipo de portadores de TOS.

Tabla 34 - Datos de replicación de VEB entre los distintos estudios

Autor	Técnica de amplificación	Detección mínima de carga viral que permite la técnica	Número de muestras extraídas por paciente (rango)	Número de pacientes con VEB detectable (%)	Mediana viremia detectada (rango)
San-Juan et al. ^a	Abbott EBV PCR KIT; Abbott Diagnostics	180 copias/ml	10 (5 - 15)	68 (84,0)	1595 copias/ml (20 - 146.918)
Bamoulid et al. ^b	TaqMan® Universal PCR Master Mix	-----	15	155 (40,0)	950 copias/ml (87 - 2.200.000)
Morton et al. ^c	Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific Inc, Paisley UK)	1000 copias/ml	4 (3 - 10)	232 (46,0)	No especificado
Presente estudio ^d	EBV R-gene Quantification Kit®, (Argene, Varilhes, France)	50 copias/ml	8 (IQR: 5 - 11)	30 (47,6)	832 copias/ml ^e (50 - 973.000)

^aExtracción de muestras hasta el sexto mes del post-trasplante. ^bMuestras recogidas a lo largo del primer año del post-trasplante. ^cDetección de viremia en el primer año tras la inclusión. ^dExtracción a lo largo de todo el post-trasplante. ^eMediana de la máxima carga viral

Tabla 35 - Patrón temporal de la replicación de VEB

Autor	Media de días de seguimiento (IQR)	Intervalo medio entre dos muestras (días)	Incidencia acumulada de pacientes con VEB detectable al primer mes tras el trasplante (%)	Incidencia acumulada de pacientes con VEB detectable al sexto mes tras el trasplante (%)	Incidencia acumulada de pacientes con VEB detectable al año del estudio (%)
San-Juan et al. ^a	2010 (270 - 2280)	No informado	57 (70,4)	68 (84,0)	-----
Bamoulid et al. ^b	No informado	No informado	-----	-----	155 (40,0)
Morton et al. ^c	995 (946 - 1064)	113 (IQR: 70 - 138)	-----	-----	232 (46,0)
Presente estudio ^d	1086 (724 - 1615)	99,5 (IQR: 65,5-181,3)	-----	17 (28,8)	21 (33,9)

^aExtracción de muestras hasta el sexto mes del post-trasplante. ^bMuestras recogidas a lo largo del primer año del post-trasplante. ^cDetección de viremia en el primer año tras la inclusión. ^dExtracción a lo largo de todo el post-trasplante

6.3 Relación entre detección de VEB y rechazo agudo

En la presente cohorte se observó que los receptores diagnosticados de rechazo agudo hasta el tercer mes post-trasplante presentaron un mayor número de cargas virales de VEB detectables durante el seguimiento que aquellos pacientes que no presentaron rechazo agudo. Tras el tratamiento de un rechazo agudo se reportó un mayor número de receptores con viremia detectable (Tablas 28 y 29).

Estos resultados se encuentran en la línea de lo descrito por Haque et al⁷⁷. En su estudio, que incluyó a treinta receptores de trasplantes cardiopulmonares (11 pulmonares aislados) seguidos durante 2 años, describieron que el 80,0% de los pacientes con episodios repetidos de rechazo agudo en los primeros 9 meses post-trasplante presentaron VEB detectable.

Nosotros consideramos que el aumento de la inmunosupresión tras el diagnóstico de rechazo agudo, a través de los bolus de corticoides y del aumento de dosis de los fármacos inmunosupresores, favoreció la replicación de VEB al reducir la capacidad funcional del sistema inmunitario.

Estudios previos han puesto de manifiesto que pacientes con replicación de VEB presentaron menos episodios de rechazo agudo a lo largo del post-trasplante⁷⁵. Utilizando esta premisa, Bamoulid et al.², Bakker et al.⁷⁶ y Kirk et al.¹⁰⁵ fueron capaces de reducir la dosis administrada de los fármacos inmunosupresores en pacientes con VEB detectable en sangre periférica de trasplantados renal y pulmonares, sin acompañarse de un aumento de los episodios de rechazo agudo o crónico. En el caso de Bakker et al., el 73,0% de los trasplantados pulmonares que presentaron VEB con carga > 10.000 copias/ml, han visto su pauta inmunosupresora reducida. La reducción de la inmunosupresión se asoció de forma estadísticamente significativa con la disminución de la carga viral de VEB ($P = 0,02$) y no se acompañó de un incremento del rechazo agudo o de progresión del BOS. Kirk et al.¹⁰⁵ fueron capaces de reducir de forma segura la inmunosupresión de 21 receptores de trasplante renal con cargas virales elevadas, sin efectos adversos sobre el injerto.

6.4 Relación entre detección de VEB y DCIP

En nuestro estudio, 20 receptores pulmonares (31,7%) desarrollaron DCIP a lo largo del periodo post-trasplante, dieciocho en forma de BOS y dos en forma de RAS. Los receptores con VEB detectable dentro de los 6 primeros meses post-trasplante presentaron una incidencia significativamente mayor de DCIP al final del seguimiento y un período libre de DCIP más corto, aunque esta relación no mantuvo la significación estadística en el modelo multivariante (Tabla 32).

Se han publicado algunos trabajos relacionando el VEB con el rechazo crónico y la disfunción del injerto, tanto en trasplante pediátrico como en adultos. En un estudio⁷⁸ que incluyó a 385 trasplantados pulmonares adultos monitorizados durante 6 meses tras el trasplante, se detectó que la replicación de VEB se ha asociado con la aparición de BOS. En otro artículo¹⁰⁶ que incluía 55 receptores de trasplante renal pediátricos y seguidos durante dos años, se describió la asociación de la viremia subclínica de VEB con un aumento de cuatro veces del riesgo de rechazo crónico del injerto (4,33; IC 95%: 1,34 - 14,0). El mecanismo a través del cual VEB conlleva a una disfunción del injerto no se encuentra completamente clarificado. Se ha planteado la hipótesis de que el virus sea capaz de estimular un efecto citopático directo sobre el órgano trasplantado o favorecer un mecanismo inflamatorio indirecto, con la producción de citoquinas como Interleucina (IL)-8 e IL-12 en el injerto⁷⁸. También se han comunicado algunos casos clínicos de portadores de trasplante pulmonar, diagnosticados de rechazo crónico y disfunción de injerto, con elevada carga viral de VEB en BAL¹⁰⁷ o en las biopsias pulmonares realizadas¹⁰⁸.

Sin embargo, el papel del VEB en el desarrollo de DCIP y sus mecanismos subyacentes no han sido completamente confirmados hasta ahora. La DCIP es un fenómeno complejo y el VEB puede representar solo uno entre otros muchos factores implicados en este proceso. Consideramos que es necesario el desarrollo de más estudios para comprender esta relación, antes de que las decisiones clínicas encaminadas a reducir la incidencia de esta complicación estén condicionadas por los resultados de la viremia de VEB.

6.5 VEB como marcador del riesgo de infección

Uno de los principales objetivos de nuestro estudio fue analizar, en receptores de trasplante pulmonar, la existencia de una relación entre la detección de VEB en sangre periférica y del riesgo de padecer de infección de forma global y, más específicamente, de IO.

En el presente estudio, se observó una asociación estadísticamente significativa entre la detección de cargas virales de VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en los primeros seis meses tras el trasplante y el desarrollo de IO a lo largo del seguimiento, fundamentalmente en forma de reactivaciones de VVZ y de enfermedad fúngica invasiva (principalmente API). También se observó un incremento muy importante del riesgo infección global en los pacientes con $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ de VEB en este periodo de tiempo, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa. Por último, se detectó una relación directa entre el grado de positividad de la carga viral y el riesgo de infección tardía y de infección oportunista tardía: los pacientes con cargas virales más elevadas presentaron un riesgo significativamente mayor de este tipo de infecciones (Tablas 25, 26 y 27 y Figuras 14, 15 y 16).

Este hallazgo ratifica los resultados obtenidos previamente en estudios desarrollados en otros tipos de TOS. En el trabajo de Bamoulid et al.², el 40,0% de los trasplantados renales incluidos presentó viremia detectable. La mayoría de las viremias ocurrieron en los primeros seis meses del post-trasplante (91,0%). Se observó una relación estadísticamente significativa entre el desarrollo de IO y la detección del VEB (11,6% en los pacientes con VEB detectable frente a 3,9% de los pacientes sin VEB detectable; $P = 0,008$). En el análisis multivariante, la reactivación del VEB fue identificada como un factor de riesgo independiente para desarrollar IO (HR, 3,03; 95% IC, 1,72 - 8,29; $P = 0,01$). Al igual que en nuestro estudio, la mayoría de las IO diagnosticadas fueron secundarias a infecciones por VVZ (33,3%) y VHS (18,5%). El otro patógeno oportunista más frecuentemente aislado fue *Pneumocystis jiroveci* (22,2%). En el presente estudio no se detectaron casos de neumonía por *P. jiroveci*, probablemente en relación con la profilaxis con cotrimoxazol mantenida en el tiempo que realizan los portadores de trasplante de pulmón.

En el estudio de Bamoulid et al.², a los pacientes con cargas virales altas se procedió a la reducción del tratamiento inmunosupresor, en la forma de retirada de micofenolato, reducción de la dosis de tacrólimus o conversión de tacrólimus a sirólimus. Estos cambios en los inmunosupresores fueron efectivos en disminuir la carga viral de VEB. Bamoulid et al.² concluyeron que la replicación de VEB se asoció con el desarrollo de IO a lo largo del post-trasplante y que la reducción de la inmunosupresión fue efectiva en disminuir la carga viral de VEB en los receptores con cargas virales persistentemente elevadas.

Un resultado similar, fue descrito en el trabajo de San-Juan et al.³. En este estudio, un 84,0% de los pacientes incluidos presentó viremia detectable en los primeros seis meses tras el trasplante. Sus autores observaron que los pacientes con VEB detectable y persistente presentaron más “efectos adversos asociados a inmunosupresión” (definida como infección oportunista, infección grave y/o neoplasia) que los pacientes sin VEB detectable (45,0% vs 22,0%; $P = 0,05$), resultado similar en los pacientes con cargas virales más altas (51,4% vs 19,6%; $P = 0,005$), resultado este similar al observado en nuestro estudio (Figura 14, 15 y 16). Los estudios de regresión logística univariante mostraron que tanto la detección de viremia persistente (HR, 2,95; 95% IC, 1,23 - 7,1; $P = 0,015$) como la viremia elevada (HR, 4,31; 95% IC, 1,8 - 10,8; $P = 0,001$) fueron marcadores independientes del riesgo de “efectos adversos asociados a inmunosupresión”. Este efecto se mantuvo como variable estadísticamente significativa en el estudio multivariante. Sus autores concluyeron que la viremia de VEB permitía distinguir a los pacientes más inmunodeprimidos y con mayor riesgo de infecciones graves o IO.

Sin embargo, en el estudio realizado por Morton et al.⁴, no se observó una relación entre la detección de VEB y el riesgo de desarrollo de infecciones (de manera global o exclusivamente las IO). El análisis univariante entre detección VEB / reactivación de VHS-1 no fue estadísticamente significativa (HR, 1,0; 95% IC, 0,6 - 1,5; $P = 0,908$), así como no se encontró un mayor riesgo para desarrollar infecciones por *P. jiroveci* en pacientes con viremia por VEB, como previamente descrito por Bamoulid et al. (HR, 1,5; 95% IC, 0,5 - 5,4; $P = 0,50$).

El estudio de Morton et al.⁴ incluyó a 499 trasplantes renales en periodos del seguimiento post-trasplante muy distintos entre sí, que variaban entre 1 mes y 33

años. Además, en este estudio el 92,0% de los receptores fueron incluidos en la cohorte cuando ya había transcurrido más de un año desde el momento en el que recibieron el trasplante. Por tanto en este trabajo se obvió el periodo de máximo riesgo de infección y esto explicaría sus resultados divergentes del resto de comunicaciones, incluida la presente cohorte. Como refieren los propios autores, las pautas de inmunosupresión menos intensas que se emplean cuando ya han transcurrido más de 12 meses desde el trasplante, hacen que disminuya la utilidad de la monitorización de la carga viral de VEB como predictor de IO durante ese periodo.

La conclusión del presente estudio, en sintonía con lo referido por trabajos previos en otros tipos de trasplantes, es que la viremia de VEB determinada de manera cuantitativa en los primeros meses tras el trasplante de pulmón, es un buen marcador para identificar a los receptores con mayor riesgo de complicaciones infecciosas posteriores. Sin embargo, y a pesar de la significación estadística encontrada, el largo intervalo de tiempo entre la detección de la viremia y el desarrollo de la infección (mediana de 243 días aproximadamente), reduce su interés desde un punto de vista clínico.

Comparando los resultados de nuestro estudio, de San-Juan et al. y de Bamoulid et al. con los de DesJardin et al. y Rogers et al., claramente se puede concluir que en los primeros meses del post-trasplante, al revés de VHH-6 y VHH-7, VEB específicamente detecta a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar infecciones de forma global e IO, siendo un mejor marcador de inmunosupresión.

Tabla 36 - Relación entre VEB e infección global e IO en los distintos estudios desarrollados en portadores de TOS

Autor	Periodo de monitorización de la carga viral de VEB	Relación entre viremia positiva/negativa e infección global	Relación entre viremia positiva/negativa e IO	Hazard ratio de cada estudio en particular
San-Juan et al. ³	Primeros seis meses tras el trasplante	45,0% vs 22,0% ($P = 0,05$) ^a		2,95; IC 95%: 1,23 - 7,1; ($P = 0,015$) ^a
Bamoulid et al. ²	Primer año tras el trasplante	-----	11,6% vs 3,9% ($P = 0,008$)	3,03; IC 95%: 1,72 - 8,29; ($P = 0,01$)
Morton et al. ⁴	Un año tras inclusión	c	c	c
Presente estudio	Todo el post-trasplante, iniciando la monitorización a partir del tercer mes	80,0% vs 50,0% ($P = 0,356$) ^b	80,0% vs 27,8% ($P = 0,033$) ^b	7,92; IC 95%: 2,10 - 29,85; ($P = 0,002$) ^b
^a Incluye IO, infección grave y neoplasia; ^b Calculada para viremia de VEB ≥ 2 log ₁₀ /ml en los primeros seis meses. ^c No calculada de forma global, pero para cada tipo de infección oportunista.				

6.6 Limitaciones del estudio

Una de las principales limitaciones de este estudio a tener en cuenta es el número de pacientes incluidos: 63 portadores de trasplante pulmonar. Es un número inferior al de otros estudios sobre VEB en TOS como los de Bamoulid et al.², Morton et al.⁴ o San Juan et al.³. El presente estudio es unicéntrico y esto ha permitido una mayor cohesión en la recogida de la información. El número de trasplantes pulmonares realizados siempre es inferior al de otros tipos de TOS. Esto explica que se requirieran 4 años para la inclusión de los pacientes de la presente cohorte, pero solamente de un año en el de San-Juan et al. y de siete meses en el caso de Morton et al. Los tres estudios referidos incluyeron principalmente al trasplante renal, cuyo número de trasplantes realizados al año es muy superior al del trasplante pulmonar.

La extracción de muestras de sangre para determinación de viremia de VEB se realizó cada tres meses aproximadamente. Se decidió realizar un abordaje pragmático de la monitorización en aras de su posterior aplicación clínica, de modo que las

extracciones coincidieran con las que el paciente precisaba para su monitorización clínica habitual en la consulta después del trasplante de pulmón.

Este número de muestras recogidas es inferior al número de muestras de otros estudios referidos previamente, como el de San Juan et al.³ (10 muestras en los primeros seis meses) o el de Bamoulid et al.² (15 muestras en el primer año). Dado que la viremia por VEB es transitoria en muchas ocasiones, es de suponer que alguna viremia significativa pudo no ser detectada en nuestro estudio y justificaría la menor incidencia de viremia persistente detectada durante el primer año post-trasplante respecto de lo descrito en otros estudios. Por esta razón, no fuimos capaces de relacionar esta variable con el riesgo de padecer de infecciones o de un mayor riesgo de DCIP. No obstante, pese a un menor número de muestras extraídas, el porcentaje de receptores con cargas virales detectables a lo largo del primer año tras el trasplante fue similar al de los estudios previos salvo el de San Juan et al.³ (33,9% frente a 84,0%, 40,0% y 46,0%) (Tablas 34 y 35).

Por último, hubiera sido interesante comparar el valor predictivo de la viremia de VEB con otros biomarcadores, cuantitativos (subpoblaciones linfocitarias en sangre periféricas) o funcionales (por ejemplo, la respuesta inmune de las células T a través de la medición de los niveles de ATP intracelulares en células T CD4), que podría haber apoyado la hipótesis de una relación directa entre la viremia de VEB y el grado de inmunosupresión.

6.7 Perspectivas de futuro

El presente estudio es observacional y por esta razón no se tomaron decisiones terapéuticas con respecto de ajustes en la inmunosupresión o tratamiento antiviral específico frente a VEB en función de los resultados obtenidos de las cargas virales, como en el caso de Bamoulid et al.². Los hallazgos del presente estudio sientan las bases para el diseño de futuros estudios de intervención, en los que el régimen inmunosupresor y de profilaxis antimicrobiana se podrían matizar en función de los resultados de la viremia por VEB. Los receptores con VEB detectable en los seis

primeros meses post-trasplante podrían beneficiarse de a) reducción de la inmunosupresión, b) uso de terapia antiviral con actividad frente a VEB, c) monitorización más estrecha a lo largo del post-trasplante.

Un estudio con este diseño permitiría confirmar la importancia del VEB como marcador de inmunosupresión en trasplantados pulmonares y su aplicación en la práctica clínica habitual.

Debería de incluir a los marcadores de inmunosupresión descritos en diferentes estudios que se realizaron hasta este momento: nivel sérico de los inmunosupresores, principalmente el de los anti-calceurínicos, déficit de IgG, déficit de complemento, número absoluto y estudios funcionales de la respuesta inmune mediada por células (ImmuKnow®) y presencia de replicación por VEB en los primeros seis meses del post-trasplante. Un futuro estudio prospectivo que validase este algoritmo sería muy importante.

7. Corolario

- 1- En los primeros seis meses tras el trasplante de pulmón se detecta viremia de VEB en sangre total en un 28,8% de los sujetos.**

- 2- El número de episodios de viremia de VEB aumenta progresivamente durante los primeros tres años. Al final de ese periodo llega a detectarse hasta en un 47,6% de los portadores de trasplante de pulmón.**

- 3- Los sujetos diagnosticados de rechazo agudo presentan una incidencia significativamente mayor de viremia de VEB.**

- 4- La presencia de carga viral de VEB $\geq 2 \log_{10}/\text{ml}$ en sangre total de receptores de trasplante pulmonar en los primeros seis meses tras el trasplante, se asocia de manera significativa al desarrollo de infecciones oportunistas a partir del sexto mes.**

- 5- La presencia de viremia de VEB en los primeros seis meses tras el trasplante se asocia de manera significativa con el desarrollo de disfunción crónica del injerto pulmonar, aunque esta asociación no se mantiene en el estudio multivariante.**

8. Conclusión

La positividad de la viremia de VEB en los primeros seis meses tras el trasplante de pulmón predice el desarrollo de infecciones oportunistas tardías, por lo que se puede considerar como un marcador indirecto del grado de inmunosupresión.

9. Comunicaciones en relación con la Tesis

1) 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Copenhagen, Dinamarca, Abril de 2015:

Jose Tiago Silva, Francisco López-Medrano, Mario Fernández-Ruiz, Rafael San-Juan, Alicia de Pablo-Gafas, Rodrigo Alonso-Moralejo, Virginia Pérez-González, Maria Asunción Pérez-Jacoiste Asin, Elena Resino-Foz, Alejandra Morales-Cartagena, Dolores Folgueira, Jose Maria Aguado. “Epstein-Barr DNAemia as a surrogate marker of immunosuppression and risk of infection in lung transplant recipients”.

2) XIX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Sevilla, España, Mayo de 2015:

JT Silva, F López-Medrano, M Fernández-Ruiz, R San-Juan, A de Pablo-Gafas, R Alonso-Moralejo, V Pérez-González, MA Pérez-Jacoiste Asin, E Resino-Foz, A Morales-Cartagena, D Folgueira, JM Aguado. “DNAemia de virus Epstein-Barr como marcador subrogado de inmunosupresión y del riesgo de infección en receptores de trasplante pulmonar”.

10. Bibliografía

1. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML, Jr., Walker GR, Jr. Lung Homotransplantation in Man. JAMA 1963; 186: 1065-74.
2. Bamoulid J, Courivaud C, Coaquette A, et al. Subclinical Epstein-Barr virus viremia among adult renal transplant recipients: incidence and consequences. Am J Transplant 2013; 13: 656-62.
3. San-Juan R, De Dios B, Navarro D, et al. Epstein-Barr virus DNAemia is an early surrogate marker of the net state of immunosuppression in solid organ transplant recipients. Transplantation 2013; 95: 688-93.
4. Morton M, Coupes B, Roberts SA, et al. Epstein-Barr virus infection in adult renal transplant recipients. Am J Transplant 2014; 14: 1619-29.
5. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Balance de actividad de la ONT en 2014. Disponible en: www.ont.es/Documents/Actividad2014.pdf. Visualizado el 3 de Mayo de 2015.
6. Daga Ruiz D, Fernandez Aguirre C, Segura Gonzalez F, Carballo Ruiz M. [Indications and long-term outcomes for solid organ transplant. Quality of life in solid organ transplant recipients]. Med Intensiva 2008; 32: 296-303.
7. Coll E, Santos F, Ussetti P, et al. The Spanish Lung Transplant Registry: first report of results (2006-2010). Arch Bronconeumol 2013; 49: 70-8.
8. Benden C, Goldfarb SB, Edwards LB, et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official pediatric lung and heart-lung transplantation report--2014; focus theme: retransplantation. J Heart Lung Transplant 2014; 33: 1025-33.
9. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. N Engl J Med 2004; 351: 2715-29.
10. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. N Engl J Med 2007; 357: 2601-14.
11. Garrido RS, Aguado JM, Diaz-Pedroche C, et al. A review of critical periods for opportunistic infection in the new transplantation era. Transplantation 2006; 82: 1457-62.

12. Burguete SR, Maselli DJ, Fernandez JF, Levine SM. Lung transplant infection. *Respirology* 2013; 18: 22-38.
13. Witt CA, Meyers BF, Hachem RR. Pulmonary infections following lung transplantation. *Thorac Surg Clin* 2012; 22: 403-12.
14. Aguilar-Guisado M, Givalda J, Ussetti P, et al. Pneumonia after lung transplantation in the RESITRA Cohort: a multicenter prospective study. *Am J Transplant* 2007; 7: 1989-96.
15. Kovats Z, Sutto Z, Murakozy G, et al. Airway pathogens during the first year after lung transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc* 2011; 43: 1290-1.
16. Luong ML, Morrissey O, Husain S. Assessment of infection risks prior to lung transplantation. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23: 578-83.
17. Corris PA. Lung transplantation for cystic fibrosis and bronchiectasis. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34: 297-304.
18. Clark NM, Reid GE. Nocardia infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013; 13 Suppl 4: 83-92.
19. Olland A, Falcoz PE, Kessler R, Massard G. Should cystic fibrosis patients infected with *Burkholderia cepacia* complex be listed for lung transplantation? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; 13: 631-4.
20. Alexander BD, Petzold EW, Reller LB, et al. Survival after lung transplantation of cystic fibrosis patients infected with *Burkholderia cepacia* complex. *Am J Transplant* 2008; 8: 1025-30.
21. Aguado JM, Torre-Cisneros J, Fortun J, et al. Tuberculosis in solid-organ transplant recipients: consensus statement of the group for the study of infection in transplant recipients (GESITRA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1276-84.
22. Torre-Cisneros J, Doblaz A, Aguado JM, et al. Tuberculosis after solid-organ transplant: incidence, risk factors, and clinical characteristics in the RESITRA (Spanish Network of Infection in Transplantation) cohort. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1657-65.
23. Chernenko SM, Humar A, Hutcheon M, et al. Mycobacterium abscessus infections in lung transplant recipients: the international experience. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 1447-55.

24. Malouf MA, Glanville AR. The spectrum of mycobacterial infection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1611-6.
25. American Thoracic Society Documents. An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases. Disponible en: http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Guidelines-Patient_Care/PDF_Library/NTM%20Disease.pdf. Visualizado el 20 de Mayo de 2015.
26. Zamora MR. Cytomegalovirus and lung transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4: 1219-26.
27. Zuk DM, Humar A, Weinkauff JG, Lien DC, Nador RG, Kumar D. An international survey of cytomegalovirus management practices in lung transplantation. *Transplantation* 2010; 90: 672-6.
28. Ramanan P, Razonable RR. Cytomegalovirus infections in solid organ transplantation: a review. *Infect Chemother* 2013; 45: 260-71.
29. Humar A, Snyderman D. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 Suppl 4: S78-86.
30. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica de Valcyte. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/64829/FT_.pdf. Visualizado en 3 de Junio de 2015.
31. Shalhoub S, Husain S. Community-acquired respiratory viral infections in lung transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26: 302-8.
32. Meylan PR, Aubert JD, Kaiser L. Influenza transmission to recipient through lung transplantation. *Transpl Infect Dis* 2007; 9: 55-7.
33. Le Page AK, Kainer G, Glanville AR, Tu E, Bhonagiri D, Rawlinson WD. Influenza B virus transmission in recipients of kidney and lung transplants from an infected donor. *Transplantation* 2010; 90: 99-102.
34. Lopez-Medrano F, Cordero E, Gavalda J, et al. Management of influenza infection in solid-organ transplant recipients: consensus statement of the Group for the Study of Infection in Transplant Recipients (GESITRA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) and the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31: 526 e1-e20.

35. Glanville AR, Scott AI, Morton JM, et al. Intravenous ribavirin is a safe and cost-effective treatment for respiratory syncytial virus infection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 2114-9.
36. Marcelin JR, Wilson JW, Razonable RR. Oral ribavirin therapy for respiratory syncytial virus infections in moderately to severely immunocompromised patients. *Transpl Infect Dis* 2014; 16: 242-50.
37. Zamora MR, Budev M, Rolfe M, et al. RNA interference therapy in lung transplant patients infected with respiratory syncytial virus. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 531-8.
38. Yang K, Varga SM. Mucosal vaccines against respiratory syncytial virus. *Curr Opin Virol* 2014; 6: 78-84.
39. Bhaskaran A, Hosseini-Moghaddam SM, Rotstein C, Husain S. Mold infections in lung transplant recipients. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34: 371-9.
40. Pappas PG, Alexander BD, Andes DR, et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1101-11.
41. Gordon SM, Avery RK. Aspergillosis in lung transplantation: incidence, risk factors, and prophylactic strategies. *Transpl Infect Dis* 2001; 3: 161-7.
42. Singh N, Husain S. Aspergillus infections after lung transplantation: clinical differences in type of transplant and implications for management. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22: 258-66.
43. Neofytos D, Fishman JA, Horn D, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2010; 12: 220-9.
44. Steinbach WJ, Marr KA, Anaissie EJ, et al. Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry. *J Infect* 2012; 65: 453-64.
45. Nunley DR, Gal AA, Vega JD, Perlino C, Smith P, Lawrence EC. Saprophytic fungal infections and complications involving the bronchial anastomosis following human lung transplantation. *Chest* 2002; 122: 1185-91.
46. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of

Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1813-21.

47. Berge M, Guillemain R, Boussaud V, et al. Voriconazole pharmacokinetic variability in cystic fibrosis lung transplant patients. *Transpl Infect Dis* 2009; 11: 211-9.

48. Avery RK. Antifungal prophylaxis in lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2011; 32: 717-26.

49. Sole A, Salavert M. Fungal infections after lung transplantation. *Curr Opin Pulm Med* 2009; 15: 243-53.

50. Bhat SV, Paterson DL, Rinaldi MG, Veldkamp PJ. *Scedosporium prolificans* brain abscess in a patient with chronic granulomatous disease: successful combination therapy with voriconazole and terbinafine. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 87-90.

51. Howden BP, Slavin MA, Schwarzer AP, Mijch AM. Successful control of disseminated *Scedosporium prolificans* infection with a combination of voriconazole and terbinafine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 111-3.

52. Husain S, Munoz P, Forrest G, et al. Infections due to *Scedosporium apiospermum* and *Scedosporium prolificans* in transplant recipients: clinical characteristics and impact of antifungal agent therapy on outcome. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 89-99.

53. Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 695-704.

54. Carneiro HA, Coleman JJ, Restrepo A, Mylonakis E. *Fusarium* infection in lung transplant patients: report of 6 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2011; 90: 69-80.

55. Lortholary O, Obenga G, Biswas P, et al. International retrospective analysis of 73 cases of invasive fusariosis treated with voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 4446-50.

56. Macsween KF, Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advances. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 131-40.

57. Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 1993-2000.

58. Zimmer U, Adldinger HK, Lenoir GM, et al. Geographical prevalence of two types of Epstein-Barr virus. *Virology* 1986; 154: 56-66.

59. Odegaard K. Kissing as a mode of transmission of infectious mononucleosis. *Lancet* 1967; 1: 1052-3.
60. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N Engl J Med* 2004; 350: 1328-37.
61. Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg* 1958; 46: 218-23.
62. Ziegler JL. Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 1981; 305: 735-45.
63. Weiss LM, Movahed LA, Warnke RA, Sklar J. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 1989; 320: 502-6.
64. Cader FZ, Vockerodt M, Bose S, et al. The EBV oncogene LMP1 protects lymphoma cells from cell death through the collagen-mediated activation of DDR1. *Blood* 2013; 122: 4237-45.
65. Merchant M, Caldwell RG, Longnecker R. The LMP2A ITAM is essential for providing B cells with development and survival signals in vivo. *J Virol* 2000; 74: 9115-24.
66. Jones JF, Shurin S, Abramowsky C, et al. T-cell lymphomas containing Epstein-Barr viral DNA in patients with chronic Epstein-Barr virus infections. *N Engl J Med* 1988; 318: 733-41.
67. Ho JH. An epidemiologic and clinical study of nasopharyngeal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978; 4: 182-98.
68. Brooks L, Yao QY, Rickinson AB, Young LS. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: coexpression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts. *J Virol* 1992; 66: 2689-97.
69. Mosialos G, Birkenbach M, Yalamanchili R, VanArsdale T, Ware C, Kieff E. The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell* 1995; 80: 389-99.
70. Allen U, Preiksaitis J. Epstein-barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 Suppl 4: S87-96.
71. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013; 13 Suppl 4: 107-20.

72. Baldanti F, Rognoni V, Cascina A, Oggionni T, Tinelli C, Meloni F. Post-transplant lymphoproliferative disorders and Epstein-Barr virus DNAemia in a cohort of lung transplant recipients. *Virology* 2011; 8: 421.
73. Parker A, Bowles K, Bradley JA, et al. Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol* 2010; 149: 675-92.
74. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, Moulin B, Hirsch HH, Meylan P. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 Suppl 7: 109-18.
75. Ahya VN, Douglas LP, Andreadis C, et al. Association between elevated whole blood Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA EBV polymerase chain reaction and reduced incidence of acute lung allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26: 839-44.
76. Bakker NA, Verschuuren EA, Erasmus ME, et al. Epstein-Barr virus-DNA load monitoring late after lung transplantation: a surrogate marker of the degree of immunosuppression and a safe guide to reduce immunosuppression. *Transplantation* 2007; 83: 433-8.
77. Haque T, Thomas JA, Parratt R, Hunt BJ, Yacoub MH, Crawford DH. A prospective study in heart and lung transplant recipients correlating persistent Epstein-Barr virus infection with clinical events. *Transplantation* 1997; 64: 1028-34.
78. Engelmann I, Welte T, Fuhner T, et al. Detection of Epstein-Barr virus DNA in peripheral blood is associated with the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Clin Virol* 2009; 45: 47-53.
79. Fernandez-Ruiz M, Lopez-Medrano F, Romo EM, et al. Pretransplant lymphocyte count predicts the incidence of infection during the first two years after liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 1209-16.
80. Fernandez-Ruiz M, Lopez-Medrano F, Allende LM, et al. Kinetics of peripheral blood lymphocyte subpopulations predicts the occurrence of opportunistic infection after kidney transplantation. *Transpl Int* 2014; 27: 674-85.
81. Goldfarb NS, Avery RK, Goormastic M, et al. Hypogammaglobulinemia in lung transplant recipients. *Transplantation* 2001; 71: 242-6.

82. Fernandez-Ruiz M, Lopez-Medrano F, Varela-Pena P, et al. Monitoring of immunoglobulin levels identifies kidney transplant recipients at high risk of infection. *Am J Transplant* 2012; 12: 2763-73.
83. Munoz P, Giannella M, Alcala L, et al. Clostridium difficile-associated diarrhea in heart transplant recipients: is hypogammaglobulinemia the answer? *J Heart Lung Transplant* 2007; 26: 907-14.
84. Kawut SM, Shah L, Wilt JS, et al. Risk factors and outcomes of hypogammaglobulinemia after lung transplantation. *Transplantation* 2005; 79: 1723-6.
85. Sarmiento E, del Pozo N, Gallego 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. *Transpl Infect Dis* 2012; 14: 526-39.
86. Fernandez-Ruiz M, Lopez-Medrano F, Varela-Pena P, et al. Hypocomplementemia in kidney transplant recipients: impact on the risk of infectious complications. *Am J Transplant* 2013; 13: 685-94.
87. Fernandez-Ruiz M, Kumar D, Husain S, et al. Utility of a Monitoring Strategy for Human Herpesviruses 6 and 7 Viremia After Liver Transplantation: A Randomized Clinical Trial. *Transplantation* 2015; 99: 106-13.
88. DesJardin JA, Cho E, Supran S, Gibbons L, Werner BG, Snyderman DR. Association of human herpesvirus 6 reactivation with severe cytomegalovirus-associated disease in orthotopic liver transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1358-62.
89. Rogers J, Rohal S, Carrigan DR, et al. Human herpesvirus-6 in liver transplant recipients: role in pathogenesis of fungal infections, neurologic complications, and outcome. *Transplantation* 2000; 69: 2566-73.
90. Federica M, Nadia S, Monica M, et al. Clinical and immunological evaluation of 12-month azithromycin therapy in chronic lung allograft rejection. *Clin Transplant* 2011; 25: E381-9.
91. Carratala J, Garcia-Vidal C, Ortega L, et al. Effect of a 3-step critical pathway to reduce duration of intravenous antibiotic therapy and length of stay in community-acquired pneumonia: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2012; 172: 922-8.
92. American Thoracic Society Documents. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated

Pneumonia. Disponible en: http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Guidelines-Patient_Care/PDF_Library/HAP.pdf. Visualizado el 03 de Mayo de 2015.

93. Humar A, Michaels M. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 262-74.
94. Knoop C, Estenne M. Chronic allograft dysfunction. *Clin Chest Med* 2011; 32: 311-26.
95. Sato M, Waddell TK, Wagnetz U, et al. Restrictive allograft syndrome (RAS): a novel form of chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30: 735-42.
96. Woodrow JP, Shlobin OA, Barnett SD, Burton N, Nathan SD. Comparison of bronchiolitis obliterans syndrome to other forms of chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 1159-64.
97. Meyer KC, Raghu G, Verleden GM, et al. An international ISHLT/ATS/ERS clinical practice guideline: diagnosis and management of bronchiolitis obliterans syndrome. *Eur Respir J* 2014; 44: 1479-503.
98. Wada K, Kubota N, Ito Y, et al. Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1426-32.
99. Walker RC, Paya CV, Marshall WF, et al. Pretransplantation seronegative Epstein-Barr virus status is the primary risk factor for posttransplantation lymphoproliferative disorder in adult heart, lung, and other solid organ transplantations. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 214-21.
100. Li L, Chaudhuri A, Weintraub LA, et al. Subclinical cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with adverse outcomes in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2007; 11: 187-95.
101. Barkholt L, Linde A, Falk KI. OKT3 and ganciclovir treatments are possibly related to the presence of Epstein-Barr virus in serum after liver transplantation. *Transpl Int* 2005; 18: 835-43.

102. Halliday N, Smith C, Atkinson C, et al. Characteristics of Epstein-Barr viraemia in adult liver transplant patients: a retrospective cohort study. *Transpl Int* 2014; 27: 838-46.
103. Funch DP, Walker AM, Schneider G, Ziyadeh NJ, Pescovitz MD. Ganciclovir and acyclovir reduce the risk of post-transplant lymphoproliferative disorder in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005; 5: 2894-900.
104. Venturi C, Bueno J, Gavalda J, et al. Impact of valganciclovir on Epstein-Barr Virus polymerase chain reaction in pediatric liver transplantation: preliminary report. *Transplant Proc* 2009; 41: 1038-40.
105. Kirk AD, Ford E, Fischer S, et al. Epstein Barr virus as a biological indicator of immunosuppression in human renal transplantation [Abstract 245]. *World Transplant Congress Abstract Book* 2006:148.
106. Smith JM, Corey L, Bittner R, et al. Subclinical viremia increases risk for chronic allograft injury in pediatric renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1579-86.
107. Krumbholz A, Sandhaus T, Gohlert A, et al. Epstein-Barr virus-associated pneumonia and bronchiolitis obliterans syndrome in a lung transplant recipient. *Med Microbiol Immunol* 2010; 199: 317-22.
108. Egan JJ, Stewart JP, Hasleton PS, et al. Epstein-Barr virus associated graft failure following heart/lung transplantation. *Thorax* 1996; 51: 1160-2; discussion 4-5.