



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Genotipificación de HCMV a partir de muestras de saliva en pacientes receptores de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación Hospital de la Misericordia

Diana Carolina Alvarez Correa

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de odontología

Bogotá, Colombia

2016

Genotipificación de HCMV a partir de muestras de saliva en pacientes receptores de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación Hospital de la Misericordia

Diana Carolina Álvarez Correa

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Estomatología Pediátrica y Ortopedia Maxilar

Directora:

Sonia del Pilar Bohórquez Ávila

Odontóloga

MSc Patología Oral

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología

Bogotá, Colombia

2016

Dedicatoria

A Dios por mi vida

A mis padres por su apoyo incondicional, son mi pilar y mi razón de ser

Agradecimientos a:

Todos los pacientes que participaron en este estudio y a sus acudientes.

La Fundación Hospital de la Misericordia por permitir mi crecimiento profesional y personal

Los médicos de la Unidad de Trasplante: Flor Marcela Estupiñan y Mauricio Chaparro por su interés y colaboración en el desarrollo de este trabajo.

Resumen

El trasplante de precursores hematopoyéticos es una alternativa de tratamiento para algunas enfermedades hematológicas, neoplasias malignas o enfermedades metabólicas.

Múltiples complicaciones pueden presentarse durante el tratamiento, una de las principales es la infección/reactivación de HCMV, que puede causar neumonía, retinitis, problemas gastrointestinales e incluso la muerte. **Objetivos:** Analizar la relación entre el curso clínico de los pacientes pediátricos receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos y la infección / reactivación de HCMV detectada por Antigenemia o PCR. **Materiales y métodos:** Se revisaron las historias clínicas para determinar las complicaciones de los pacientes durante la hospitalización y su relación con CMV.

Resultados: El estado serológico tanto del donante como del receptor predispone al desarrollo de complicaciones, de 17 pacientes evaluados durante la hospitalización, se encontró neutropenia febril, EICH, mucositis, neumonía, 3 pacientes fallecieron.

Conclusiones: Existen factores de riesgo que predisponen al desarrollo de complicaciones en pacientes receptores de trasplante, principalmente el estado serológico del receptor y su relación con la serología del donante. La complicación más frecuentemente encontrada en estos pacientes fue la neutropenia febril.

Palabras clave: Citomegalovirus humano, trasplante de precursores hematopoyéticos, serología, antigenemia.

Abstract

The hematopoietic stem cell transplantation is a treatment option for certain hematologic diseases, metabolic diseases or malignancies.

Severe complications can occur during treatment, it is one of the main infection / reactivation of HCMV, which can cause transplant rejection, retinitis, gastrointestinal diseases, pneumonia and even death. **Objectives:** To analyze the relationship between the clinical course of pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients and infection / reactivation of HCMV detected by antigenemia or PCR. **Materials and Methods:** The medical records were reviewed to determine the complications of patients during hospitalization and their relationship with CMV. **Results:** The serology status of donor and the recipient predisposes to the development of complications, of 17 patients evaluated during hospitalization, febrile neutropenia, GVHD, mucositis, pneumonia was found. Three patients died. **Conclusions:** There are risk factors that predispose to the development of complications in transplant recipients, mainly serostatus receptor and its relationship with the donor serology. The most common complication was febrile neutropenia.

Keywords: human cytomegalovirus, hematopoietic stem cell transplantation, serology, antigenemia

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XII
Lista de Símbolos y abreviaturas	XIII
Introducción	14
1. Problema de Investigación	16
1.1 Pregunta de investigación.....	16
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo General.....	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. Justificación	19
4. Marco Teórico	20
4.1 Citomegalovirus Humano.....	20
4.1.1 Transmisión	20
4.1.2 Estructura.....	21
4.1.3 Genoma	22
4.1.4 Ciclo de vida de HCMV	23
4.1.5 Latencia	24
4.1.6 Enfermedades asociadas a HCMV.....	25
4.1.7 Complicaciones asociadas a HCMV en pacientes trasplantados	25
4.1.8 Diagnóstico	29
4.2 Trasplante de precursores hematopoyéticos en niños	29
4.2.1 Historia.....	29
4.2.2 Indicaciones para el HSCT	30
4.2.3 Tipos	31
4.2.4 Diagnóstico y tratamiento de la infección/reactivación por CMVH en receptores de trasplantes	32
5. Metodología	34
5.1 Tipo de estudio	34
5.2 Población.....	34
5.3 Muestra	34

5.4	Criterios de inclusión	34
5.5	Criterios de exclusión	34
5.6	Consideraciones éticas	34
5.7	Procedimientos.....	35
6.	Resultados	37
7.	Discusión.....	50
8.	Conclusiones y recomendaciones	55
8.1	Conclusiones.....	55
8.2	Recomendaciones.....	55
A.	Anexo 1: Consentimiento Informado.....	57
B.	Anexo 2: Asentimiento informado	61
C.	Anexo 3. Folleto informativo	65
D.	nexo 3: Folleto informativo	66
D.	Anexo 4: tabla de recolección de información	68
	Bibliografía	71

Lista de figuras

	Pág.
Figura 6-1: Distribución por género.....	37
Figura 6-2: Distribución de los diagnósticos.....	38
Figura 6-3: Tipo de Trasplante.....	38
Figura 6-4: Tipo de donante.....	39
Figura 6-5: Serología pre-trasplante.....	39
Figura 6-6: Complicaciones.....	40
Figura 6-7: Relación entre estado serológico del receptor y recuento de Leucocitos.....	41
Figura 6-8: Relación entre estado serológico del receptor y recuento de neutrófilos.....	41
Figura 6-9: Relación estado serológico receptor y plaquetas.....	42
Figura 6-10: Comportamiento recuento leucocitario por paciente.....	42
Figura 6-11: Comportamiento recuento de neutrófilos por paciente.....	43
Figura 6-12: Relación complicaciones y número de pacientes.....	45

Lista de tablas

	Pág.
<p>Para el par de variables género y serología del receptor se realizó el contraste de hipótesis obteniendo un p-valor de 0.12, de esta manera con un nivel de significancia de 5% ($\alpha = 0.05$) no se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, no hay evidencia estadística para decir que las variables son dependientes lo que significa que el resultado de la serología del receptor y el género son independientes. (Tabla 6-1)</p>	
Tabla 6-1 Relación género y serología del receptor.....	40
Tabla 6-2: Neutropenia Febril.....	43
Tabla 6-3: Cistitis.....	43
Tabla 6-4: Neumonía.....	43
Tabla 6-5: Falla multiorgánica.....	44
Tabla 6-6: Mucositis.....	44
Tabla 6-7: Bacteremia.....	44
Tabla 6-8: alergia IgG	44
Tabla 6-9: caracterización de los pacientes.....	46

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
HCMV ó CMV	Citomegalovirus Humano
PCR	Reacción en Cadena de Polimerasa
HSCT	Trasplante de Precursores Hematopoyéticos
IgM	Inmunoglobulina M
IgG	Inmunoglobulina G
EICH	Enfermedad Injerto contra Huésped
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

Introducción

Como un paso inicial en el estudio de la posible relación entre los genotipos de HCMV, obtenido a partir de muestras de saliva, se plantea en este documento el análisis de la relación entre la serología para citomegalovirus previa al trasplante y la detección de la infección /reactivación por antigenemia y PCR con el curso clínico. Este análisis es un objetivo específico del trabajo inicialmente planteado.

El trasplante de precursores hematopoyéticos se ha constituido en una alternativa de tratamiento definitivo para un espectro cada vez más amplio de condiciones, que abarcan desde neoplasias malignas hematológicas y tumores sólidos hasta alteraciones congénitas o adquiridas en la hematopoyesis y desórdenes metabólicos. Se han logrado mejoras significativas en los protocolos de obtención de las células y en los regímenes de preparación del paciente, antes de recibir el trasplante; sin embargo las complicaciones pos trasplante, principalmente infecciosas, continúan siendo una causa preponderante de morbimortalidad.

El citomegalovirus humano es un virus herpes, que ha coevolucionado con sus hospederos para lograr la transmisión a hospederos no infectados y persistir en ellos de por vida, mediante el establecimiento de latencia. Uno de los principales mecanismos desarrollados para este fin es la capacidad de modular la respuesta inmunológica y otra característica que lo diferencia de otros miembros de la familia herpes es la capacidad de infectar distintos tipos celulares. Considerando que la mayoría de la población a nivel mundial es positiva para citomegalovirus y que usualmente se trasmite en los primeros años de vida,

es de esperar que sea causante de infecciones y complicaciones en los pacientes trasplantados.

La complicación más asociada con citomegalovirus en los pacientes trasplantados es la neumonía seguida por gastroenteritis; también se reporta la relación con Enfermedad Injerto Contra Huésped e incluso se relaciona con el fracaso del trasplante y el fallecimiento del paciente

Con el objetivo de analizar la relación entre el curso clínico de los pacientes pediátricos receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos y la infección / reactivación de HCMV detectada por Antigenemia o PCR, se realizó este trabajo en los pacientes receptores de trasplante de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia, que ingresaron entre abril y octubre de 2016. Se incluyeron 17 pacientes, 9 de sexo masculino y 8 de sexo femenino, de los 17 pacientes 11 tenían un diagnóstico de neoplasia maligna y 15 recibieron trasplante alogénico. De los 17 pacientes, 14 tuvieron IgG positiva para citomegalovirus antes del trasplante y la complicación más frecuente fue la neutropenia febril.

1. Problema de Investigación

El trasplante de precursores hematopoyéticos se constituye en una alternativa de tratamiento para neoplasias malignas, alteraciones congénitas y condiciones metabólicas en pacientes pediátricos (1).

El régimen de preparación del paciente antes del trasplante produce una intensa inmunosupresión que predispone al desarrollo de complicaciones infecciosas, bacterianas, micóticas y virales, en particular el citomegalovirus humano (HCMV). La infección/ reactivación por este virus durante el proceso del trasplante se ha asociado con importante morbilidad, por ejemplo neumonía, encefalitis, complicaciones gastrointestinales, lesiones en piel y mucosas, enfermedad injerto contra huésped, entre otras, e incluso puede producir la muerte (2).

Sin embargo no es clara la relación entre la infección / reactivación de HCMV y las diversas comorbilidades y a su vez la relación con variables como el diagnóstico del paciente previo al trasplante, el tipo de trasplante, la serología positiva para HCMV previa al trasplante y otras.

1.1 Pregunta de investigación

Cuál es la relación entre las complicaciones desarrolladas por los pacientes pediátricos receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos y la infección / reactivación de HCMV?

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Analizar la relación entre el curso clínico de los pacientes pediátricos receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos y la infección / reactivación de HCMV detectada por Antigenemia o PCR

2.2 Objetivos específicos

- A partir de la historia clínica recolectar los datos de los pacientes que ingresaron a la Unidad de Trasplante de precursores hematopoyéticos y que cumplen los criterios de inclusión.
- Encontrar factores de riesgo o protección para el desarrollo de las complicaciones y la infección/reactivación de HCMV.

3. Justificación

Desde el inicio de los trasplantes de células madre hematopoyéticas las infecciones han constituido una de las mayores preocupaciones y dentro de éstas, las causadas por el HCMV. Se ha establecido que la mayor probabilidad para el desarrollo de las complicaciones asociadas a HCMV es en el periodo entre el día +30 y el día +100, luego del trasplante. Las estrategias empleadas para prevenir y/o tratar estas complicaciones incluyen la profilaxis o la terapia anticipada; hasta el momento no se ha establecido claramente si debe aplicarse profilaxis o terapia anticipada y cuál es el mejor momento para iniciar esta administración. Por lo tanto se propone que el análisis de la relación entre las variables asociadas con el paciente, el desarrollo de complicaciones y la infección / reactivación de HCMV puede apoyar la toma de decisiones en cuanto al reconocimiento de la infección /reactivación y la estrategia de prevención y/o tratamiento.

4. Marco Teórico

4.1 Citomegalovirus Humano

El Citomegalovirus humano (HCMV) pertenece a la familia herpesviridae, subfamilia *betaherpesvirinae*; se conoce también como el Virus Herpes Humano 5.(1). Es un virus altamente prevalente en el ser humano y se calcula por serología que infecta entre el 50 – 90% de la población en Estados Unidos y prácticamente el 100% en países en desarrollo (2). Las diferencias pueden ser consecuencia de variaciones geográficas, género y nivel socioeconómico entre otras; se evidencia alta prevalencia entre mujeres en edad reproductiva (3).

HCMV se detectó por primera vez en órganos de lactantes muertos en el año de 1904, luego Goodpasture y Talbot en 1921 le dieron el nombre de *citomegalia*. Durante 50 años se utilizó este término y generalmente el diagnóstico se realizaba *postmortem*. En 1956 Weller detectó en unas biopsias de hígado las características de las células infectadas, de forma accidental y fue quien le asignó el nombre de citomegalovirus (4).

Una de las principales características de este virus, y de toda la familia herpesviridae, es el establecimiento de latencia.

4.1.1 Transmisión

Generalmente infecta al hospedero humano en los primeros años para establecer latencia de por vida. Se transmite por fluidos corporales como saliva, orina, semen; por lactancia materna, transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos y precursores hematopoyéticos (2) (5).

Uno de los principales mecanismos de transmisión es por las descargas virales asintomáticas, lo que significa que el virus se replica y aparece en distintas secreciones

Capítulo 4. Marco Teórico

como la saliva o la orina, en individuos que no presentan ningún tipo de signo o síntoma (6).

Puede ser transmitido por vía trasplacentaria en una madre con una infección nueva o recientemente adquirida y que no tiene anticuerpos protectores. Se puede transmitir al neonato durante el paso por un canal de parto con secreciones positivas para HCMV. Aproximadamente el 2% de mujeres seronegativas que entran en embarazo, al momento del parto ya son seropositivas; se cree que la fuente principal de infección para estas mujeres son los niños más pequeños, quienes presentan descargas asintomáticas de HCMV en saliva y orina. Entre las mujeres con infección primaria durante el embarazo, 32% transmiten el virus a través de la placenta para producir infección intrauterina al feto. Puede realizarse el diagnóstico de infección intrauterina mediante amniocentesis y mediante PCR del líquido amniótico; es confiable si se realiza después de las 21 semanas de gestación y 6 semanas después de la supuesta infección. El feto también puede infectarse por reactivación de la infección latente de la madre o por reinfección con una nueva cepa de HCMV(7). Se calcula que el riesgo de desarrollar enfermedad severa por la infección intrauterina es del 20%.

En el trasplante de órganos sólidos, frecuentemente los donantes seropositivos (aproximadamente 78%) lo transmiten a receptores seronegativos. Aproximadamente 40% de receptores seropositivos reactivan la infección latente de HCMV cuando se administran fármacos inmunosupresores y algunos donantes seropositivos pueden adquirir cepas nuevas. Estas infecciones pueden detectarse por antigenemia para pp65 o por PCR (7).

4.1.2 Estructura

Al igual que todos los virus herpes su estructura está compuesta por una cápside viral icosaédrica, rodeada por una capa de proteínas llamada tegumento y externa a ésta una bicapa lipídica que se encuentra tapizada con glicoproteínas. Estas proteínas incluyen las que inician la respuesta inmune y las que se han utilizado para el desarrollo de las vacunas. La envoltura externa es fosfolipídica con aproximadamente 30 a 40 proteínas de origen viral y de la célula hospedera (1).

4.1.3 Genoma

Tiene el genoma de mayor tamaño entre los virus Herpes con aproximadamente 235 kb y codifica aproximadamente 167 proteínas virales únicas(1)(8) y es el de mayor complejidad. Se divide en las regiones Unique Long (UL), Unique Short (US), cada una flanqueada por regiones terminales repetidas TRL y TRS y regiones internas repetidas IRS y IRL. La mayor parte de este genoma codifica para proteínas pero también para RNA poliadenilado no codificante: RNA2.7, RNA1.2, RNA4.9, y RNA5.0; el genoma de HCMV codifica también para micro RNAs (9).

El genoma de HCMV codifica para glicoproteínas, como: gB, gH, gL, gO, UL128, UL130 y UL131 son las que median el reconocimiento de receptores específicos en las células hospederas; gH/gL/gO (trímero) y gH/gL/UL128/UL130/UL131 (pentámero) determinan el tropismo celular y la probable función como proteínas de unión a receptores. La glicoproteína B es esencial para la entrada en todos los tipos celulares y se conserva en todos los herpesvirus. La unión de gB a integrinas celulares o al Receptor del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas puede iniciar la cascada para la internalización viral, también participa en la fusión de células infectadas y no infectadas. Estos fusógenos virales median la unión de la envoltura viral y la membrana celular del huésped durante la entrada del virus (10).

Estudios generando apagamiento secuencial de genes de HCMV, infectando fibroblastos humanos, han establecido que hay 117 genes no esenciales y 45 esenciales; de los 45 genes esenciales para la replicación, 78% son genes conservados en toda la familia herpesviridae. Esto sugiere que los marcos abiertos de lectura (ORF) representan un ancestro genómico para todos los virus herpes. Se plantea la evolución de HCMV a partir de un genoma progenitor para posteriormente adquirir los genes no esenciales pero que favorecen la infección y patogénesis en distintos tipos celulares; esto parece explicar la amplia variedad de complicaciones atribuidas a la infección por HCMV(11).

4.1.4 Ciclo de vida de HCMV

Luego de la infección inicial y el establecimiento de latencia, este virus permanece silente, ocurriendo reactivación con el objetivo primario de lograr la transmisión a otros hospederos.

HCMV infecta y se replica en una amplia variedad de células incluyendo células epiteliales de mucosas y de glándulas, células musculares lisas, macrófagos, fibroblastos y células endoteliales vasculares. Este amplio espectro celular al parecer facilita la diseminación dentro del hospedero y la transmisión.

En las células hospederas permisivas, los genes virales son replicados en una cascada temporal siendo los primeros los denominados inmediatamente tempranos (IE); los productos más reconocidos en esta parte del ciclo son IE72 e IE86. Este grupo de genes controla la expresión génica celular y viral con el fin de generar un ambiente propicio para la siguiente fase que es la replicación del DNA de CMV, aquí intervienen los genes reconocidos como tempranos (E). Finalmente ocurre la expresión de los genes tardíos (L) relacionados con la síntesis de proteínas estructurales (12).

La replicación del DNA de HCMV es finamente regulada por proteínas virales, dentro de los cuales destaca el Promotor Inmediatamente Temprano Principal (MIEP), cuya actividad o inactividad dependen de su asociación con cromatina activa o inactiva y por lo tanto con histonas acetiladas y demetiladas o histonas deacetiladas y metiladas, respectivamente(9)(12). La replicación del ácido nucleico viral y la conformación de la cápside ocurren en el núcleo de la célula hospedera; el ensamblaje del virion ocurre en el citoplasma; la infección lítica generalmente inhibe la síntesis de RNA y proteínas de las células hospederas (13).

Durante la infección lítica, que dura aproximadamente 24 a 96 horas, HCMV logra modular el ciclo celular y las vías de señalización; puede inhibir los mecanismos de apoptosis y modula la activación de la respuesta inmunológica. Altera la transcripción, la síntesis de proteínas celulares y el metabolismo(14).

4.1.5 Latencia

CMV ha coevolucionado durante millones de años con sus hospederos vertebrados, para lograr establecer infecciones latentes. Esto ha sido posible, entre otras razones, porque este virus ha desarrollado la capacidad de modular la respuesta inmune innata y adquirida (2). Se define latencia como la persistencia del genoma viral con un perfil de transcripción de genes virales muy limitado y distintivo; la latencia se caracteriza por la ausencia en la producción de partículas virales maduras. HCMV puede permanecer latente de por vida en el hospedero, principalmente en células CD34+, pero con la capacidad de reactivarse bajo estímulos específicos, que suelen estar relacionados con disminución de la respuesta inmunológica (14).

En cuanto a este virus se reconoce un estado denominado persistencia, que consiste en el establecimiento de latencia pero con la posibilidad de reactivarse y desencadenar el ciclo lítico, esta persistencia se detecta sobretodo en precursores mieloides y en células mononucleares de sangre periférica CD14+. Es llamativo el hecho de que no se detecta establecimiento de latencia ni reactivación en células de la línea linfoide que también se han diferenciado a partir de los progenitores CD34+ (14).

Los mecanismos moleculares por los cuales HCMV establece y mantiene latencia y se reactiva siguen siendo poco conocidos. Aparentemente el establecimiento de latencia y la reactivación de HCMV en células dendríticas pueden estar relacionados con un mecanismo de evasión de la respuesta inmune, ya que algunos genes IE que se expresan al inicio de la reactivación podrían inhibir la presentación de antígenos y la producción de citoquinas. Cabe anotar que HCMV induce la síntesis de un análogo de la IL-10, conocido como cmv IL-10, con actividad semejante a la de la citoquina original (15).

Las glándulas salivares también constituyen una localización importante de persistencia de HCMV. La replicación viral en las células acinares y la descarga subsecuente en la saliva son un vehículo crucial para la transmisión horizontal, esta descarga viral por saliva puede resultar en reinfección de tejidos y órganos(16).

Capítulo 4. Marco Teórico

Después de la infección primaria los anticuerpos son detectables en suero, estos anticuerpos reconocen entre otras, proteínas del tegumento pp65 y pp150, glicoproteínas gB y gH de la envoltura y proteínas implicadas en la transcripción como IE-1 (8).

4.1.6 Enfermedades asociadas a HCMV

En individuos inmunocompetentes usualmente no se presentan manifestaciones de la infección, las mismas van a depender principalmente del estado inmunológico y la edad del hospedero. Los niños que adquieren la infección *in utero* pueden presentar retardo del desarrollo, con gran afectación: ictericia, hepatoesplenomegalia, anemia, trombocitopenia y encefalitis; también puede ocurrir neumonitis y microcefalia y esta infección puede llegar a ser fatal. La infección neonatal es asintomática en la mayoría de casos y en estos infantes puede detectarse descarga viral asintomática en saliva y orina por largos periodos de tiempo (17).

En adolescentes o adultos jóvenes puede manifestarse como mononucleosis infecciosa, cuadro caracterizado por fiebre, linfocitosis con linfocitos atípicos, linfadenopatía, hepatomegalia y hepatitis leve. La recuperación es completa pero las descargas virales continúan por periodos variables de tiempo(18).

4.1.7 Complicaciones asociadas a HCMV en pacientes trasplantados

Las infecciones por HCMV continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad después del trasplante de precursores hematopoyéticos (HSCT); el desarrollo depende de varios factores como el estado serológico tanto del receptor como del donante, uso de corticoesteroides para prevenir la enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda o crónica, si el donante es emparentado o no, el régimen de preparación y el uso de anticuerpos antilinfocitarios, entre otros (19).

En general las infecciones son las causas más comunes y significativas de mortalidad y morbilidad en los receptores del trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos. En términos generales, se describen tres fases en cuanto a la recuperación de la respuesta inmunológica y por tanto relacionadas con el desarrollo de infecciones, luego del trasplante (20):

1. Fase temprana entre las semanas 2 a 4 después de la infusión celular; es común la neutropenia con una duración entre 5 y 7 días o de 15 a 30 días dependiendo del régimen de preparación. Sería común en ésta fase encontrar infecciones bacterianas que pueden causar bacteremia, neumonía, sinusitis; pero las infecciones micóticas y virales son menos frecuentes en esta fase.
2. Fase temprana pos trasplante de 2 a 3 meses después del trasplante. Existe un alto riesgo de EICH, adicional a infecciones relacionadas con el catéter. Las bacterias entéricas pueden ser letales, especialmente si se presenta EICH intestinal. En éste periodo pueden detectarse frecuentemente virus respiratorios y hongos que pueden causar infecciones serias. En esta fase es en la que con mayor frecuencia se desarrollan las infecciones por HCMV.
3. Fase tardía, más de tres meses después del trasplante; se espera que la reconstrucción de la inmunidad celular y humoral continúe. La presencia crónica de EICH, predispone a infecciones y prolonga los tratamientos inmunosupresores.

En particular HCMV causa gran variedad de complicaciones en pacientes receptores de trasplantes, incluyendo neumonía, problemas gastrointestinales, en el sistema nervioso central, compromiso en la retina, entre otros. Los sitios anatómicos afectados varían dependiendo del compromiso del paciente, así la retinitis se detecta más frecuentemente en pacientes VIH positivos y la neumonía y el rechazo del trasplante después del HSCT (21). La infección resulta principalmente de la reactivación de virus en latencia, pero también puede ser causada por infección primaria o por infección (reinfección) con un genotipo distinto al del receptor. Se considera que el paciente más susceptible es el receptor negativo para CMV con un donante positivo R-/D+ (22). Aproximadamente el 30% de receptores seronegativos que tienen donante seropositivo desarrollan la infección primaria (19).

Capítulo 4. Marco Teórico

Como ya se dijo, la infección por HCMV generalmente se evidencia en la fase 2 (<3 meses luego del trasplante) y ocupa probablemente el primer lugar entre las causas del fracaso del trasplante (20).

La complicación por HCMV más reportada es la neumonitis cuya incidencia antes del empleo de los protocolos de profilaxis antiviral y/o terapia anticipada estaba entre el 10 y 35%, en receptores de trasplante alogénico y de 1 a 6% en pacientes con trasplante autólogo. Es una condición potencialmente fatal, con una disminución de su incidencia si se administra profilaxis después del trasplante. La incidencia es de 1% a 6% en trasplantes autólogos y de 10% a 30% en receptores de HSCT alogénicos. La distribución de neumonía por HCMV, ha sido descrita con un 69% de los casos tempranos, después del trasplante, (media de 17 días, con un rango de 5 a 26 días) y 31% tardíos (media de 209 días, rango de 138 a 329 días); los factores de riesgo específicos incluyen linfocitopenia, sexo masculino y EICH (21). La presentación clínica de la neumonía no es específica, síntomas como fiebre, tos, hipoxia y disnea pueden evidenciarse en algunos pacientes(19), se requiere un diagnóstico clínico y radiográfico. Adicionalmente se aconseja realizar identificación de CMV en sangre, y/o en el fluido broncoalveolar como método de diagnóstico en pacientes con HSCT (21). Actualmente, la mortalidad por neumonía causada por CMV ha disminuido a menos del 50% por el uso de antivirales específicos y altas dosis de inmunoglobulinas (23).

El riesgo de enfermedad por HCMV se relaciona con la reactivación de la infección en el receptor. Los receptores de trasplante alogénico, tienen el riesgo más alto, aumentando si presenta EICH. Aparte de la neumonía puede asociarse con gastroenteritis, también retinitis, fiebre, pancitopenia, hepatitis o encefalitis.

En una mini revisión realizada por Ariza y col. en el 2014, se encontró una incidencia de enfermedad gastrointestinal por HCMV en pacientes receptores de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos del 2% dos años después de HSCT; otros estudios reportan mayor incidencia en trasplantes alogénicos que en autólogos (608 Vs 58 casos por 100.000 pacientes respectivamente); los factores asociados incluyen además la administración de corticoesteroides. (21)

Se han descrito complicaciones a nivel del sistema nervioso en receptores de trasplante alogénico, de aparición tardía, con una media de 155 a 285 días después del trasplante, generalmente es de rápida progresión afectando la función cognitiva, produciendo

confusión; pero también puede ocurrir parálisis de los nervios craneales (21). También se han asociado cistitis o miocarditis después del trasplante, aunque son casos raros y esporádicos (21).

La infección causada por CMV ha sido relacionada con “efectos indirectos” que incluyen una mayor mortalidad relacionada con otras infecciones; por ésta razón se establecen estrategias de prevención en los pacientes, como profilaxis antivirales, aunque desafortunadamente esta estrategia no es 100% efectiva, debido a que el riesgo de infección se extiende progresivamente en pacientes que reciben terapias inmunosupresoras sin reconstrucción inmunitaria eficaz (24).

Al parecer los pacientes con infección por CMV, activa o latente, pueden tener un mayor riesgo de padecer otro tipo de infecciones, de tipo bacteriano o fúngico.

Después del trasplante, existen fuentes bacterianas endógenas como la flora intestinal normal, responsable de infecciones por bacterias Gram negativas; aunque el catéter puede ser una fuente de infección, principalmente de bacterias Gram positivas. En la fase inicial, la profilaxis antibacterial cumple un papel importante, el lavado de manos, la higiene oral, cuidados en la preparación de los alimentos y desparasitación se han descrito como precauciones importantes. Se sugiere un cambio en la terapia antibiótica cuando el paciente presenta neutropenia febril (20).

La compatibilidad entre el HLA del donante y receptor, predispone a un riesgo de infección, principalmente si se presenta EICH, casos en los cuales el cuadro clínico es más grave. En el caso del trasplante de cordón, que es utilizado para pacientes que no encuentran donantes emparentados, la recuperación hematopoyética es más lenta, razón por la cual la función de los neutrófilos se ve disminuida y existe un alto riesgo de infección; se destacan aspergilosis, candidiasis e infección por adenovirus (24). Comparado con otro tipo de trasplante, el riesgo de EICH y de transmisión de infecciones virales es menor debido a que las células son inmunológicamente vírgenes, sin embargo, su tasa de mortalidad es alta (25).

4.1.8 Diagnóstico

La determinación serológica de anticuerpos específicos contra HCMV (IgM e IgG), es importante para determinar el riesgo de infección después del trasplante, pero no puede ser usado como diagnóstico de infección o enfermedad (19).

Múltiples métodos diagnósticos se han desarrollado para detectar la infección / reactivación por HCMV; el más utilizado consiste en la detección de pp65 (fosfoproteína 65) examen conocido como antigenemia y la detección de ADN y la carga viral mediante PCR (21).

La antigenemia consiste en la detección de antígenos virales pp65 en neutrófilos, cabe destacar que el valor de la antigenemia puede aumentar durante la primera semana de terapia para la infección por HCMV. Adicionalmente, el uso de técnicas de detección cuantitativa de DNA ha aumentado, por su sensibilidad para detectar la carga viral. Debe recordarse que ni la antigenemia o la detección de ADN por PCR o la carga viral, son predictores fiables para el diagnóstico de enfermedad por HCMV en órganos blanco, a excepción de neumonía en pacientes receptores de HSCT; aunque algunos estudios reportan que existe una relación entre la alta carga viral o la persistencia de viremia y el riesgo de enfermedad en órganos blanco (21).

4.2 Trasplante de precursores hematopoyéticos en niños

4.2.1 Historia

El concepto de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos (HSCT) surge en la década de 1950 cuando estudios en ratones mostraron que luego de la irradiación sobrevivían con la infusión de células del bazo o de la médula (26).

Los primeros trasplantes en humanos no fueron exitosos, porque aún no se conocía el complejo mayor de histocompatibilidad. En 1959, Thomas y colaboradores reportaron un trasplante entre gemelos idénticos con leucemia, utilizando una alta dosis de radiación, el paciente se recuperó y se curó (26).

Para finales de la década de 1960, el desarrollo y conocimiento del complejo mayor de histocompatibilidad, llevó a nuevos intentos de trasplantes alogénicos de médula ósea (26).

En Estados Unidos, antes de 1975, eran pocos los trasplantes de médula ósea en niños y todos los donantes eran hermanos. Se conformó el Comité de Trasplante de Médula en 1982, posteriormente se desarrollaron y unificaron criterios para la realización de los trasplantes; en Europa, el primer reporte data de 1949, pero la historia moderna inicia en 1965, cuando un niño recibió un trasplante para tratar la agammaglobulinemia, aunque falleció 2 semanas después; luego muchos trasplantes fueron exitosos. En 1974 se funda el Grupo de Trasplante de Médula ósea Europeo (EBMT). En América Latina y en particular en Suramérica se ha observado notable avance en los últimos 35 años (26). El primer trasplante en esta región se realizó en Colombia en 1978, en una paciente con diagnóstico de hemoglobinuria paroxística nocturna, cuyo donante fue su hermana trilliza idéntica. Luego de 8 años el trasplante seguía funcionando (27). El primer trasplante para desórdenes metabólicos se realizó en Brasil, en 1988, en una niña de 5 años con mucopolisacaridosis tipo III. En 1993, también en Brasil, se hizo el primer trasplante de células de cordón umbilical en Latinoamérica, convirtiéndose posteriormente en una buena alternativa de tratamiento (26).

4.2.2 Indicaciones para el HSCT

Las células madres hematopoyéticas son indiferenciadas, con capacidad de auto-renovación y diferenciación en todo el linaje sanguíneo; su proliferación y diferenciación es regulada por el estroma e interacción con citoquinas. Las indicaciones para el trasplante dependen de la condición médica del paciente, los objetivos terapéuticos y la

Capítulo 4. Marco Teórico

disponibilidad y fuente de las células. Para el año 2006 el Registro Internacional de Trasplante de Médula Ósea (IBMTR) recolectó datos de más de 400 centros de trasplantes en el mundo. Las patologías hematológicas malignas y premalignas, fueron los diagnósticos más comunes previo al trasplante alogénico (28).

Encontrar un donante adecuado, es una de las grandes dificultades a las cuales se encuentran expuestos la mayoría de los pacientes para asegurar el éxito del trasplante; se reporta que en alrededor del 50% de los casos se encuentran donantes con HLA compatible, ya sean relacionados idénticos o no relacionados, pero seguramente esta cifra varía según el área geográfica (29).

4.2.3 Tipos

Pueden ser autólogos (células del mismo paciente), son más seguros, con una baja mortalidad e incluso realizados en edades mayores. Tienen efectos adversos reducidos. En los trasplantes alogénicos el paciente recibe células de un donante no idéntico, en este tipo de trasplante existe riesgo de EICH y el paciente debe recibir un régimen de acondicionamiento más intenso (30).

Las células del trasplante autólogo son recolectadas del mismo paciente antes de someterse a altas dosis de quimioterapia, las células se recolectan directamente de la médula ósea o de sangre periférica, se congelan y después se hace la infusión al paciente.

En el caso del trasplante alogénico, se requiere un donante, se prefieren los hermanos, dado el alto grado de histocompatibilidad, que está determinado por la “coincidencia” de los genes HLA del receptor y donante. Esta compatibilidad también se busca cuando el donante no es emparentado o en el caso de trasplante de cordón umbilical. Las fuentes de células utilizadas para el trasplante pueden ser de médula ósea, sangre periférica o cordón umbilical, razón por la cual se ha venido cambiando el término trasplante de médula ósea por trasplante de precursores hematopoyéticos (31).

4.2.4 Diagnóstico y tratamiento de la infección/reactivación por CMVH en receptores de trasplantes

Las personas que se someten a este tipo de tratamiento se encuentran inmunosuprimidas debido al acondicionamiento previo; se administra un régimen de preparación, con quimioterapia, que generalmente desencadena una serie de efectos adversos en los pacientes. La finalidad del régimen de acondicionamiento es “preparar” el organismo, especialmente la médula ósea, para la recepción del trasplante y según el caso lograr la erradicación definitiva de células neoplásicas malignas (32); como ya se describió, en el periodo postrasplante se esperan alteraciones secuenciales de la inmunidad (20) (33).

Se ha establecido un esquema de profilaxis antimicrobiana que incluye la administración de antivirales. Este esquema se aplica desde aproximadamente el día -9 ó -7 antes del trasplante y se mantiene aproximadamente hasta el día 100+ después del trasplante, en pacientes de alto riesgo de infección.

Para evitar las complicaciones asociadas a HCMV antes mencionadas, se han propuesto dos alternativas: la terapia anticipada con ganciclovir o su profármaco valganciclovir, los cuales tienen efectos secundarios tóxicos y la profilaxis durante 100 a 200 días en receptores de trasplante de alto riesgo disminuye la incidencia de infección y la enfermedad en un 35 a 50% (8).

Se ha demostrado que la profilaxis antiviral es efectiva, valganciclovir se administra por un periodo de aproximadamente 100 a 200 días después del trasplante, aunque algunos pacientes pueden desarrollar complicaciones después de suspendida la profilaxis, particularmente en los casos donde los receptores son seronegativos y los donantes seropositivos (7).

Entre los efectos secundarios del ganciclovir se encuentra la neutropenia y trombocitopenia, generalmente en fases tempranas del trasplante. Otros antivirales empleados son el foscarnet que puede causar falla renal aguda o alteraciones electrolíticas; por lo que es considerado de segunda línea. El cidofovir, tiene efectos

Capítulo 4. Marco Teórico

nefrotóxicos y causa mielosupresión, es considerado de tercera línea para la infección por HCMV (21)(20).

El tratamiento para la infección por citomegalovirus consiste en “dosis de inducción” con ganciclovir o foscarnet aproximadamente por 2 semanas, generalmente el tratamiento debe continuar hasta la resolución de los síntomas y hasta que la serología sea negativa, si el paciente tiene una carga viral o antigenemia positiva, debe mantenerse hasta que los niveles empiecen a disminuir (21).

El estado serológico del donante y receptor generan controversia en cuanto a las complicaciones que puedan presentarse después del trasplante, así los receptores de HSCT seropositivos para HCMV, tienen mayor riesgo de reactivación y varios estudios indican que está asociado con la mortalidad después del trasplante alogénico. Sin profilaxis, aproximadamente el 80% de pacientes seropositivos pueden experimentar infección después del trasplante (21).

La terapia anticipada (preemptive therapy en inglés), es una alternativa de tratamiento para pacientes trasplantados, con viremia por CMV detectada en sangre periférica y se basa en la utilización de agentes antivirales como el ganciclovir. Persiste el debate sobre la administración de la profilaxis o de la terapia anticipada, tanto en receptores de HSCT como en receptores de trasplantes de órganos sólidos. Se recomienda el seguimiento del paciente mediante la carga viral para evaluar el resultado y suspender o disminuir el medicamento antiviral (34). A pesar de la efectividad del ganciclovir, sus efectos adversos como la trombocitopenia o la mielotoxicidad continúan siendo una razón para evaluar detenidamente la aplicación de esta terapia, la dosis y el momento de la suspensión (35).

5. Metodología

5.1 Tipo de estudio

Descriptivo observacional longitudinal, de pacientes de la Unidad de Trasplante de Precusores Hematopoyéticos de la Fundación Hospital de la Misericordia entre abril y octubre de 2016

5.2 Población

Pacientes que ingresaron a la Unidad de Trasplante de Precusores Hematopoyéticos de la Fundación Hospital de la Misericordia.

5.3 Muestra

No se realizó muestreo probabilístico ni tamaño de la muestra. Este estudio se realizó en pacientes receptores de trasplante, que ingresaron entre abril y octubre de 2016

5.4 Criterios de inclusión

Pacientes que ingresaron a la Unidad de Trasplante de Precusores Hematopoyéticos de la Fundación Hospital de la Misericordia entre Abril y Octubre de 2016

5.5 Criterios de exclusión

Niños menores de 2 años.

Niños que no aceptaron participar en el estudio y niños cuyos acudientes no aceptaron la participación del menor en el estudio.

5.6 Consideraciones éticas

Para el presente estudio, se siguieron las normas establecidas según la Resolución Número 8430 De 1993 del Ministerio de Salud, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.

Con respecto a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, reza en el artículo 5: “En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y su bienestar”. La confidencialidad del estudio está dada porque los datos de la Historia Clínica y/o resultados obtenidos solo serán divulgados como información científica y a cada paciente se le dará un código alfa numérico de tal forma que solo quien realice el análisis de la información conocerá la identificación. Según el artículo 6 se cumplirán los criterios de autorización para toma de muestras de saliva por medio escrito mediante consentimiento informado que se encuentra aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia y de la Fundación Hospital de la Misericordia (Anexo 1). Además según lo estipulado en el artículo 10 se explican riesgos en la toma de las muestras a los pacientes y sus acudientes; que pueden ser en este caso alergia a los guantes y la cera utilizada durante la toma. De acuerdo a lo estipulado en el artículo 11, la investigación está clasificada como de riesgo mínimo; por tratarse de recolección de secreciones externas(36).

5.7 Procedimientos

Se llevó a cabo el diligenciamiento del consentimiento informado, se brindó la información sobre el estudio y se aclararon dudas, se obtuvo la firma del consentimiento informado (Anexo 1). Se obtuvo también el asentimiento informado en los casos que fue posible (Anexo 2). Se entregó un folleto informativo, que fue explicado a acudientes y pacientes (Anexo 3).

Se obtuvo información de los pacientes a partir de las historias clínicas sistematizadas; datos como edad, sexo, diagnóstico, tipo de trasplante, recuento de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, plaquetas semanalmente, también la detección de anticuerpos específicos, antigenemia o PCR para detectar la reactivación de HCMV, datos recolectados en un formato para cada paciente (Anexo 4). También se recolectó la información registrada sobre las complicaciones. La información fue sistematizada y actualizada semanalmente según estancia hospitalaria y según la información disponible de las historias clínicas.

Análisis estadístico

Se usó la prueba de independencia chi-cuadrado, que contrasta la hipótesis de que las variables son independientes, frente a la hipótesis alterna de dependencia entre variables.

Los datos longitudinales son observaciones repetidas de una variable, recogidas en diferentes instantes del tiempo, en un mismo paciente. Para realizar un análisis correcto de dichos datos, se debe considerar la posible correlación entre las medidas de cada sujeto; una herramienta adecuada para el análisis de este tipo de datos es a partir de las llamadas Ecuaciones de Estimación Generalizadas (GEE). Las GEE modelan la esperanza poblacional, incorporando la correlación entre las observaciones correspondientes a un mismo individuo y asumiendo independencia entre los individuos.

Ajuste del modelo mediante GEE.

Teniendo en cuenta que lo que se quiere modelar es la probabilidad de tener una complicación, se plantea un modelo GEE con enlace tipo logit.

Es decir, se modela el $\ln\left(\frac{\pi_{\text{complicación}}}{\pi_{\text{no complicación}}}\right)$ que será explicado por las diferentes variables medidas en los pacientes.

De esta manera, para un coeficiente estimado mayor que cero diremos que la variable asociada a ese coeficiente es un factor de riesgo o aumenta la probabilidad de tener la complicación, mientras que para un coeficiente estimado menor que cero, tendremos un factor de protección o una variable que hace que la probabilidad de tener la complicación disminuya.

6.Resultados

Se presentan únicamente los resultados de las complicaciones durante la hospitalización, en relación con el resultado de la serología. Para este trabajo se tuvieron en cuenta según criterios de inclusión y exclusión 17 pacientes; la distribución por género fue la siguiente: de los 17 pacientes, 9 son hombres y 8 mujeres (Fig. 6-1). Se aclara que en este grupo de pacientes en ningún caso se encontró resultado positivo para antigenemia y/o PCR.

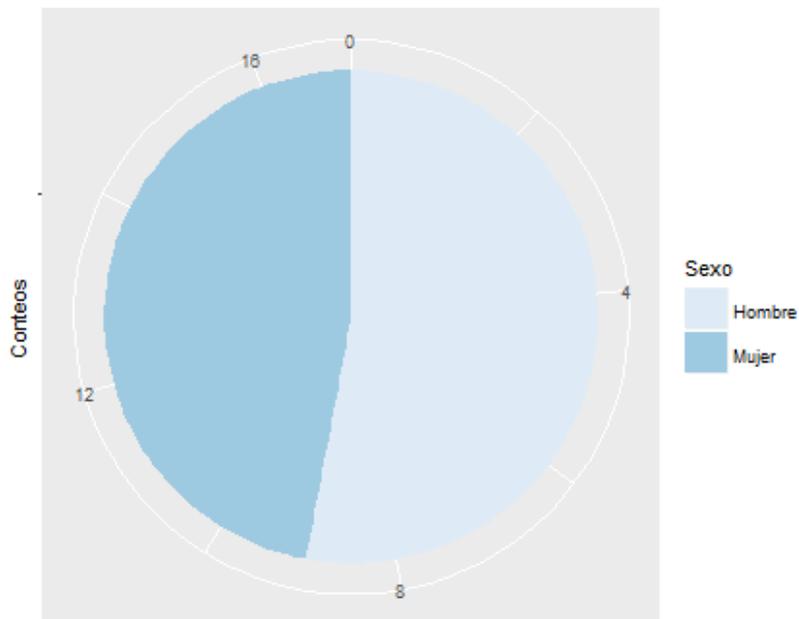


Figura 6-1: Distribución por género

Los diagnósticos tuvieron la siguiente distribución: 7 pacientes fueron diagnosticados con leucemia linfocítica aguda, 3 con leucemia mieloide aguda, 2 con linfoma Hodgkin, 1 con anemia aplásica adquirida severa, 1 paciente con anemia de Fanconi, 1 paciente con anemia de células falciformes, 1 paciente con enfermedad granulomatosa crónica, 1

paciente con linfocitosis hemofagocítica (Fig. 6-2)

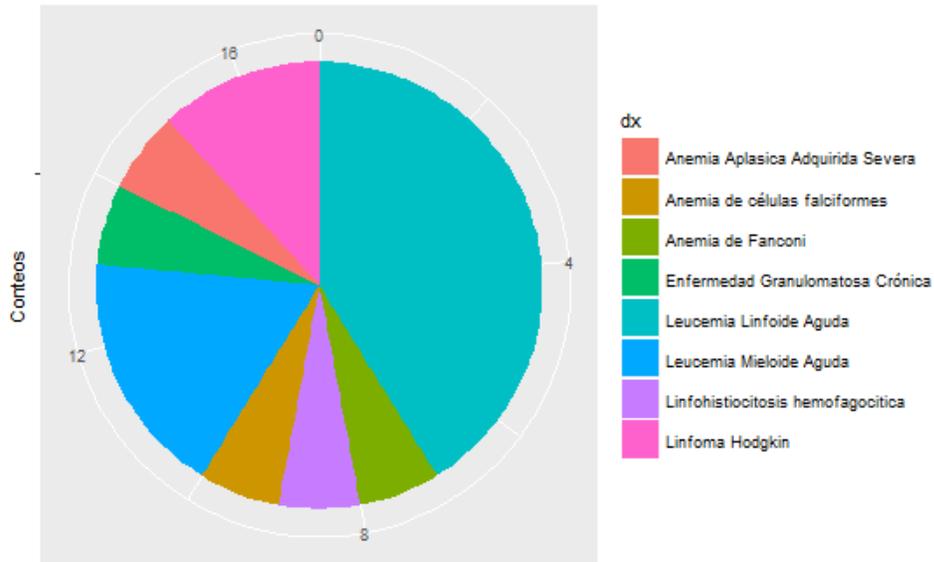


Figura 6-2: Distribución de los diagnósticos

Con relación al tipo de trasplante, 2 pacientes recibieron trasplante autólogo, 10 alogénico de cordón umbilical y 5 alogénico de médula ósea. (Fig. 6-3)

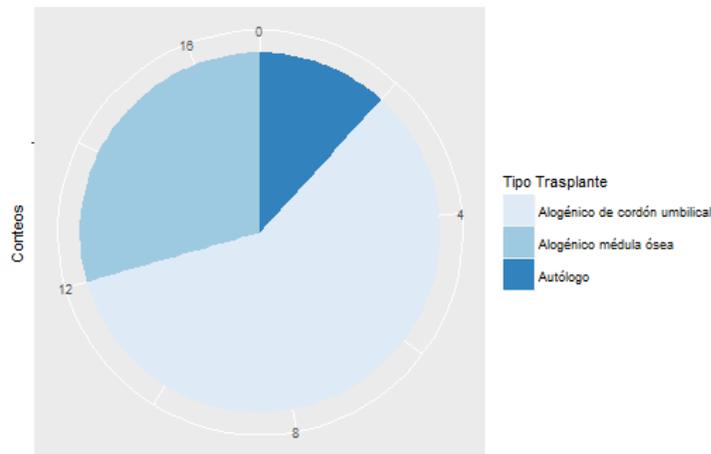


Figura 6-3: Tipo de Trasplante

En cuanto al tipo de donante, de los 17 pacientes considerados en el estudio, no se pudo obtener información de 2 pacientes, 4 tuvieron donante emparentado y 11 donante no emparentado. (Fig. 6-3)

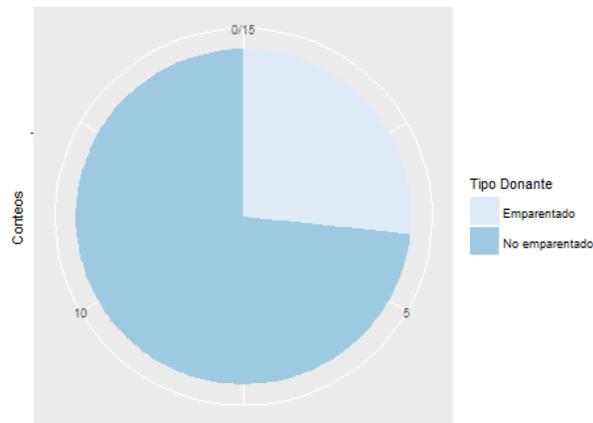


Figura 6-4: Tipo de donante

En el estudio hubo 14 pacientes con serología positiva para HCMV antes del trasplante mientras que solo 3 tuvieron serología negativa pre trasplante.

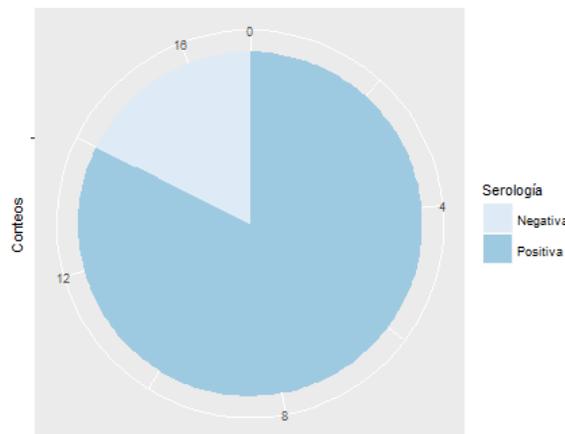


Figura 6-5: Serología pre-trasplante

En cuanto a las complicaciones, pacientes presentaron neutropenia febril, 5 pacientes Enfermedad Injerto Contra Huésped (EICH), 2 pacientes desarrollaron mucositis y 3 fallecieron (Fig. 6-6)

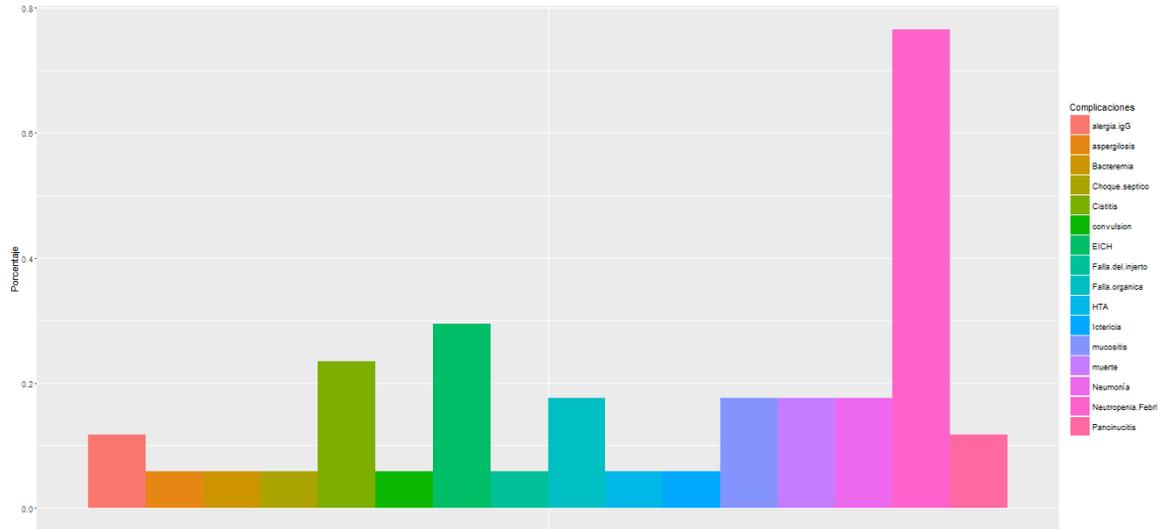


Figura 6-6: Complicaciones registradas en la historia clínica

Para el par de variables género y serología del receptor se realizó el contraste de hipótesis obteniendo un p-valor de 0.12, de esta manera con un nivel de significancia de 5% ($\alpha = 0.05$) no se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, no hay evidencia estadística para decir que las variables son dependientes lo que significa que el resultado de la serología del receptor y el género son independientes. (Tabla 6-1)

Tabla 6-1 Relación género y serología del receptor

	Serología receptor negativa (-)	Serología receptor positiva (+)
Mujer	1	7
Hombre	3	6

El siguiente gráfico BoxPlot permite visualizar la forma de la distribución muestral de los datos, llegando a un análisis más detallado del comportamiento de los datos y además determina si la muestra tiene valores atípicos o sesgos. La figura 6-7 muestra la relación del estado serológico del receptor y los valores de los leucocitos. En la figura 6-8 se relaciona el estado serológico del receptor y los valores de los neutrófilos. En general los pacientes con serología positiva tienden a tener mayores valores de leucocitos, neutrófilos y plaquetas. Además se encuentran varios datos atípicos en estas medidas especialmente para los pacientes con serología positiva, hay valores de estas medidas

exageradamente altos en comparación con los demás. En cuanto a los valores de las plaquetas, los pacientes con serología positiva tienen en general valores de plaquetas más altos, los que tienen serología negativa tienden a tener valores más bajos aunque en ese grupo hay varios pacientes con valores de plaquetas atípicos, valores muy altos que no corresponden al comportamiento normal de valores de plaquetas en este grupo (figura 6-9)

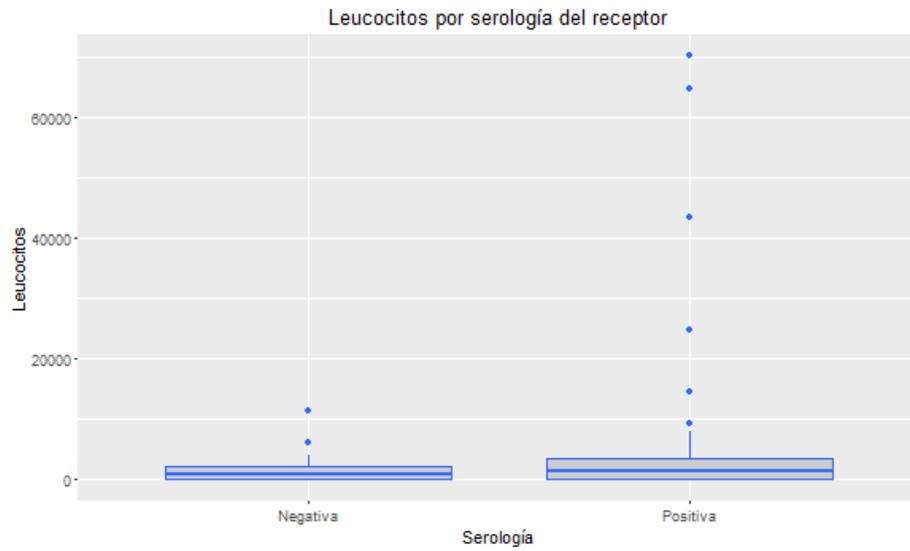


Figura 6-7: Relación entre estado serológico del receptor y recuento de Leucocitos

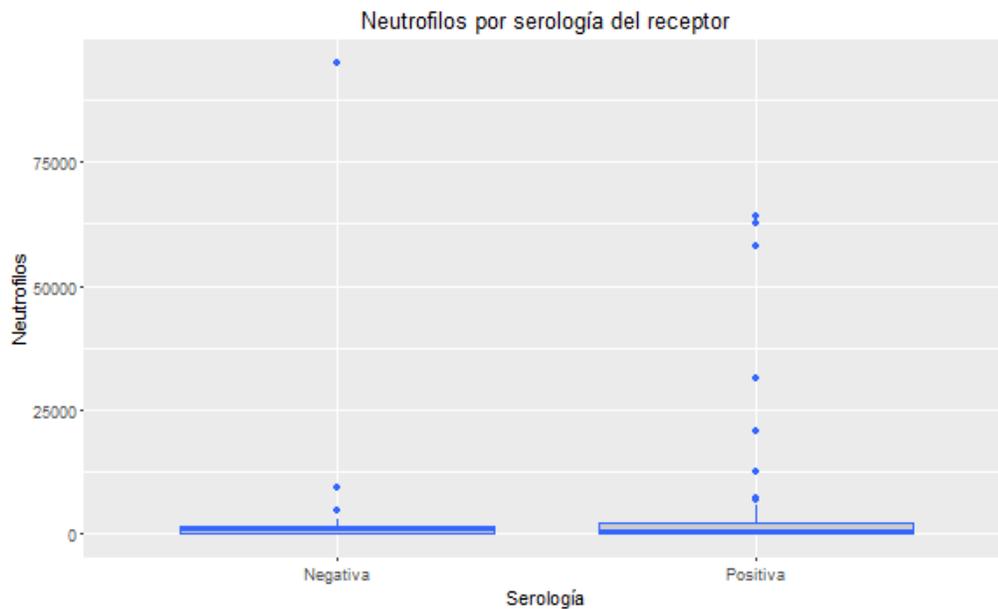


Figura 6-8: Relación entre estado serológico del receptor y recuento de neutrófilos

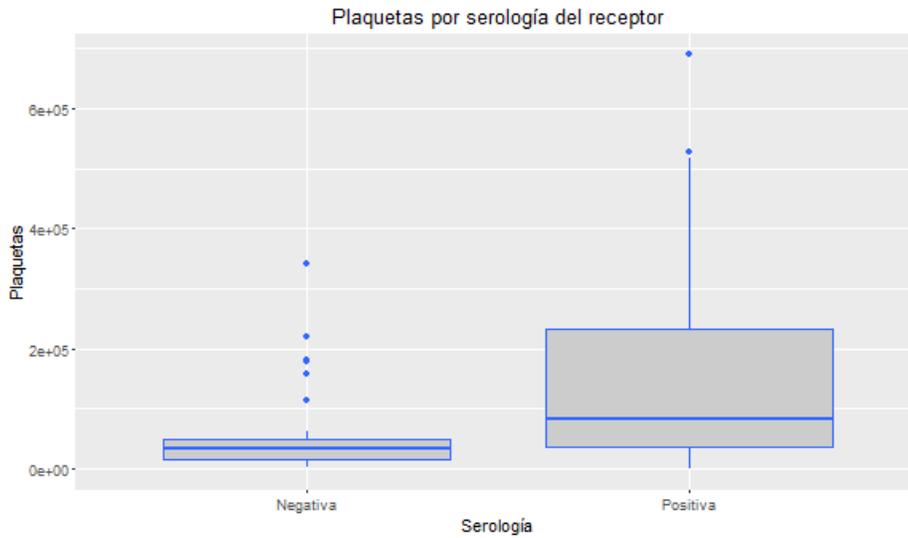


Figura 6-9: Relación estado serológico receptor y plaquetas

En las siguientes tablas se muestra el comportamiento de leucocitos y neutrófilos de todos los pacientes, semanalmente al momento de la toma de muestra (figura 6-10 y figura 6-11). Los valores de leucocitos y neutrófilos siempre tendieron a ser bajos a excepción de los pacientes 13 y 17, esto puede ser debido al tipo de trasplante (autólogo).

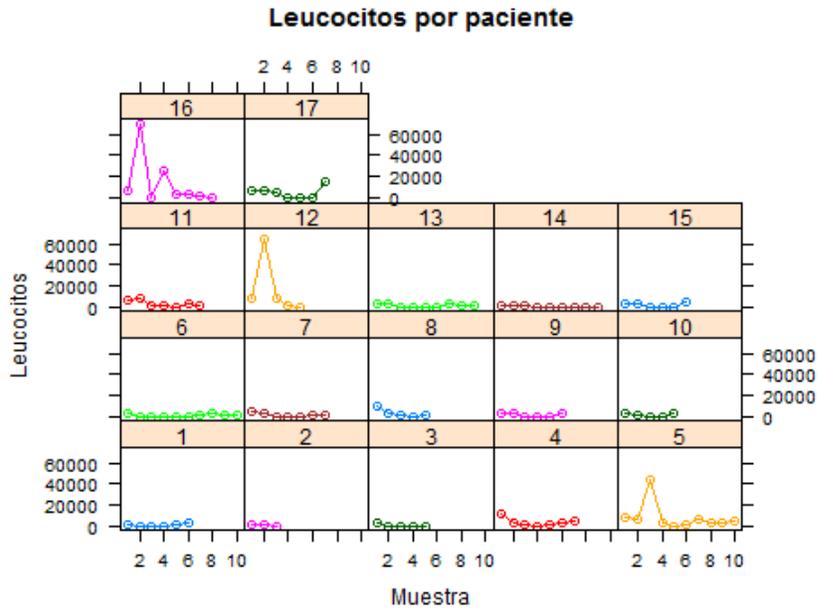


Figura 6-10: Comportamiento recuento leucocitario por paciente

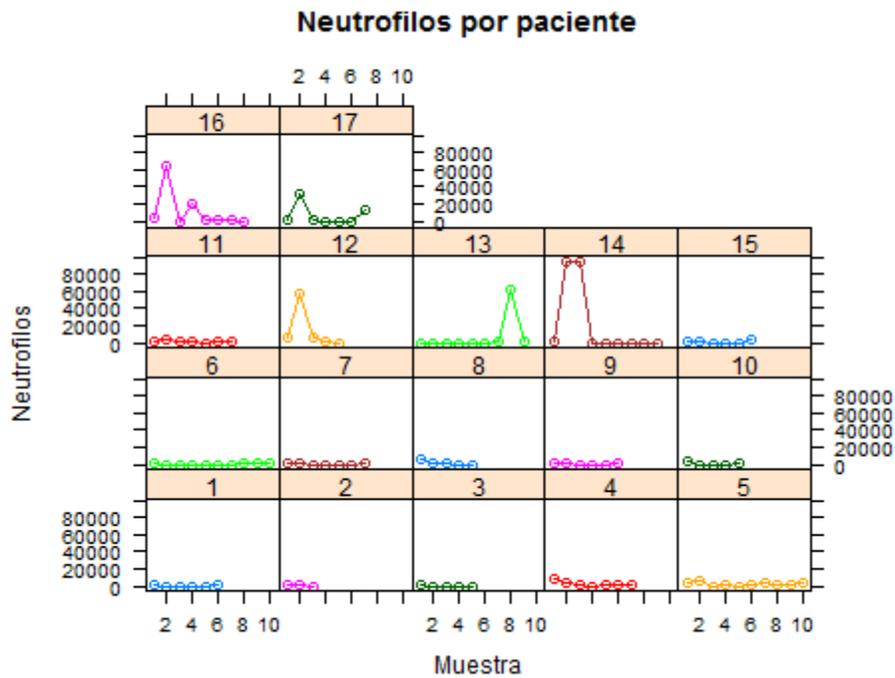


Figura 6-11: Comportamiento recuento de neutrófilos por paciente

Luego de aplicar el sistema de ecuaciones generalizadas para cada variable y complicación, se encontró significancia estadística para las siguientes complicaciones:

Tabla 6-2: Neutropenia Febril

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-0.8	0.00
Neutropenia	0.87	0.00

Tabla 6-3: Cistitis

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-1.7	0.02
Serología receptor	-2.5	0.00
Tipo trasplante	1.2	0.00
Tipo Donante	-0.9	0.00

Tabla 6-4: Neumonía

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-2.34	0.00
Tipo de donante	21.9	0.00
Serología de donante	-20.9	0.00
Leucopenia	0.84	0.00

Tabla 6-5: Falla multiorgánica

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-25.1	0.00
Leucopenia	6.98	0.00

Tabla 6-6: Mucositis

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-5.37	0.00
Serología de receptor	0.7	0.00
Tipo de trasplante	1.55	0.00
Tipo de donante	-1.13	0.00

Tabla 6-7: Bacteremia

Variable	Estimado	P-valor
Intercepto	-47.7	0.00
Tipo de donante	-20.3	0.02
Serología de donante	42.1	0.00
Leucopenia	3.83	0.00

Tabla 6-8: alergia IgG

Variable	Estimado	P-valor
Tipo de trasplante	-1.83	0.00
Neutropenia	0.49	0.01

Con estos datos, se encuentra que la neutropenia se considera un factor de riesgo para las complicaciones Neutropenia Febril y alergia IgG; la leucopenia se considera un factor de riesgo para las complicaciones neumonía, falla orgánica y bacteremia. Respecto a la serología del receptor, en éste estudio se encontró que si es positivo para CMV la probabilidad de cistitis es menor, pero hay mayor probabilidad de desarrollar mucositis. El tipo de trasplante autólogo hace que se reduzca la probabilidad de sufrir mucositis o cistitis. Un factor de protección es el donante emparentado, complicaciones como cistitis, mucositis o bacteremia son menos probables que se desarrollen. Si el donante es seronegativo, disminuye la probabilidad de producirse neumonía, pero aumenta la probabilidad de desarrollar bacteremia.

De los 17 pacientes del estudio, la complicación más común fue la neutropenia febril, 13 la presentaron (76.47%), seguidamente 4 presentaron EICH, cistitis, (23.52%); el 17.64% (3 pacientes) neumonía, falla multiorgánica y su posterior fallecimiento. La mucositis se presentó en el 17.64%, la pansinusitis en el 11.76% de los pacientes (2) y otras complicaciones como falla primaria del injerto, convulsión y aspergilosis en el 5.8% de los pacientes, como se muestra en la figura 6-12.

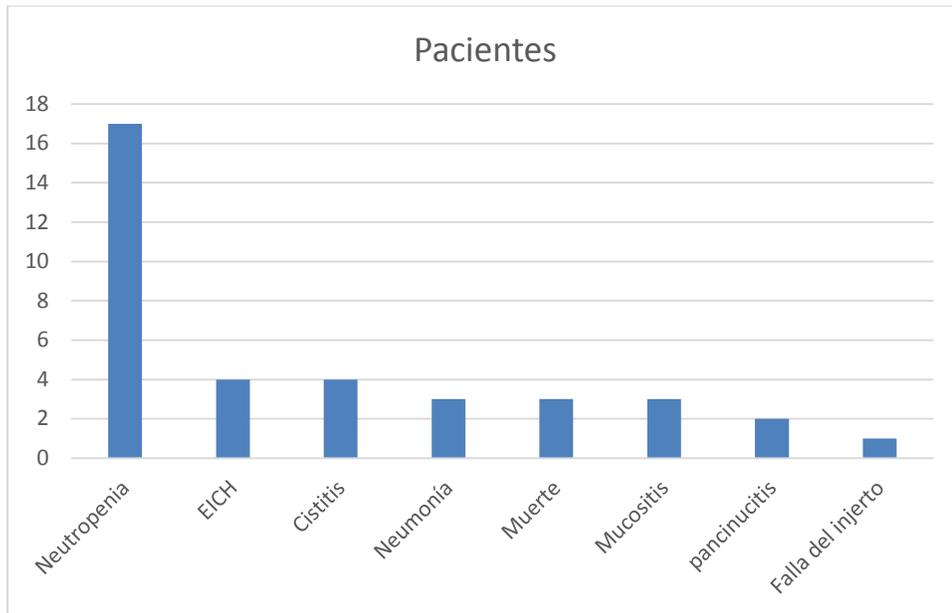


Figura 6-12: Relación complicaciones y número de pacientes

Tabla 6-9 Caracterización de los pacientes

Pte	Sexo	Edad	Diagnóstico	Estado serológico pre trasplante	Estado serológico donante	Tipo de trasplante	Tipo de donante	Régimen	Complicaciones
1	F	7 años	Anemia de Fanconi	CMV Ig G positivo, Ig M negativo		alogénico médula ósea	Emparentado	Fludarabina, ciclofosfamida, globulina antitumoral, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis para eich	Neutropenia febril

2	M	7 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV IgG negativo, IgM negativo	CMV IgG negativo, IgM negativo	alogénico médula ósea	Emparentado	Tiotepa, Busulfan, fludarabina, Ciclosporina, profilaxis antiinfecciosa multiple	Neutropenia febril
3	M	13 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	CMV Ig G e Ig M negativo	alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, Busulfan, fludarabina, Timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril, neumonía, choque séptico, pancitopenia, falla multiorgánica, insuficiencia renal, muerte
4	Fe	8 años	Linfocitosis hemofagocítica	CMV IgG negativo, IgM negativo	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	alogénico cordón	No emparentado	Fludarabina, melfalan, ciclosporina, metilprednisolona, profilaxis antiinfecciosa	Mucositis, neutropenia febril, EICH
5	M	16 años	Anemia de células falciformes	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	CMV IgG negativo, IgM negativo	Alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, fludarabina, globulina antitumoral, profilaxis	evento convulsivo, EICH
6	M	9 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G positivo, Ig M negativo		alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, fudarabina, globulina antitumoral, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril, cistitis
7	M	8 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, fludarabina, busulfan, ciclosporina, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril, EICH, neumonía, falla multiorgánica, muerte
8	F	6 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G positivo, Ig M negativo		alogénico médula ósea	Emparentado	Tiotepa, fludarabina, ciclosporina, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril
9	M	12 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G positiva	negativo para Ig G e Ig M	Alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, timoglobulina, profilaxis infecciosa, profilaxis EICH	Neutropenia febril, cistitis

10	F	7	Leucemia Mieloide Aguda	CMV Ig G positivo, Ig M negativo	CMV positivo	Alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, fludarabina, timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis EICH	Neutropenia febril, cistitis
11	M	4 años	Enfermedad Granulomatosa crónica	CMV no es detectable		alogénico médula ósea		Ciclofosfamida, timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis EICH	Neutropenia febril
12	M	16 años	Linfoma Hodking	CMV Ig G positivo, Ig M negativo		Autólogo		Busulfan, melfalan, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril
13	F	14 años	Anemia aplásica adquirida severa	CMV Ig G positivo, Ig M negativo		Alogénico	Emparentado	Ciclofosfamida, timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis EICH	HTA, ictericia colestasica, cistitis, pansinusitis
14	M	12 años	Leucemia Linfoide Aguda	CMV Ig G e Ig M negativos	CMV negativo	Alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, fludarabina, timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis EICH	Neutropenia febril, Reacción tipo alergia Ig G, Bacteremia, falla primaria del injerto, cistitis, infección fungica, neumonía, aspergilosis, falla multiorgánica, muerte
15	F	14 años	Leucemia Mieloide Aguda	CMV Ig G + (69,69) Ig M - (0,93) 27 julio	Ig G positiva	Alogénico cordón	No emparentado	Tiotepa, busulfan, fludaradina, timoglobulina, profilaxis antiinfecciosa, profilaxis EICH	Neutropenia febril, EICH
16	F	10 años	Linfoma Hodking	Ig G + (103,0) Ig M - (0,23) 19 agosto		Autólogo		Busulfan, melfalan, profilaxis antiinfecciosa	Neutropenia febril
17	F	7 años	Leucemia Mieloide Aguda	Ig G + (97,03) Ig M - (0,39) 16/08/2016	Ig G positiva	Alogénico cordón	No emparentado	Citarabina, fludarabina, ciclofosfamida, globulina antitimocítica	Neutropenia febril

7. Discusión

En este trabajo, se evaluaron las complicaciones que se presentaron en los niños después del trasplante, durante su estadía en el hospital; mientras que la mayoría de estudios hacen un seguimiento >100 días, hasta de años para evaluar la infección/reactivación de CMV que ha sido ampliamente estudiada por muchos autores, en el caso de nuestros pacientes, el seguimiento se limitó a su estancia hospitalaria.

La serología del donante y el receptor son los factores de riesgo que más peso tienen y los que más se relacionan con la infección/reactivación de HCMV; en nuestro estudio, 3 pacientes fallecieron; uno con estado serológico (R+/D-), el otro (R-/D-) y el tercero (R-/D+), éste comportamiento concuerda con algunos estudios que muestran que la tasa más alta de muerte se debe a (R-/D+) ó (R+/D-)(37), (38), (21), (39), (8,13,23,30,31,40–45).

Algunos autores señalan que la edad y el sexo (43) (21) (24) (38) pueden influir, en nuestro estudio, todos los niños que fallecieron eran de sexo masculino, de 8, 12 y 13 años.

Rowe y col. estudiaron 91 pacientes con infección / reactivación de HCMV y que donante o receptor fueran seropositivos. Seis pacientes (7%) fueron documentados con infección por CMV 6 meses antes del trasplante, todos con viremia pero ninguno con afectación de órganos, en este estudio, la mayoría eran positivos y sin ningún tipo de afección. De los 91 pacientes del estudio de Rowe, el 29% experimentó infección durante el periodo de vigilancia después del trasplante, con una mediana de 46 días después del trasplante (rango de 9 a 127 días). Se incrementó el riesgo de infección cuando el trasplante fue de cordón, comparado con médula ósea, 6 de 9 con trasplante de cordón desarrollaron infección. El 54% de los pacientes (7 de 13) con EICH aguda, también tuvo experiencia de infección, con una asociación positiva. Cuando el receptor y el donante fueron seronegativos, no hubo relación con el incremento de infección por CMV comparado con otras combinaciones serológicas(46). En nuestro estudio, el 23.52% (4 pacientes) 1

emparentado idéntico, los otros 3 de cordón con la serología del receptor positiva, donante negativa (R+/D-) desarrollaron EICH, datos que concuerdan con éste estudio.

Un análisis retrospectivo de datos clínicos y de laboratorio se realizó en niños trasplantados en un periodo de 10 años, entre 2005 y 2014; un total de 131 pacientes entre 1 mes y 15 años recibieron trasplante. El estado serológico de los receptores fue positivo para todos, de los donantes sólo uno fue negativo. La reactivación de CMV se observó en 38 pacientes (29%) en los primeros 100 días pos trasplante, de éstos tres pacientes murieron (2 positivos y 1 negativo para CMV al momento de la muerte)(38). En los tres casos de muerte en este estudio, no se detectó CMV al momento del fallecimiento.

Hajjar y col., evaluaron la infección por HCMV en receptores de trasplante de cordón. Se incluyeron 73 pacientes, de los cuales 68% fueron seropositivos y 32% seronegativos. La infección ocurrió en el 58.9% (43 pacientes), con una media de 102 días pos trasplante. Contrario al presente trabajo, en el estudio de Hajjar las complicaciones se presentaron más en mujeres que en hombres; 22% de los pacientes con infección temprana, evolucionó a complicaciones de tejidos y órganos, incluyendo neumonía (6 pacientes) y retinitis (2 pacientes). Concluyen que se presentan mayores complicaciones con este tipo de trasplante, y lo que más se presentó fue neumonía (25), datos que concuerdan con nuestro estudio, 10 pacientes (58.82%) recibieron trasplante de cordón, presentando complicaciones como neumonía, EICH, cistitis y el fallecimiento.

En un estudio retrospectivo realizado en Taiwán, por Jhong-Lin Wu y col. en 57 niños receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos, se encontró que el 32% (57 niños) desarrolló viremia por citomegalovirus, con una media de 23 días post trasplante, en el 89% (16 niños) la viremia ocurrió en el periodo temprano post trasplante (<100 días); el 56% recibió terapia antiviral, disminuyendo significativamente la carga viral. De estos 18 pacientes, 9 fallecieron: 2 por progresión de la enfermedad y hemorragia gastrointestinal, 3 por sepsis (2 con patógenos documentados), 1 por EICH, 1 por neumonía complicada y 2 por progresión de la enfermedad(47). De los 17 pacientes de este estudio, 1 desarrolló bacteremia por *E. Coli* multisensible, éste paciente falleció.

Capítulo 7. Discusión

Para el trasplante autólogo, aproximadamente el 40% de pacientes seropositivos pueden desarrollar infección por CMV, aunque es poco probable; en tal caso, los factores de riesgo son similares a los del trasplante alogénico (19). En el presente estudio 2 pacientes recibieron trasplante autólogo (11.76%), para tratar el Linfoma de Hodgkin, se observó en los dos pacientes neutropenia febril.

Se encontraron otras complicaciones como cistitis, hipertensión arterial, aspergilosis, pansinusitis, choque séptico que también están reportadas en la literatura (21) (20).

8. Conclusiones y recomendaciones

8.1 Conclusiones

- El desarrollo de complicaciones en pacientes receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos está relacionado con el estado serológico del donante y el receptor, siendo más probable cuando el receptor es negativo y el donante positivo.
- Los receptores de trasplante de cordón desarrollaron más complicaciones, tres de ellos neumonía que los llevó a la muerte.
- El trasplante autólogo es el que menos desencadenó complicaciones.
- Un factor de riesgo para desencadenar complicaciones como neumonía, falla orgánica, bacteremia y muerte es la leucopenia, en particular la neutropenia.

8.2 Recomendaciones

Se sugiere extender la recolección de la información y el análisis de los datos a un periodo de tiempo más largo y por tanto a un mayor número de pacientes, incluyendo los datos disponibles luego del egreso hospitalario.

A. Anexo 1: Consentimiento Informado

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE SALIVA

Código:

Nombre: _____

Sexo: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Investigador Principal: SONIA DEL PILAR BOHÓRQUEZ ÁVILA, profesora asociada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia y coordinadora del grupo de investigación Patogénesis Infecciosa.

Este documento explica en qué consiste la investigación. Es importante que Usted lea cuidadosamente esta información y si tiene alguna pregunta relacionada con el estudio, pregunte a la persona responsable y tome la decisión si acepta que su hijo(a) participe en el estudio. Recuerde que usted es libre de decidir si desea que su hijo(a) participe en el estudio o no.

Introducción: El trasplante de precursores hematopoyéticos o de médula ósea es el tratamiento para muchas enfermedades que causan serios problemas de salud en los niños. Durante el trasplante las defensas del organismo se ven muy afectadas por lo que algunos virus pueden causar muchas complicaciones importantes. Algunas pueden ser causadas por un virus llamado citomegalovirus humano; este virus puede encontrarse en la saliva o en la sangre.

¿Por qué se está haciendo esta investigación? El propósito es determinar si el citomegalovirus humano está presente en el paciente y si puede estar relacionado con la evolución clínica del paciente. Este estudio se realiza en todos los pacientes pediátricos que ingresen a la Unidad de Trasplante de Precusores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia, entre marzo y noviembre de 2016.

¿Qué tengo que hacer si mi hijo(a) participa en esta investigación? Permitir que a mi hijo le tomen muestras de saliva cada semana, durante el tiempo que está hospitalizado.

¿Qué hacen con las muestras de saliva que se toman a mi hijo (a) durante esta investigación? Las muestras serán colocadas en una nevera portátil y se transportarán al laboratorio donde serán procesadas para determinar si el citomegalovirus se encuentra en esas muestras, mediante la prueba de laboratorio reacción en cadena de polimerasa.

Usted puede decidir que las muestras tomadas a su hijo(a) durante la hospitalización puedan ser usadas para investigaciones futuras. En cualquier momento usted puede cambiar de decisión y contactar al personal del estudio para informar su decisión acerca del uso de las muestras. Esta decisión no afectará la participación en este estudio.

Por favor indique su decisión acerca del permiso del uso futuro de las muestras de su hijo (a) en las líneas que se presentan a continuación:

Acepto que las muestras se almacenen durante un período indefinido y se utilicen en futuras investigaciones*

No se pueden utilizar en investigaciones futuras**

*En el caso de que usted acepte que las muestras de su hijo(a) se utilicen en investigaciones futuras no relacionadas con este estudio, el nuevo estudio requerirá de la aprobación de un nuevo protocolo por parte del Comité de Ética Institucional

** Si usted decide que las muestras de su hijo(a) no se utilicen en futuras investigaciones, las muestras serán eliminadas por una compañía de desechos hospitalarios.

¿Cuánto tiempo estará mi hijo(a) participando en esta investigación? El tiempo que su hijo(a) participa en esta investigación estará sujeto al periodo de hospitalización, determinado por los médicos de la Unidad de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia.

¿Recibiré algún beneficio por la participación de mi hijo(a) durante esta investigación? Usted NO recibirá dinero por la participación de su hijo(a). La realización de los análisis de laboratorio estará cubierta por la financiación del estudio.

¿Cuáles son los riesgos a los que está expuesto mi hijo(a) en esta investigación? No se prevé ningún riesgo serio para los participantes en este estudio. La toma de muestra de saliva no presenta riesgo para el paciente, la cera que se utiliza para estimular la secreción salivar puede dejar un sabor desagradable que pasa al hacer un enjuague.

¿Cómo se conservará la confidencialidad de la información personal de mi hijo(a) durante el estudio? Las muestras de saliva y sangre y los formatos serán identificados con un código asignado a cada voluntario durante su participación en el estudio. Sólo los investigadores tendrán acceso a la base de datos en la que se almacena la información, por lo que su hijo(a) no será identificado por su nombre o documento de identidad en la publicación de los resultados del estudio. Los documentos originales del estudio se almacenarán en el archivo del grupo de investigación Patogénesis infecciosa, por un período mínimo de 5 años.

¿Cuáles son los derechos de mi hijo(a) como sujeto de investigación? Usted sabe que la participación de su hijo (a) es totalmente voluntaria. Si usted acepta que su hijo(a) participe y en cualquier momento desea retirarlo del estudio, puede contactar a los investigadores para retirar el consentimiento y para que las muestras no sean procesadas, analizadas y almacenadas.

¿En qué momento voy a conocer los datos finales de la investigación? Los resultados finales de la investigación pueden ser conocidos al finalizar la investigación, se socializarán a los participantes a través de la Unidad de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI - Hospital de la Misericordia.

¿Qué hago si tengo alguna pregunta o problema? Si durante la participación en el estudio, usted tiene alguna pregunta adicional relacionada con el estudio, puede contactar a los investigadores del estudio.

Dra. SONIA DEL PILAR BOHÓRQUEZ ÁVILA

Investigador principal

Profesora asociada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia

Coordinadora del grupo de investigación Patogénesis infecciosa

Teléfono: 316 5000 ext. 16017

Correo electrónico. spbohorqueza@unal.edu.co

DIANA CAROLINA ALVAREZ CORREA

Estudiante Estomatología Pediátrica y Ortopedia Maxilar

Universidad Nacional de Colombia

Correo electrónico: dicalvarezco@unal.edu.co

MAURICIO CHAPARRO ALZOGARAY
 Médico Unidad de Trasplante
 Fundación HOMI Hospital de la Misericordia
 Correo Electrónico: mauchaparro@hotmail.com

FLOR MARCELA ESTUPIÑAN PEÑALOZA
 Médico Unidad de Trasplante
 Fundación HOMI Hospital de la Misericordia
 Correo Electrónico: mestupinanp@fundacionhomi.org.co

FORMULARIO DE FIRMAS.

He sido invitado(a) a participar en el estudio: "GENOTIPIFICACIÓN DE HCMV A PARTIR DE MUESTRAS DE SALIVA EN PACIENTES RECEPTORES DE TRASPLANTES DE LA FUNDACIÓN HOSPITAL DE LA MISERICORDIA". Entiendo que mi participación consistirá en permitir que se realice a mi hijo(a) la toma de muestras de saliva, en diferentes momentos durante su hospitalización en la Unidad de Trasplante de Precusores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI - Hospital de la Misericordia.

He leído y entendido este documento de Consentimiento Informado o el mismo se me ha leído o explicado. Todas mis preguntas han sido contestadas claramente y he tenido el tiempo suficiente para pensar acerca de mi decisión. No tengo ninguna duda sobre mi participación, por lo que estoy de acuerdo en hacer parte de esta investigación. Cuando firme este documento de Consentimiento Informado recibiré una copia del mismo.

Autorizo el uso y la divulgación de mi información al grupo de investigación Patogénesis Infecciosa de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia para los propósitos descritos en el presente documento. Acepto voluntariamente que mi hijo(a) participe en él y sé que tengo el derecho de finalizar su participación en cualquier momento. Al firmar esta hoja de Consentimiento Informado no he renunciado a ninguno de mis derechos legales.

_____	_____	<input type="text"/>
Nombre del participante	Firma Participante	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Tutor legal del participante	Firma Tutor legal	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Investigador principal	Firma investigador principal	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Testigo 1	Firma Testigo 1	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Testigo 2	Firma Testigo 2	Fecha (día/mes/año)

B. Anexo 2: Asentimiento informado

FORMATO DE ASENTIMIENTO INFORMADO

Código:

Nombre: _____

Sexo: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Investigador principal. SONIA DEL PILAR BOHÓRQUEZ ÁVILA, profesora asociada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia y coordinadora grupo de investigación Patogénesis infecciosa.

Antes que decidas participar el estudio debes leer este documento y si tienes alguna pregunta puedes comentar a tu padre o tutor y al médico de La unidad de trasplante, para tratar de responder tu pregunta. Puedes preguntar varias veces, hasta que esté claro el tema del estudio.

El trasplante de precursores hematopoyéticos o de médula ósea es el tratamiento para muchas enfermedades que causan serios problemas de salud en los niños. Durante el trasplante las defensas del organismo se ven muy afectadas por lo que algunos virus pueden causar muchas complicaciones importantes. Uno de esos virus se llama citomegalovirus humano y aunque es probable que llegues a la unidad de trasplante con este virus en tu organismo también lo puedes adquirir durante la hospitalización.

¿Por qué se está haciendo esta investigación? Para saber si tienes el citomegalovirus humano y si está relacionado con las complicaciones que presentas durante la hospitalización.

¿Quiénes participan en el estudio? Todos los niños que ingresan a la Unidad de trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia entre enero y noviembre de 2016.

¿Qué tengo que hacer si decido participar en la investigación? Permitir que se tome la muestra de saliva, masticando cera y luego escupiendo en un tubo para analizarla en el laboratorio; cada vez que sea necesario.

¿Qué hacen con las muestras de saliva? Las muestras de saliva que se toma a los pacientes, serán utilizadas para saber si tienes el citomegalovirus humano, porque este virus puede encontrarse en la saliva y en la sangre.

¿Cómo se maneja la privacidad de la información de las personas? Toda la información del paciente y los resultados de los análisis de laboratorio se marcan con un número para proteger al participante. Sólo los investigadores tendrán acceso a la información.

¿Recibiré algún beneficio por mi participación? El estudio no pagará a las personas que participen en él. El valor de los análisis que se hagan a las muestras de saliva serán cubiertos por la investigación.

¿Cuáles son los riesgos de participar? Masticar la cera para la toma de muestra de saliva puede dejar mal sabor en la boca que desaparece si se hace un enjuague.

¿Cuáles son mis derechos como participante de la investigación? Debes saber que la participación en el estudio es voluntaria. Si al inicio aceptas y más adelante decides no continuar en el estudio, nadie se enfadará. Es importante informar a tus padres y a la persona responsable del estudio para eliminar las muestras y la información.

¿En qué momento voy a conocer los datos finales de la investigación? Cuando se obtengan resultados de los análisis de las muestras de saliva en el laboratorio, esto puede demorar varios días o semanas luego de que se tomen las muestras. Adicionalmente se realizará la publicación de los resultados generales del estudio en la Unidad de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia.

¿Qué hago si tengo alguna pregunta o problema? Si durante la participación en el estudio, tienes alguna pregunta adicional relacionada con el estudio, puedes contactar al investigador principal o los médicos de la Unidad de Trasplante de Precursores Hematopoyéticos de la Fundación HOMI – Hospital de la Misericordia que participan en el estudio, para que puedas tener respuesta a la pregunta.

Investigador principal:

Dra. SONIA DEL PILAR BOHÓRQUEZ ÁVILA

Profesora Asociada de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia

Coordinadora Grupo de investigación Patogénesis infecciosa

Teléfono: (571) 316 5000 ext. 16017

Correo electrónico: spbohorqueza@unal.edu.co

DIANA CAROLINA ALVAREZ CORREA

Estudiante Estomatología Pediátrica y Ortopedia Maxilar

Universidad Nacional de Colombia

Correo electrónico: dicalvarezco@unal.edu.co

MAURICIO CHAPARRO ALZOGARAY

Médico Unidad de Trasplante

Fundación HOMI Hospital de la Misericordia

Correo Electrónico: mauchaparro@hotmail.com

FLOR MARCELA ESTUPIÑAN PEÑALOZA

Médico Unidad de Trasplante

Fundación HOMI Hospital de la Misericordia

Correo Electrónico: mestupinanp@fundacionhomi.org.co

FORMULARIO DE FIRMAS.

▪ He sido invitado(a) a participar en el estudio: “GENOTIPIFICACIÓN DE HCMV A PARTIR DE MUESTRAS DE SALIVA EN PACIENTES RECEPTORES DE TRASPLANTES DE LA FUNDACIÓN HOSPITAL DE LA MISERICORDIA”.

- Leí el documento, y sé que puedo hacer preguntas sobre el estudio
- El investigador respondió mis preguntas y comprendí que puedo hacer más preguntas durante mi participación en el estudio.
- Las personas del hospital ni mis familiares se molestarán por mi decisión de no participar en el estudio.
- Si cambio de opinión después de aceptar, informaré a mis padres y al médico responsable del estudio.

_____	_____	<input type="text"/>
Nombre del participante	Firma Participante	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Tutor legal del participante	Firma Tutor legal	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Investigador principal	Firma investigador principal	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Testigo 1	Firma Testigo 1	Fecha (día/mes/año)
_____	_____	<input type="text"/>
Nombre Testigo 2	Firma Testigo 2	Fecha (día/mes/año)

C. Anexo 3. Folleto informativo

BENEFICIOS OBTENIDOS

Información sobre la presencia de HCMV en saliva y cómo puede esto afectar el curso del tratamiento



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Pabellón Barranquilla - Fundación
Hospital de la Misericordia
E-mail: caarob@unibog.edu.co
facod@unibog.edu.co

Teléfono: 3811970 Ext 505

GENOTIPIFICACIÓN DE CITOMEGALOVIRUS A PARTIR DE MUESTRAS DE SALIVA EN PACIENTES RECEPTORES DE TRASPLANTES DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS DE LA FUNDACIÓN HOSPITAL DE LA MISERICORDIA.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



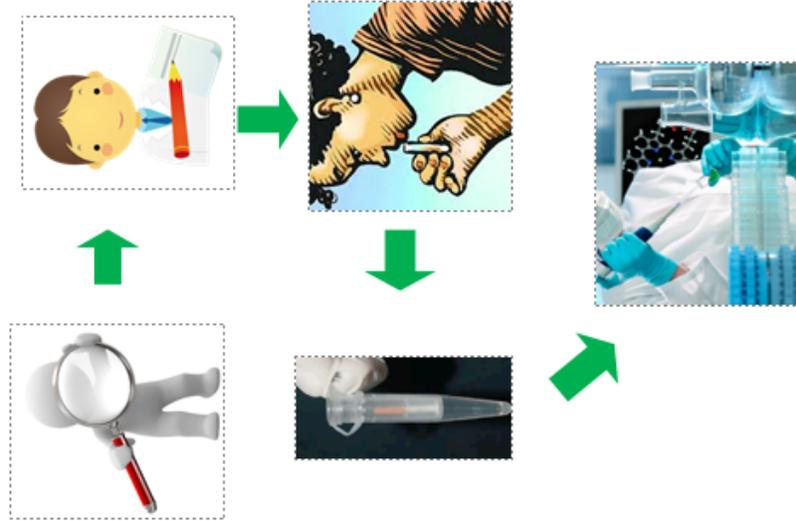
Tel: 3113623567 - 3811970 Ext. 505

CITOMEGALOVIRUS

El citomegalovirus ó HCMV es uno de los principales causantes de complicaciones en los pacientes receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos. Puede producir, neumonitis, hepatitis, gastroenteritis y retinitis; también se ha asociado con fracaso del trasplante y enfermedad injerto contra huésped y se evidencia que estas complicaciones están asociadas al desarrollo de reacciones inflamatorias

PASOS EN LA TOMA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

1. Se informa al paciente y al accidente sobre el trabajo de investigación, sobre los procedimientos para toma de muestra y que esta será utilizada para un estudio de investigación por la UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, posterior a esto .
2. Se realizará el diligenciamiento del consentimiento informado por parte de padres y/o acudientes y asentimiento informado por parte del niño.
3. Toma de la muestra: Para la obtención de las muestras de saliva se estimulará la secreción solicitando al paciente que mastique un trozo de cera para base de uso odontológico y luego se recolectará la saliva en un tubo estéril y se colocarán en un medio de transporte adecuado hasta ser transportadas al laboratorio para su procesamiento.
5. Procesamiento de la muestra: Una vez en el laboratorio bajo condiciones de asepsia y en cabina de flujo laminar, las muestras de saliva serán diluidas en PBS y se centrifugarán a 5000 rpm por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante será transferido a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y se almacenará a -80°C hasta su uso.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - UDEM
 ESCUELA DE ODONTOLOGÍA

Pabellón Barranquilla -
 Fundación Hospital de la
 Misericordia.

Teléfono: 3811970 Ext. 505 .
 Correo: saarydiaz@udem.edu.co
 dicalvarez@udem.edu.co

D. Anexo 4: tabla de recolección de información

Bibliografía

1. Fishman JA. Overview: cytomegalovirus and the herpesviruses in transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2013;13(3):1-8.
2. Loewendorf A, Benedict CA. Modulation of host innate and adaptive immune defenses by cytomegalovirus: timing is everything. *J Intern Med.* 2010;267(5):483-501.
3. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol.* 2010;20(4):202-13.
4. Boppana SB, Fowler KB. Persistence in the population: epidemiology and transmission. En: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al., editores. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis [Internet].* Cambridge: Cambridge University Press; 2007 [citado Sept. 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47450/>
5. Wu X, Wang Y, Zhu Z, Xu Y, He G, Han Y, et al. [The correlation of cytomegalovirus gB genotype with viral DNA load and treatment time in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi Zhonghua Xueyexue Zazhi.* 2013;34(2):109-12.
6. Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol.* 2006;87(Pt 7):1763-79.
7. Griffiths P, Baraniak I, Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *J Pathol.* 2015;235(2):288-97.
8. Emery VC. Cytomegalovirus: recent progress in understanding pathogenesis and control. *QJM Int J Med.* 2012;105(5):401-5.

9. Van Damme E, Van Loock M. Functional annotation of human cytomegalovirus gene products: an update. *Front Microbiol.* 2014;5:218.
10. B Burke HG, Heldwein EE. Crystal Structure of the Human Cytomegalovirus Glycoprotein B. *PLoS Pathog.* 2015;11(10):1-21
11. Dunn W, Chou C, Li H, Hai R, Patterson D, Stolc V, et al. Functional profiling of a human cytomegalovirus genome. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100(24):14223-8.
12. Beltran PMJ, Cristea IM. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert Rev Proteomics.* 2014;11(6):697-711.
13. Fishman JA. Overview: cytomegalovirus and the herpesviruses in transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2013;13(3):1-8.
14. Poole E, Sinclair J. Sleepless latency of human cytomegalovirus. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 2015;204(3):421-9.
15. Sinclair J, Reeves M. The intimate relationship between human cytomegalovirus and the dendritic cell lineage. *Front Microbiol [Internet].* 2014 [citado Sept. 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4124589/>
16. Canto CLM do, Granato CFH, Garcez E, Boas V, S L, Fink MCDS, et al. Cytomegalovirus infection in children with Down syndrome in a day-care center in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2000;42(4):179-84.
17. Kumar V, Abbas A.K, Fausto N, Aster J.C, Cotran. *Pathologic Basis of Disease. En: Pathologic Basis of Disease. 8th edition. Saunders Elsevier; 2010.*
18. Taylor GH. Cytomegalovirus. *Am Fam Physician.* 2003;67(3):519-24.
19. Ljungman P, Hakki M, Boeckh M. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Infect Dis Clin North Am.* 2010;24(2):319-37.

20. Sahin U, Toprak SK, Atilla PA, Atilla E, Demirer T. An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Chemother.* 2016;22(8):505-14.
21. Ariza-Heredia EJ, Neshor L, Chemaly RF. Cytomegalovirus diseases after hematopoietic stem cell transplantation: A mini-review. *Cancer Lett.* 2014;342(1):1-8.
22. Cordonnier C. infections after HSCT. En *ESH-HANDBOOK on Haematopoietic Stem Cell Transplantation. European School of Haematology.* 2008; 198-217. [www.esh.org/esh-ebmt-haematopoietic-handbook-on-stem-cell-transplantation-2008/.](http://www.esh.org/esh-ebmt-haematopoietic-handbook-on-stem-cell-transplantation-2008/))
23. Bhat V, Joshi A, Sarode R, Chavan P. Cytomegalovirus infection in the bone marrow transplant patient. *World J Transplant.* 2015;5(4):287-91.
24. Marr KA. Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients - Cohen, Jonathan. En: Powderly WG, Opal SM, editores. *Infectious Diseases (Fourth Edition)* [Internet]. Elsevier; 2017 [Oct. 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702062858000800>
25. Al Hajjar S, Al Seraihi A, Al Muhsen S, Ayas M, Al Jumaah S, Al Jefri A, et al. Cytomegalovirus infections in unrelated cord blood transplantation in pediatric patients: incidence, risk factors, and outcomes. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2011;4(2):67-72.
26. Sanders JE, Coccia PF, Niethammer D, Bonfim CM, Shaw PJ, Li C-K. The History of Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation Around the World. En: Smith FO, Reaman GH, Racadio JM, editores. *Hematopoietic Cell Transplantation in Children with Cancer* [Internet]. Springer Berlin Heidelberg; 2014 [citado 23 de octubre de 2016]. Disponible en: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-39920-6_1
27. Restrepo A. Trasplante de medula osea de trilliza identica a paciente con hemoglobina paroxistica nocturna (HPN) y anemia aplastica. *AMC Acta Médica Colomb.* 1985;10(4):168-71.

28. Hatzimichael E, Tuthill M. Hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Cloning Adv Appl.* 2010;3:105-17.
29. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ, González-Llano O, Gómez-Almaguer D. Haploidentical Bone Marrow Transplantation in 2015 and Beyond. *Curr Oncol Rep.* 2015;17(12):57.
30. Cutler C, Antin JH. An overview of hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med.* 2005;26(4):517-527, v.
31. Canonica CM. An Overview of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Physician Assist Clin.* 2016;1(3):409-18.
32. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med.* 2006; 355(10):1070-1.
33. Xuan L, Huang F, Fan Z, Zhou H, Zhang X, Yu G, et al. Effects of intensified conditioning on Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 2012;5:46.
34. Bodro M., Sabe N., Llado L., Baliellas C., et al. Prophylaxis versus preemptive therapy for cytomegalovirus disease in high-risk liver **transplant** recipients. *Liver Transpl.* 2012; 18(9):1093-9.
35. Hu H.Y., Kang H.J., Hong C.R., Lee J.W., et al. Half-dose ganciclovir preemptive treatment of cytomegalovirus infection after pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2016, 18(3):396-404.
36. República de Colombia. Ministerio de Salud. Resolución No. 8430 del 4 de Octubre de 1993
37. Hanley PJ, Bollard CM. Controlling Cytomegalovirus: Helping the Immune System Take the Lead. *Viruses.* 2014;6(6):2242-58.

38. Alam MM, Bayoumy M, Ali A, Alali M, Al-enezi B, Abosoudah I. Cytomegalovirus infection in children after bone marrow transplantation: Risk factors, clinical aspects and outcomes. *Pediatr Infect Dis*. 2016;8(1):1-7.
39. Azevedo LS, Pierrotti LC, Abdala E, Costa SF, Strabelli TMV, Campos SV, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. *Clinics*. 2015;70(7):515-23.
40. Beck JC, Wagner JE, DeFor TE, Brunstein CG, Schleiss MR, Young J-A, et al. Impact of Cytomegalovirus (CMV) Reactivation after Umbilical Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(2):215-22.
41. Green ML, Leisenring W, Xie H, Mast TC, Cui Y, Sandmaier BM, et al. Cytomegalovirus viral load and mortality after haemopoietic stem cell transplantation in the era of pre-emptive therapy: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2016;3(3):e119-127.
42. Inagaki J, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Fukano R, Okamura J. Effect of Cytomegalovirus Reactivation on Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Acute Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(2):300-6.
43. Kawano Y, Mizuta K, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Okada N, et al. Risk Factors of Cytomegalovirus Infection After Pediatric Liver Transplantation. *Transplant Proc*. 2014;46(10):3543-7.
44. Kotton CN. CMV: Prevention, Diagnosis and Therapy. *Am J Transplant*. 2013;13(s3):24-40.
45. Takenaka K, Nishida T, Asano-Mori Y, Oshima K, Ohashi K, Mori T, et al. Cytomegalovirus Reactivation after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation is Associated with a Reduced Risk of Relapse in Patients with Acute Myeloid Leukemia Who Survived to Day 100 after Transplantation: The Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Transplantation-related Complication Working Group. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(11):2008-16.

46. Rowe RG, Guo D, Lee M, Margossian S, London WB, Lehmann L. Cytomegalovirus Infection in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors for Primary Infection and Cases of Recurrent and Late Infection at a Single Center. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. [citado May. 2016]; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1083879116300222>

47. Wu J-L, Ma H-Y, Lu C-Y, Chen J-M, Lee P-I, Jou S-T, et al. Risk factors and outcomes of cytomegalovirus viremia in pediatric hematopoietic stem cell transplantation patients. *J Microbiol Immunol Infect* [Internet]. [citado May. 2016]; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S168411821500818X>