



Universidad de Oviedo

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Programa de Doctorado de Biología Molecular y Celular

**ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS
INFECCIONES VIRALES EN EL TRASPLANTE DE
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ALOGÉNICOS:
UNA DÉCADA DE EXPERIENCIA**



Blood Mirror (Jordan Eagles)

X a n a G a r c í a F e r n á n d e z
2023

Imagen de portada: “Blood Mirror”, es una escultura y un proyecto colaborativo, creado con 59 donaciones de sangre de homosexuales, bisexuales y transexuales, que aboga por la igualdad y protesta contra la estigmatizante y discriminatoria prohibición de donaciones de sangre y hemoderivados aplicada por la FDA y el gobierno de Estados Unidos en 1983. Los espectadores pueden entrar en la escultura y verse reflejados en la sangre que podría haberse utilizado para salvar vidas.



Universidad de Oviedo

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Programa de Doctorado de Biología Molecular y Celular

**Aspectos Microbiológicos de las Infecciones Virales en el
Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos Alogénicos: una
década de experiencia**

**Microbiological Aspects of Viral Infections in Allogeneic
Hematopoietic Stem Transplantation: a decade of experience**

Memoria para optar al grado de Doctor

Autor: Xana García Fernández

Directores: Dra. Marta Elena Álvarez Argüelles

Dr. Santiago Melón García

Oviedo, 2023



Universidad de Oviedo

RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español: Aspectos Microbiológicos de las Infecciones Virales en el Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos Alogénicos: una década de experiencia.	Inglés: Microbiological Aspects of Viral Infections in Allogeneic Hematopoietic Stem Transplantation: a decade of experience.
2.- Autor	
NOMBRE: XANA GARCÍA FERNÁNDEZ	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Biología Molecular y Celular	
Órgano responsable: Universidad de Oviedo	

RESUMEN (en español)

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento en el que células precursoras hematopoyéticas del propio paciente (trasplante autólogo) o de un donante (trasplante alogénico) son administradas a un receptor con progenitores defectuosos con la intención de repoblar y reemplazar el sistema de manera parcial o total. El TPH ha conseguido que aumente significativamente la supervivencia de pacientes con neoplasias, hemoglobinopatías y otros trastornos (Passweg et al., 2016), pero no está exento de complicaciones, entre ellas las infecciones, donde los virus juegan un papel importante. El TPH alogénico presenta mayor riesgo de infecciones. A partir del día 0, podemos dividir el post-trasplante en 3 períodos: el post-trasplante precoz (0-30 días), el intermedio (30-100 días) y el tardío (hasta el año postrasplante), con diferentes tasas de infección y etiología. (Mackall et al., 2009; Elfeky R et al., 2019; Styczynski J. et al., 2018; Ogonek J. et al., 2016)

El Citomegalovirus (CMV) constituye, sin duda, la infección oportunista más representativa en los alo-TPH. Por eso, muchos esfuerzos están encaminados a prevenir el desarrollo de la enfermedad. La infección por el virus Epstein Barr (VEB) en el alo-TPH puede conducir a una única pero grave complicación postrasplante, el síndrome linfoproliferativo postrasplante, que una vez establecido, presenta una alta mortalidad. La estrategia de elección, al igual que en el CMV es la terapia anticipada.

Aunque el CMV y el VEB siguen siendo los principales virus en receptores de un alo-TPH, la importancia clínica de otros virus puede ser trascendental y su conocimiento puede ser esencial para el correcto manejo y tratamiento del paciente.

En el Hospital Universitario Central de Asturias desde el año 2011, se realiza un protocolo de seguimiento clínico-virológico en los TPH, centrado en la infección por CMV y VEB, pero en continua revisión teniendo en cuenta los aspectos anteriores.

En el presente trabajo, se analizó la replicación viral, los marcadores y la evolución de la infección por Citomegalovirus y virus Epstein Barr en pacientes trasplantados de progenitores hematopoyéticos alogénicos en la última década. Por otro lado se estudió la infección y la evolución de otros virus latentes de importancia clínica: Adenovirus, virus BK, virus JC, virus Herpes tipo 6, virus Herpes tipo 7, virus Herpes tipo 8, Parvovirus, virus Herpes simple tipo 1, virus Herpes simple tipo 2 y virus Varicela Zoster. Se evaluó la replicación de estos virus en un seguimiento protocolizado. Y por último se examinó la incidencia del SARS-CoV-2 durante la pandemia en estos pacientes.

Este trabajo corrobora que el CMV y el VEB son virus frecuentes y que pueden causar trastornos importantes en los TPH y por tanto, deben seguir estudiándose dentro de un protocolo clínico-virológico que podría prolongarse (de una forma más o menos continua), más allá de los cuatro meses de mayor riesgo de infección viral. Características del TPH podría sugerir la inclusión de otros virus latentes y virus como VHH6, VHH7 o Adenovirus

podrían formar parte de ese protocolo. En cualquier caso, siempre estos protocolos son dinámicos y tienen que estar pendientes de los avances que se vayan produciendo en el campo del control y seguimiento de la infección viral, como la aparición de nuevos antivirales que se pueden utilizar en tratamiento o como profilaxis.

RESUMEN (en inglés)

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a procedure in which hematopoietic precursor cells from own patient (autologous transplantation) or from a donor (allogeneic transplantation) are administered to a recipient with defective progenitors with the intention of partially or completely repopulating and replacing the system. HSCT has significantly increased the survival of patients with malignancies, hemoglobinopathies and other disorders (Passweg et al., 2016), but it is not without complications, including infections, where viruses play a significant role. Allogeneic HSCT presents a higher risk of infections. From day 0, we can divide the post-transplant into 3 periods: early post-transplant (0-30 days), intermediate (30-100 days) and late (up to one year post-transplant), with different infection rates and etiology (Mackall et al., 2009; Elfeky R et al., 2019; Styczynski J. et al., 2018; Ogonek J. et al., 2016).

Cytomegalovirus (CMV) is undoubtedly the most representative opportunistic infection in allo-HSCT. Therefore, many efforts are aimed at preventing the development of the disease. Epstein Barr virus (EBV) infection in allo-HSCT can lead to a single but serious post-transplant complication, post-transplant lymphoproliferative syndrome, which, once established, has a high mortality. The strategy of choice, as in CMV, is preemptive therapy.

Although CMV and EBV continue to be the main viruses in allo-HSCT recipients, the clinical importance of other viruses may be transcendental, and their knowledge may be essential for the correct management and treatment of the patient.

At the Hospital Universitario Central de Asturias, since 2011, a clinical-virological follow-up protocol has been carried out in HSCT, focused on CMV and EBV infection, but under continuous review taking into account the above aspects.

In the present work, viral replication, markers and evolution of Cytomegalovirus and Epstein Barr virus infection in allogeneic hematopoietic progenitor transplanted patients in the last decade were analyzed. On the other hand, the infection and evolution of other latent viruses of clinical importance were studied: Adenovirus, BK virus, JC virus, Herpes virus type 6, Herpes virus type 7, Herpes virus type 8, Parvovirus, Herpes simplex virus type 1, Herpes simplex virus type 2 and Varicella Zoster virus. The replication of these viruses was evaluated in a protocolized follow-up. Finally, the incidence of SARS-Cov-2 during the pandemic in these patients was examined.

This work corroborates that CMV and EBV are common viruses and that they can cause significant disorders in HSCTs and therefore should continue to be studied within a clinical-virological protocol that could be extended (in a more or less continuous manner), beyond of the four months with the highest risk of viral infection. Characteristics of the HPT could suggest the inclusion of other latent viruses and viruses such as VHH6, VHH7 or Adenovirus could be part of this protocol. In any case, these protocols are always dynamic and have to be aware of the advances that are taking place in the field. Control and monitoring of viral infection, such as the appearance of new antivirals that can be used in treatment or as prophylaxis.

**SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO
BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR**

A mis bollitos, Luka y Amelia

Agradecimientos

Este trabajo es sin duda la suma de muchos esfuerzos individuales que merecen mi reconocimiento y agradecimiento.

En primer lugar a la Universidad de Oviedo, donde me formé y a la que vuelvo, una y otra vez.

Al Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) por su colaboración.

Al Servicio de Microbiología del HUCA y en especial, a la Unidad de Virología, por muchos motivos, por haber colaborado en mi formación como especialista, por el desarrollo de esta tesis, y sobre todo por el apoyo del conjunto de facultativos, residentes, técnicos y personal adscrito que he conocido a lo largo de todos estos años y que han sido un pilar fundamental para mi desarrollo profesional.

Decía M.Ende en *La historia interminable* “importa mucho el cuándo y el cómo se hace algo por alguien” y no tengo palabras para agradecer a mis directores, la Dra. Marta E. Álvarez y el Dr. Santiago Melón, todo lo que han hecho por mí, en el desarrollo de esta tesis, antes y durante y después de la pandemia, su apoyo ha sido fundamental para que “su virología casera” llegara a cualquier modesto laboratorio. Agradecer a la Dra. Marta Elena, su apoyo, su esfuerzo, sus mensajes a cualquier hora del día, y de la noche, he sido muy afortunada de compartir tiempo profesional y personal con una persona siempre dispuesta a ayudar y ceder su tiempo. A Santi que como J. Cortázar en *Rayuela* te desafía, te hace ir “del lado de acá” “del lado de allá” y “de otros lados” y sin darte cuenta, entre pistachos y cafés, te lleva a un final donde todo adquiere sentido, me faltan palabras para agradecer, su impulso, su entusiasmo y su generosidad personal y profesional todos estos años.

Otros muchos me han acompañado en este viaje, que comenzó hace bastantes años en el Hospital de Cangas del Narcea, donde conocí a dos microbiólogas que me contagiaron su pasión por este trabajo, la Dra. Lucía Barreiro y la Dra. Laura Villa, ellas me animaron a hacer esta especialidad y de ellas sigo aprendiendo microbiología, el Dr. Jose Boga que siempre ha sido un apoyo y referente, la Dra. Susana por sus ánimos, la Dra. Zulema por su ayuda y ser un ejemplo a seguir y la Dra. Merce por ayudarme siempre en mi día a día, y no me puedo olvidar con gran cariño de la Dra. María de Oña, que me abrió las puertas de la virología y de esta gran familia.

En este viaje también he tenido la suerte de encontrar grandes compañeros y amigos en la microbiología gallega y asturiana, a todos ellos, gracias por vuestra amistad y compañerismo y por todo lo que he aprendido con vosotros.

Y por último, ha sido fundamental el apoyo de mis amigos y familia, sobre todo quiero agradecer a mis padres su generosidad para tener oportunidades y permitirme construir una vida llena de satisfacciones personales y profesionales, a mis bollitos por sentarse a dibujar conmigo mientras me peleaba con la base de datos, y por supuesto, a Domingo, su apoyo incondicional y más de media vida de aventuras, no vaya a ser que descansemos...aunque como decía M.Ende:

“Pero ésa es otra historia y debe ser contada en otra ocasión”.

ÍNDICE

<i>Abreviaturas</i>	12
<i>Índice de tablas</i>	14
<i>Índice de figuras</i>	15
1. INTRODUCCION	17
1.1. Trasplante de progenitores hematopoyéticos	18
1.2. Infección por Citomegalovirus.....	24
1.2.1 Epidemiología y patogenicidad del CMV. Aspectos clínicos en el alo-TPH.....	25
1.2.2 Diagnóstico, estrategias de prevención y características de las viremias en el TPH.....	28
1.3 Infección por Virus de Epstein-Barr	30
1.3.1 Epidemiología, patogenicidad del VEB y aspectos clínicos en el TPH	31
1.3.2 Coinfección CMV y VEB en el TPH	32
1.4 Infección por Adenovirus.....	33
1.5. Infección por virus de la Familia Herpesviridae en el TPH	36
1.5.1 Virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2 y el Virus Varicela Zóster.....	36
1.5.2 Virus Herpes Humano tipo 6 y tipo 7 en el TPH.....	37
1.5.3 Virus Herpes Humano tipo 8.....	39
1.6. Infecciones por Poliomavirus BK y JC en el TPH	39
1.7 Parvovirus B-19 en el TPH.....	41
1.8 SARS-CoV-2 en el TPH.....	42
2. OBJETIVOS	45
3. MATERIAL Y MÉTODOS	47
3.1 Pacientes y muestras	48
3.1.1 Estudio primero: Viremias en TPH	48
3.1.2 Estudio segundo: Infección por SARS-CoV-2 en TPH y pacientes hematológicos.....	50
3.1.3 Muestras respiratorias para evaluar la sensibilidad del genoma	53
3.2 Métodos	53
3.2.1 Seguimiento Clínico-Viroológico de virus latentes.....	53
3.2.2 Procesamiento de las muestras de sangre periférica.....	54
3.2.3 Procesamiento de las muestras de exudados nasofaríngeos	55
3.2.4 Diagnóstico basado en técnicas de amplificación genómica	56
3.2.5 Análisis de los datos y metodología estadística	59
4. RESULTADOS	60
4.1. CMV en TPH: epidemiología y marcadores virales	61
4.1.1 Características de las viremias por CMV	63
4.2 Virus Epstein Barr: epidemiología y marcadores virales	66
4.2.1 Características de las viremias en el VEB	68
4.2.2 Relación del VEB con el CMV	69
4.3. Otros virus de Alo-TPH en seguimiento oportunista	71
4.4 Seguimiento protocolizado de los virus anteriormente citados	72
4.4.1 Viremia por CMV	73
4.4.2 Viremias de los virus protocolizados en función del tipo de trasplante	75
4.5 SARS-CoV-2 en pacientes trasplantados	81
4.5.1 Estabilidad del ARN viral en purificados de muestras clínicas para el diagnóstico viral.....	81
4.5.2 Características de la replicación del SARS-CoV-2	83
5.DISCUSIÓN	86
6.CONCLUSIONES	104
7.BIBLIOGRAFIA	106

ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADV: Adenovirus

Alo-TMO: Trasplante alogénico de medula ósea

ARN: ácido ribonucleico

ARNmc: ácido ribonucleico monocatenario

ATG: globulina antitímocítica

BMDW: acrónimo para el inglés de Bone Marrow Worldwide file

BK: Poliomavirus BK

CIBMTR: acrónimo para el inglés de Center for International Blood and Marrow Transplant Research

CMV: Citomegalovirus.

Ct: acrónimo para el inglés de *cycle threshold*

DE: Donante emparentado

DNE: Donante no emparentado

EBMT: acrónimo para el inglés de European Society for Blood and Marrow Transplantation

EBNA : acrónimo para el inglés de Epstein-Barr virus nuclear antigen

ECMV: Enfermedad por citomegalovirus

EDTA: acrónimo para el inglés de ácido etilendiaminotetraacético

EICR: Enfermedad de injerto contra receptor

ETV: enterovirus

G-CSF: acrónimo para el inglés de Granulocyte colony-stimulating factor

HLA: acrónimo para el inglés de Human leukocyte antigen

HUCA: Hospital Universitario Central de Asturias

IA: Influenza A virus

IgA: Inmunoglobulina tipo A

IgG: Inmunoglobulina tipo G

IgM: Inmunoglobulina tipo M

JC: Poliomavirus JC

kb: kilo bases

LBA: lavado bronco alveolar

leu: leucocitos

LMP: Leucoencefalopatía multifocal progresiva

log: logaritmo

MCH: acrónimo para el inglés de major histocompatibility complex

MEM: medio esencial mínimo

nm: nanómetros

OMS: Organización mundial de la salud

ONT: Organización nacional de trasplantes

PCR: acrónimo para el inglés de polymerase chain Reaction

PIV: Parainfluenza virus.

PVB19: Parvovirus

REDMO: Registro de Donantes de Médula Ósea

RT-PCR-tr : Ensayo de retrotranscripción y amplificación genómica a tiempo real.

sc: sangre completa

SK: Sarcoma de Kaposi

SLPT-VEB: síndrome linfoproliferativo postrasplante asociado a VEB

SOS: síndrome de obstrucción sinusoidal hepático

TMO: Trasplante de médula ósea

TPH: Trasplante de progenitores hematopoyético

TPHSP: Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica.

TSCU: Trasplante de sangre de cordón umbilical

UL: acrónimo para el inglés de unique long

US: acrónimo para el inglés de unique short

ITRs: acrónimo para el inglés de inverted terminal repeats

VEB: Virus Epstein Barr

VHS1: Virus herpes tipo 1

VHS2: Virus herpes tipo 2

VVZ: Virus varicela zóster

VHH6: Virus herpes humano tipo 6

VHH7: Virus herpes humano tipo 7

VHH8: Virus herpes humano tipo 8

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 .Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos. Asturias 2011-2021 .

Tabla 2. Subgrupos del Adenovirus humano.

Tabla 3. Distribución de pacientes según edad y temporada de estudio.

Tabla 4. Características de los 97 pacientes alo-TPH seleccionados para el estudio de otras infecciones virales protocolizadas.

Tabla 5. Distribución de pacientes según grupo establecido y temporada (2020/2021/2022).

Tabla 6. Cebadores y sondas utilizados para la detección viral.

Tabla 7. Datos generales de la viremia por CMV.

Tabla 8. Distribución de pacientes con infección por CMV del total estudiado y porcentaje total según edad y temporada

Tabla 9. Características de las viremias por CMV.

Tabla 10. Características de las viremias de los 103 pacientes con replicación continua de CMV

Tabla 11. Datos generales de la viremia por VEB.

Tabla 12. Distribución de las viremias en función de las características de las viremias (continuas o puntuales).

Tabla 13. Episodios y viremias de CMV y VEB (días post-TPH) y carga viral (Leu).

Tabla 14. Incidencia de otros virus buscados en los Alo-TPH de forma oportunista. en función de la edad

Tabla 15. Viremia por CMV según seroestatus pre-TPH en función del tipo de trasplante.

Tabla 16. Viremia de CMV según tipo de trasplante y la utilización de antiviral.

Tabla 17. Detección, días post-TPH y carga viral.

Tabla 18. Viremias en función de la presencia de EICR .

Tabla 19. Tasa de detección de VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en presencia de replicación de CMV (n=70) y no replicación de CMV (n=27).

Tabla 20. Resultados de los Ct en cada uno de los protocolos y media según el tipo de virus.

Tabla 21. Rendimiento de las muestras de dilución ensayadas.

Tabla 22. Incidencia, tiempo de replicación y carga viral de SARS-CoV-2.

Tabla 23. Incidencia de SARS-CoV-2 según la edad.

Tabla 24. Incidencia de SARS-CoV-2 por mes en los años de pandemia.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos por tipos: España (a)-Asturias (b) entre 2011 y 2021.

Figura 2. Infecciones oportunistas en el trasplante de progenitores hematopoyéticos según los periodos post trasplante correspondientes al estado de reconstitución inmune.

Figura 3. Estructura del CMV humano y representación de un mapa 3D de resolución 18 Å de la porción icosaédrica de la partícula del CMV.

Figura 4. Esquema del genoma de citomegalovirus (CMV) y cascada de expresión genómica.

Figura 5. A, B: Morfología y estructura genómica del Virus de Epstein-Barr.

Figura 6. Esquema del genoma y el virión del adenovirus.

Figura 7. a) *Polyomaviridae* (virión). b) Genoma.

Figura 8. a) Parvoviridae (virión). b) Genoma lineal de ssADN de entre 4 y 6 kb de tamaño.

Figura 9. Modelo tridimensional de una partícula de coronavirus.

Figura 10. Cronología de la pandemia de COVID-19 .

Figura 11. Distribución de los pacientes según la edad y realización del TPH.

Figura 12. Distribución de los pacientes según grupo establecido y edad.

Figura 13. Distribución de pacientes según las muestras recibidas y la tasa de cada grupo .

Figura 14. Robots de extracción y purificación de genoma: a) AmpliPrep, b) MagnaPure 96.

Figura 15. Esquema de trabajo del laboratorio a partir del extraído del material genómico de las muestras respiratorias.

Figura 16. Perfil térmico de la PCR-tr empleada para la detección viral de virus ADN (a) o ARN (b).

Figura 17. Distribución de los pacientes con viremia por CMV según sexo, edad, tipo de TPH y temporadas establecidas

Figura 18. Distribución de los pacientes por Sexo (H, hombres, M mujeres), tipo de TPH, edad y temporada establecida.

Figura 19. Distribución de los pacientes con viremia por CMV según edad y temporada.

Figura 20. Distribución de los pacientes según tipo de viremia presentada.

Figura 21. Carga viral en sangre completa y leucocitos en función de los días post-TPH

Figura 22. Viremias continuas de CMV según la edad.

Figura 23. Distribución de los pacientes con viremia por VEB según sexo, edad y temporada establecida.

Figura 24. Distribución de los pacientes por Sexo (H, hombres, M mujeres), tipo de TPH, edad y temporada establecida.

Figura 25. Distribución de los pacientes con viremia por VEB continuas y esporádicas.

Figura 26. Distribución de los pacientes según las viremias de VEB en función de los episodios de CMV.

Figura 27. Aparición y carga viral de las viremias para VEB, según los distintos episodios de replicación del CMV.

Figura 28. Incidencia de otros virus buscados en los Alo-TPH de forma oportunista.

Figura 29. Distribución de otros virus buscados en los Alo-TPH de forma oportunista por a) de los días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log /ml sc.

Figura 30. Distribución de viremias según seroestatus Donante/Receptor del CMV en función del tipo de trasplante recibido.

Figura 31. a) días post-TPH de la 1ª muestra y b) carga viral en log /ml sc, según seroestatus Donante/Receptor del CMV.

Figura 32. Viremias de CMV según tipo de trasplante en función del tratamiento.

Figura 33. a) días post-TPH de la 1ª muestra y b) carga viral en log /ml sc, según tipo de trasplante y tratamiento.

Figura 34. Tasa de detección de otros virus, CMV y VEB en seguimiento protocolizado en función del tipo de trasplante.

Figura 35. a) días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log /ml sc, de otros virus buscados en los TPH de forma protocolizada.

Figura 36. Distribución de viremias en función de la presencia (EICR+) o no (EICR-) de la EICR.

carga viral en log /ml sc, de otros virus buscados en los TPH de forma protocolizada.

Figura 37. Carga viral en log /ml sc, de otros virus buscados en los TPH de forma protocolizada.

Figura 38. Tasa de detección de VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en presencia de replicación de CMV.

Figura 39. Días post-TPH y carga viral (medida en log /ml sc) en presencia de replicación de CMV.

Figura 40. Rendimiento de las muestras de dilución ensayadas.

Figura 41. Presencia de episodios según los grupos de pacientes establecidos.

Figura 42. Incidencia de SARS-CoV-2 según la edad.

Figura 43. Estacionalidad del SARS-CoV-2 en las tres temporadas de pandemia.

*· Como buen guerrero, solo tengo miedo a que sus ojos dejen de mirar,
a ver si puedo llegar al Olimpo y robar el fuego”*

1. INTRODUCCION

1.1. TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es un procedimiento en el que células precursoras hematopoyéticas de cualquier origen son administradas a un paciente receptor con progenitores defectuosos con la intención de repoblar y reemplazar el sistema de manera parcial o total. El TPH ha conseguido que aumente significativamente la supervivencia de pacientes con neoplasias, hemoglobinopatías y otros trastornos (Passweg et al., 2016).

En el siglo XIX se realizaron los primeros intentos de administrar médula ósea para el tratamiento de diversas enfermedades hematológicas como la aplasia medular o las leucemias. Posteriormente en los años 60 se realizaron con éxito los primeros trasplantes de progenitores hematopoyéticos (Thomas et al., 1957). Fue en 1977 cuando se publicó un trabajo sobre una serie de pacientes con leucemia aguda avanzada, que recibieron un trasplante alogénico de un hermano HLA (sistema del antígeno leucocitario humano) idéntico, con resultados esperanzadores (Thomas et al., 1977). Posteriormente en 1989 se realizó el primer trasplante de fuentes de progenitores hematopoyéticos diferentes a la médula ósea, como la sangre periférica (Kessinger et al., 1989) y el cordón umbilical (Gluckman et al., 1989). A partir de este momento comenzó la expansión del trasplante hematopoyético como técnica en continuo desarrollo integrada en el plan terapéutico de muchas enfermedades hematológicas.

Con la aparición de nuevas fuentes de progenitores hematopoyéticos (médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical) sumado al descubrimiento del sistema HLA (Dausset et al., 1999) se crearon registros de donantes y bancos de cordón umbilical coordinados entre ellos a nivel internacional, con el fin de que los pacientes candidatos a trasplante sin donante emparentado puedan acceder a una donación no emparentada gracias a la creación de organismos internacionales y nacionales como “European Society for Blood and Marrow Transplantation” (EBMT), “Center for International Blood and Marrow Transplant Research” (CIBMTR), “Bone Marrow Worldwide file” (BMDW) y sus grupos cooperativos de trabajo. El registro oficial en España es el Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO). Creado en 1991, REDMO cuenta con más de 200.000 donantes voluntarios, procedentes de todas las comunidades autónomas, y más 60.000 unidades de sangre de cordón almacenadas en los siete bancos de sangre de cordón públicos y los dos bancos privados establecidos en nuestro país. Además, REDMO tiene acceso a los datos de más de 27 millones de donantes voluntarios existentes en 75 registros de donantes repartidos en 53 países de todo el mundo, y a las 680.000 unidades de sangre de cordón existentes en 53 bancos de cordón de 36 países.

El trasplante de progenitores hematopoyéticos en España y Asturias

Entre el año 2011 y el 2022, se realizaron en España 38.391 trasplantes de progenitores hematopoyéticos, obtenidos de médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical. La Figura 1 muestra la evolución de los trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos por tipos en España y en Asturias entre el 2011 y el 2022 (datos obtenidos de la Memoria anual de la ONT 2022).

La actividad del Hospital Universitario Central de Asturias refleja, según los datos de la ONT, que en ese periodo se realizaron 1.048 trasplantes, de los que 386 (36,8%) fueron trasplantes de progenitores hematopoyéticos alogénicos, 198 (18,9%) alogénicos no emparentados (DNE) y 188(17,9%) emparentados (DE) (Tabla 1). Incluso en los años marcados por el impacto de la COVID-19, el mantener la actividad de TPH ha sido una muestra más de la fortaleza del Programa Nacional de Donación y Trasplante.

Tabla 1 . Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos. Asturias 2011-2021 .

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
AUTOLOGO	49	46	41	41	41	41	35	40	56	55	42	56
ALOGENICO-DE	14	21	32	13	11	12	12	10	15	18	17	13
ALOGENICO-DNE	33	28	13	13	9	8	19	17	14	12	18	14
TOTAL ASTURIAS	96	104	116	75	85	79	79	83	86	85	77	83
TOTAL ESPAÑA	2672	2709	2945	3013	3068	3216	3321	3378	3444	3375	3620	3630

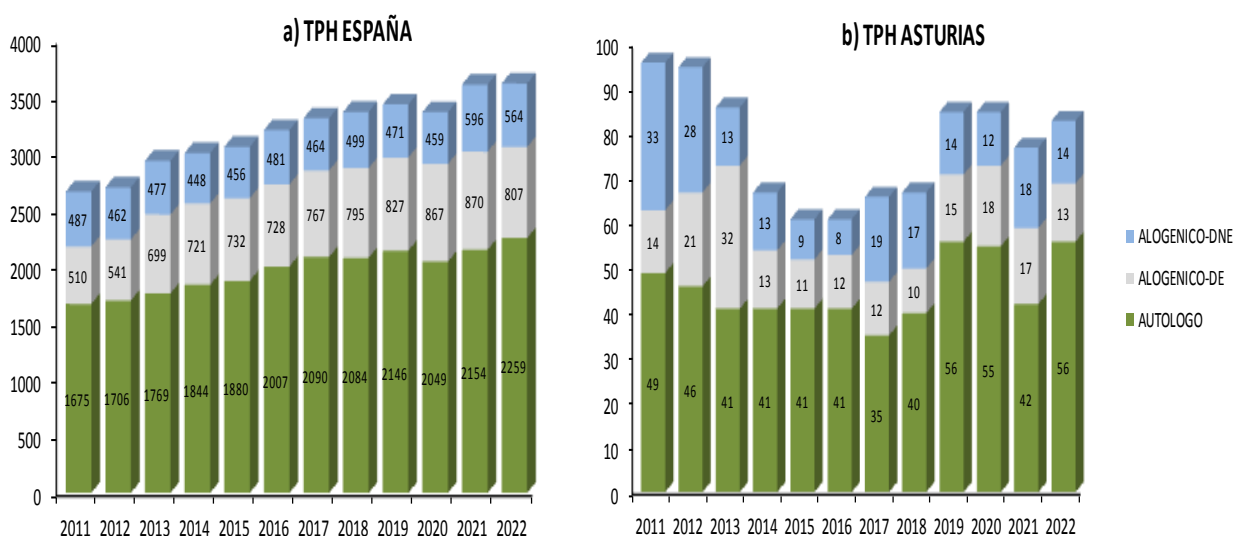


Figura 1. Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos por tipos: España (a) - Asturias (b) entre 2011 y 2021 (Adaptado de ONT).

Tipos de trasplante de progenitores hematopoyéticos

El TPH se puede definir según la procedencia de los progenitores hematopoyéticos, el tipo de donante o el acondicionamiento que se emplee, y la identidad del HLA. Los progenitores hematopoyéticos (PH) pueden ser del propio paciente (trasplante autólogo) o de un donante (trasplante alogénico). El donante ideal para la práctica de un TPH es un hermano HLA genotípicamente idéntico al paciente, estableciéndose dicha identidad mediante determinación de los haplotipos HLA familiares (Dehn et al., 2019).

TPH según la procedencia de progenitores hematopoyéticos

El TPH se puede definir según la procedencia de las células progenitoras que se emplee y elegir una u otra fuente depende de la enfermedad de base y de la disponibilidad del donante:

- ***Médula ósea (TMO)***: originariamente era la única fuente de progenitores hematopoyéticos. Estos PH se obtienen mediante múltiples punciones en ambas crestas iliacas posteriores, normalmente bajo anestesia general. Es un procedimiento seguro y en ocasiones la única forma viable para obtener células progenitoras.
- ***Sangre periférica (TPHSP)***: Es la fuente de PH más utilizada en la actualidad y supone más del 90% de las fuentes utilizadas para TPH. La movilización de los PH a la sangre periférica de un donante sano (Alo-TPH) se realiza con factores de crecimiento hematopoyético (G-CSF) y cuando se han movilizado se procede a su recolección mediante aféresis. En el caso del trasplante autólogo es el propio paciente el que recibe el G-CSF y actúa como "donante".
- ***Cordón umbilical (TSCU)***: contiene de forma natural una gran cantidad de PH que pueden ser utilizadas para trasplante. Se utilizaba cuando no era posible ninguna de las otras opciones.

TPH según el tipo de donante

Hay diferentes tipos de donantes, siendo el donante hermano HLA compatible el de menor mortalidad asociada y por ello, el de mejores resultados:

- ***Donante emparentado (DE)***: el donante es un familiar de primer grado HLA idéntico (generalmente un hermano).
- ***Donante no emparentado (DNE)***: el donante no tiene ninguna relación genética con el paciente y procede de los registros de donantes internacionales o de los bancos de cordón umbilical.

- **Donante haploidéntico (Haplo):** el donante familiar (padres o hermanos) comparte un haplotipo definido por baja, intermedia o alta resolución.
- **Donante autólogo:** los progenitores hematopoyéticos a infundir pueden ser obtenidos de médula ósea (MO) o sangre periférica (SP) procedentes del mismo paciente

TPH según el acondicionamiento

Dependiendo de la enfermedad hematológica, previamente a la infusión de los PH, el paciente realiza un tratamiento de preparación, que se denomina “acondicionamiento”, en el que se utiliza quimioterapia que puede combinarse con radioterapia. Según el tipo de acondicionamiento, el trasplante se clasifica en:

- **Mieloablatoivo:** aquellos que no permiten la recuperación hematológica autóloga tras 4 semanas después de haber recibido el acondicionamiento
- **Intensidad reducida:** la aplasia medular no es tan profunda ni duradera y la toxicidad asociada a la misma es menor
- **No mieloablatoivo:** no hay un efecto sobre la hemoperiferia del paciente y el éxito del trasplante depende de manera casi exclusiva del efecto de los linfocitos T del donante sobre la enfermedad hematológica.

TPH según la identidad HLA

El sistema del antígeno leucocitario humano (HLA) es un componente importante del sistema inmunitario que engloba glicoproteínas de membrana y los genes que codifican para ellas (Klein et al., 2000), sus funciones son la presentación de antígenos y provocar respuesta alogénica. Existen dos tipos de moléculas de HLA, las de clase I (formadas por los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C) y las de clase II (que incluyen los antígenos HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP), Todo individuo hereda la mitad de estos antígenos de su padre y la otra mitad de su madre. Basándose en la identidad del HLA el TPH puede ser: *Trasplante HLA idéntico*, *Trasplante HLA no idéntico* (Coo et al., 2007). El grado de compatibilidad HLA entre donante y receptor tiene una relación directa con los resultados de TPH y va a afectar al riesgo de fallo de injerto, de EICR, de mortalidad relacionada con el trasplante y por tanto en las posibilidades de supervivencia

Periodos del trasplante de progenitores hematopoyéticos

En el trasplante de progenitores se realiza en varias etapas. En primer lugar, existe una fase de acondicionamiento del receptor, que consiste en la administración de quimioterapia y/o radioterapia a dosis suficientes para suprimir la MO y el sistema inmunológico del receptor, de forma que se permita el implante de un sistema hematopoyético nuevo (que dura unos 6-10 días). Al día siguiente del final del acondicionamiento se produce la extracción de los

progenitores hematopoyéticos al donante. A las 24-72 horas de finalizar el régimen de acondicionamiento, se infunden los progenitores hematopoyéticos por vía intravenosa (lo que se considera día 0). En el periodo post-infusión el paciente se encuentra aplásico y a partir del día 10-14 post-infusión, aparecen los primeros leucocitos, reticulocitos y plaquetas del paciente y tiene lugar una recuperación hematológica e inmunitaria. La reconstitución hematológica puede ser total con la del donante (quimera completa) o parcial (quimera mixta). A partir del día del TPH (día 0), en función de los factores de riesgo de adquirir infecciones y de la recuperación inmunitaria, podemos dividir el post-trasplante en 3 periodos (Elfeky R et al., 2019; Mackall et al., 2009; Ogonek J. et al., 2016; Styczynski J. et al., 2018) (Figura 2):

- **Post-trasplante precoz, (días 0 a 30):** es el periodo de aplasia secundaria a la quimioterapia y/o la radioterapia recibida en el acondicionamiento. La duración de esta fase de riesgo es variable en función de factores como la intensidad del acondicionamiento o la fuente de progenitores. En este momento, las infecciones se ven facilitadas por la intensa neutropenia, la inmunosupresión y la lesión del tracto digestivo, con un claro predominio de las infecciones de origen endógeno. Los gérmenes más frecuentes son las bacterias (gram positivas y gram negativas), hongos (*Cándida sp* y *Aspergillus sp*) y virus (sobre todo virus herpes simple VHS). Es por ello que, durante este periodo se realiza profilaxis específica dirigida a prevenir las infecciones más prevalentes.
- **Post-trasplante intermedio (entre los días 30-100):** el paciente suele haber superado la fase de neutropenia, sin embargo persiste una profunda disfunción de su inmunidad adquirida, tanto humoral como celular. Es el periodo que se caracteriza por la presencia de linfopenia severa. Es en esta fase cuando suele aparecer la EICR aguda, que precisa de tratamiento corticoideo, lo que determina un deterioro más marcado de la inmunodeficiencia. Las infecciones que cobran protagonismo en este momento son fundamentalmente virales, debido a la deficiencia o ausencia de las células que reconocen y eliminan los antígenos virales, destacando por su frecuencia el Citomegalovirus (CMV), cistitis hemorrágica por Adenovirus o poliomavirus BK. También aparecen microorganismos como *Pneumocystis jirovecii*, *Toxoplasma gondii* u hongos como el *Aspergillus spp*. La introducción de estrategias de monitorización rutinaria de la carga viral en sangre total o plasma que permiten la instauración de tratamiento precoz o *pre-emptive* ha contribuido en gran medida a la reducción de la morbi-mortalidad asociada a infecciones por CMV o virus de Epstein Barr (VEB) (Ullmann et al, 2016).
- **Post-trasplante tardío (este período comprende desde los 3 meses hasta prácticamente un año post-TPH):** lo habitual es que el paso del tiempo se asocie a un menor riesgo de infección, sin embargo es importante destacar que en esta fase más tardía se observa una

gran variabilidad inter individual dependiendo de diversos factores, entre los que destaca el desarrollo de EICR y su tratamiento. Se puede dividir en dos periodos:

a) desde los 3-6 meses post-TPH cuando tiene lugar la reconstitución de los linfocitos T de una manera más completa y funcional. La reconstitución inmunitaria de las células T en el postrasplante es un factor importante que está relacionado con el riesgo de contraer infecciones (Crocchiolo et al., 2015), estas suelen ser secundarias a bacterias encapsuladas (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*), *Aspergillus*, *Pneumocystis jiroveci* y virus varicela-zóster (VVZ), la mayoría de ellos asociados al uso de tratamientos prolongados con corticoides .

b) a partir de los 6 meses pot-TPH es cuando se inicia la reconstitución de los linfocitos B. Este proceso de generación y maduración de linfocitos B es lento y puede prolongarse desde los 2 hasta los 5 años post-TPH.

La Figura 2 muestra los factores de riesgo post-TPH.

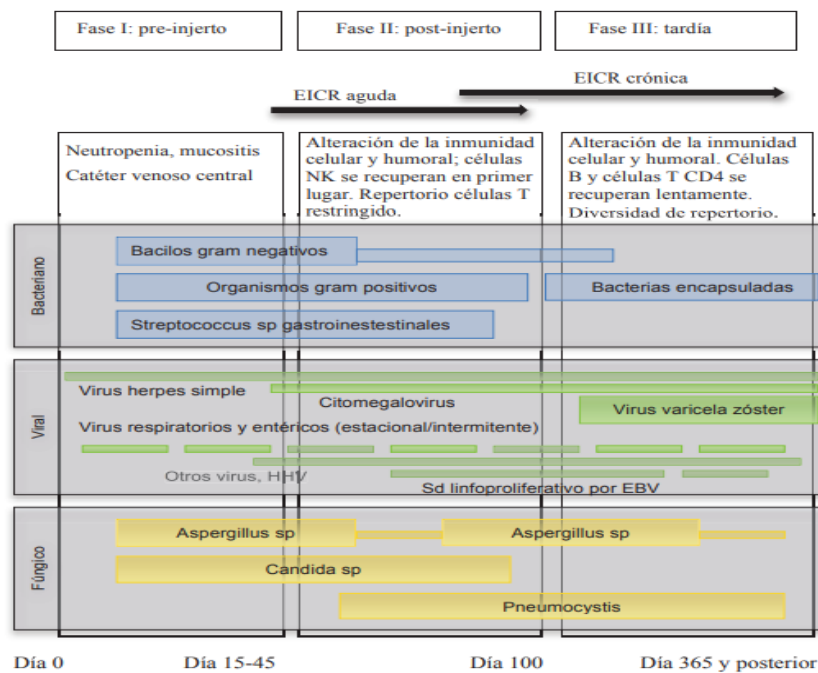


Figura 2. Infecciones oportunistas en el trasplante de progenitores hematopoyéticos según los periodos post trasplante correspondientes al estado de reconstitución inmune (Adaptado de Fita A., 2018).

En el post-TPH, la enfermedad viral puede ser una infección letal. Para prevenir infecciones virales manifiestas, en el caso de algunos virus existen dos estrategias principales que incluyen la terapia preventiva y la profilaxis. Para la terapia preventiva se realiza una monitorización por PCR a tiempo real para buscar replicación viral y cuantificar la carga viral, que nos servirá para realizar un seguimiento de la misma. Tras la detección y cuantificación de

la replicación viral se administra la terapia antiviral de forma preventiva para prevenir la progresión a enfermedad (Green et al., 2012). En el caso de que se opte por la profilaxis, se administran medicamentos antivirales a todos los pacientes en riesgo de enfermedades virales.

Las estrategias a seguir en el alo-TPH por lo general dependen del virus y los principales virus responsables y sus manifestaciones clínicas se desarrollan a continuación.

1.2. INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS

El citomegalovirus humano (CMV) pertenece a la familia *Herpesviridae* y a la subfamilia *Betaherpesviridae*. Su estructura con un diámetro entre 150-200 nm, consta de tres regiones principales (Figura 3): una nucleocápside icosaédrica de 125 nm que recubre el genoma viral, formado por ADN lineal de doble cadena, un tegumento proteico o matriz que rodea a la nucleocápside y que consta, al menos de 27 proteínas codificadas por el virus y una bicapa lipídica externa que engloba tanto a la nucleocápside como al tegumento proteico, que tiene unas 20 glicoproteínas codificadas por el virus (Gibson et al., 2008).

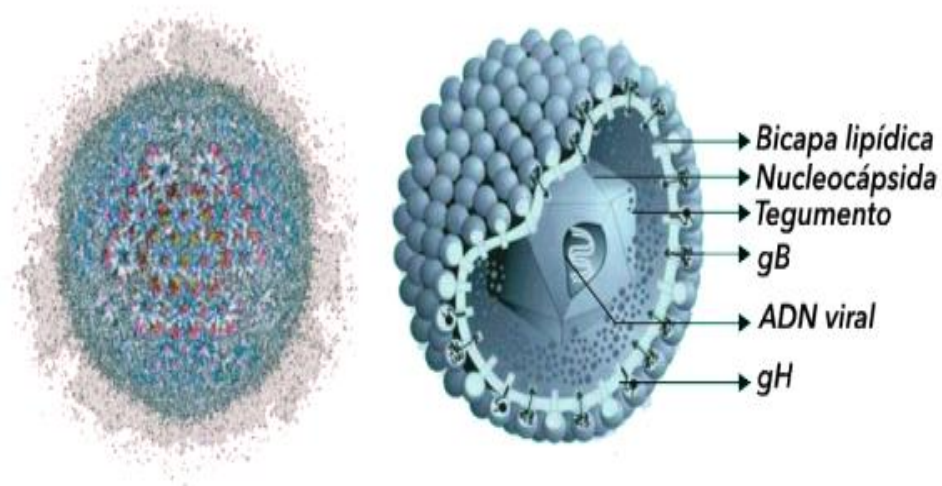


Figura 3. Estructura del CMV humano y representación de un mapa 3D de resolución 18 Å de la porción icosaédrica de la partícula del CMV. (Adaptado de Gandhi MK et al., 2004).

Su genoma contiene una región larga (UL, del inglés *unique long*) y otra región corta (US, del inglés *unique short*), cada secuencia realiza una repetición directa terminal (TR), existiendo una copia inversa de dicha secuencia en medio del genoma (IR). Todas estas regiones contienen, casi por completo, todos genes de CMV (Sanbonmatsu, et al., 2014).

Una vez el virus ha entrado en la célula por fusión de membranas, se liberan las proteínas del tegumento y la nucleocápside, que se dirigirá hacia el núcleo donde liberará el ADN viral (Figura 4).

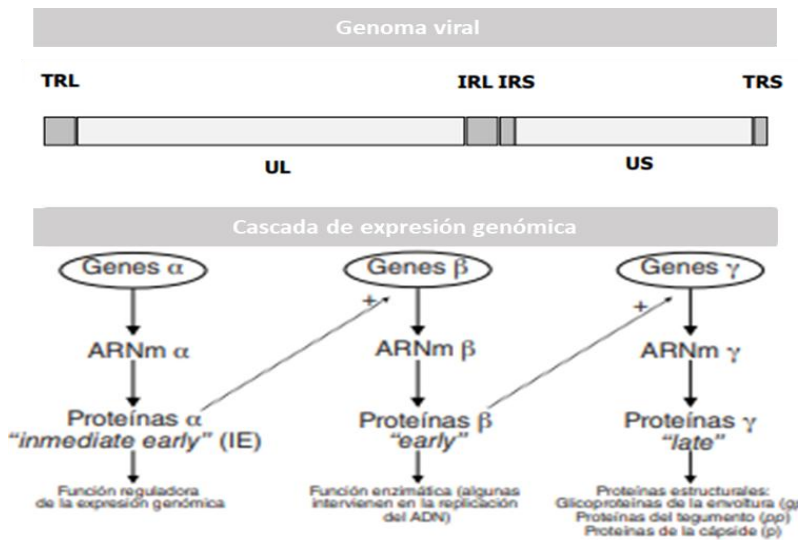


Figura 4. Esquema del genoma de citomegalovirus (CMV) y cascada de expresión genómica. IRL: “internal repeat-long”; IRS: “internal repeat-short”; p: proteínas; pp: fosfoproteínas; TRL: “terminal repeat-long”; TRS: “terminal repeat-short”; UL: “unique long”; US: “unique short”. (Adaptado de Sabonmatsu et al., 2014).

La expresión de los diferentes genes de CMV se produce en un proceso en cascada formado por tres fases distintas. En la primera fase se expresan los genes α , que codifican las proteínas α o IE (*immediate early*) responsables de regular la expresión genómica de los genes virales β o “*early*”. En la segunda fase se produce la expresión de los genes β , que codifican las proteínas β “*early*” y la tercera fase, está regulada por las proteínas “*early*” que codifican proteínas estructurales como las fosfoproteínas del tegumento (pp), entre las que destaca la pp65, principal diana para la producción de anticuerpos monoclonales usados en las pruebas diagnósticas de antigenemia. Desde este estado de latencia, CMV puede reactivarse originando una nueva fase replicativa, esa reactivación ocurre en situaciones de inmunodepresión, inflamación o estrés.

1.2.1 Epidemiología y patogenicidad del CMV. Aspectos clínicos en el alo-TPH

El CMV es un virus con una prevalencia a nivel mundial que puede variar del 30% al 70% para el CMV (Auger et al., 2014; Ljungman et al., 2019; Styczynski et al., 2016; Teira et al., 2016).

La adquisición de CMV está relacionada con el contacto directo con personas infectadas que excretan el virus en su saliva, orina, semen, secreciones genitales durante el parto, leche materna, o incluso, vía sanguínea a través de transfusiones de sangre o trasplantes (Sanbonmatsu et al., 2014). Inicialmente tras el contacto, el virus se replica en las células epiteliales de las mucosas (tracto urinario, respiratorio o gastrointestinal) o vía sanguínea (transfusión o trasplante) (Sinzger et al., 1995). Posteriormente, mediante la infección de células endoteliales y de diferentes tipos de leucocitos (monocitos, linfocitos y neutrófilos), el

CMV se disemina vía sanguínea a diferentes órganos entre los que se incluyen riñón, hígado, bazo, retina, esófago, pulmones y colon, así como, las glándulas salivares (Sweet C. et al., 1999).

En individuos inmunocompetentes, la infección primaria suele ser asintomática, leve o producir un síndrome mononucleósico, similar al provocado por el virus Epstein-Barr (VEB), con fiebre, mialgia, linfadenopatía y hepatomegalia (Crough T. et al., 2009). Tras la infección primaria, el virus establece una infección latente en progenitores mieloides (células CD34+) y posiblemente también en otros órganos y tejidos. Tras esta primera infección, CMV entra en una fase de latencia (en progenitores mieloides no diferenciados y células endoteliales principalmente) desde la que puede producir infecciones recurrentes ante algunos estímulos, especialmente en condiciones de inmunosupresión como es el caso de pacientes trasplantados.

Los pacientes seropositivos pueden sufrir nuevas infecciones por CMV con cepas distintas (reinfección) o reactivaciones del virus desde su estado de latencia (infección recurrente), fomentadas por diversas circunstancias como estados de inmunosupresión, inflamación, infección o incluso estrés (Halenius A. et al., 2014).

Debido al amplio tropismo celular que caracteriza al CMV, el número de patologías asociadas a la infección por este virus es muy diversa. El control de la replicación viral, tanto en la infección primaria como en el estado de latencia, se va a producir por una combinación de inmunidad innata, humoral y celular. Tanto la inmunidad humoral como la inmunidad celular y las células *natural killer* están implicadas en el control de la infección. Mientras que la primera parece prevenir la progresión a enfermedad por citomegalovirus (ECMV), ya que reduce el grado de replicación viral, la mayor gravedad parece relacionarse más con afectación severa en la inmunidad celular (Méndez JC et al., 1999). La inmunidad celular induce la formación de anticuerpos específicos IgM, IgA e IgG, que aparecen casi a la vez que la excreción del virus por saliva y orina. Los anticuerpos tipo IgM pueden persistir durante 2-8 meses, salvo en pacientes inmunodeprimidos donde la producción de IgM puede no darse a valores detectables, los IgA pueden ser detectables hasta 1 año después y los IgG de por vida. Esta inmunidad celular, es crucial en el control de la infección por CMV. Las principales dianas de los linfocitos T CD8+ y CD4+ son las proteínas virales pp65 (pUL83) y la proteína IE1.

La adecuada respuesta inmune celular específica se ha asociado con un curso clínico favorable en TPH. En trasplantados esta fracción de linfocitos está prácticamente ausente hasta el sexto mes post-TPH, dependiendo de la dosis y el tipo de inmunosupresores empleados. Una carga viral elevada se ha relacionado con un mayor riesgo de ECMV en los TPH (Boeckh et al., 2003; Tan SK. Et al., 2015) y aunque la infección primaria es factor de riesgo para el desarrollo

de ECMV en el embarazo, no es así para el TPH (Griffiths PD et al., 2009; Green ML. ET AL., 2013). La evolución de la carga viral a lo largo del tiempo podría ser importante para predecir el desarrollo de la enfermedad (Egli A. et al., 2012).

La evaluación del estado serológico frente a CMV del donante y del receptor antes del trasplante se ha utilizado convenientemente como un marcador subrogado de infección latente (y por tanto de riesgo posterior de transmisión del donante) y de competencia inmune o capacidad de controlar la infección. La combinación del estado serológico del donante y del receptor en el pretrasplante se utiliza para definir distintas categorías de riesgo de enfermedad por CMV postrasplante

El estado serológico de donante y receptor es el principal factor de riesgo de infección por CMV en el trasplante alogénico. Especialmente cuando el receptor es positivo y es común a todos los tipos de trasplante alogénico, bien sea de donante familiar o de donante no emparentado, idéntico o no idéntico, incluido los TPH haploidénticos (Cho B. et al., 2013 Cesaro S. et al., 2018; McCurdy S, et al., 2018)

De esta manera y basándose en estado serológico del CMV en el pre-TPH, se estratifican a los pacientes en diferentes grupos de riesgo (George B. et al., 2018):

- **Alto riesgo (D-/R+ o D+/R+):** donde el receptor es CMV positivo. En este escenario, existe la posibilidad de la reactivación y no hay memoria inmunológica frente al virus. En estos casos la incidencia de infección por CMV se ha descrito que puede ser superior al 80%, especialmente en los acondicionamientos mieloablativos.
- **Riesgo Intermedio (D+/R-):** Donde el receptor es CMV negativo. La inmunidad del donante presente, aunque deficitaria en el post-TPH, tiene linfocitos memoria CMV específicos. La incidencia de infección por CMV en esta población es en torno al 50%.
- **Bajo riesgo (D-/R-):** en esta situación la incidencia de infección por CMV se ha descrito entre 0% y 20% (Morayta E. et al., 2018).

La infección por CMV es una complicación importante en el TPH, causa frecuente de morbilidad y mortalidad. Ésta, suele ocurrir por la reactivación del virus del propio receptor y tiene un gran impacto en la morbilidad y la mortalidad en pacientes trasplantados, además, la ECMV contribuye enormemente al mayor uso de recursos diagnósticos y terapéuticos y al costo general del trasplante (Smedbraten YV et al., 2014). Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la neumonitis, seguida de la enfermedad gastrointestinal pero también se han descrito casos de hepatitis, encefalitis, retinitis y desarrollo de enfermedad sistémica (Griffiths PD et al., 2009).

Los avances tanto en los tratamientos antivirales, con la introducción del tratamiento anticipado o *pre-emptive* como en las técnicas utilizadas para la detección genómica del virus,

han disminuido la incidencia de enfermedad por CMV en los primeros 100 días post-TPH desde el 35% hasta el 5% y al 11% durante el primer año post-TPH (Tan S. et al., 2015; Camargo J. et al., 2018). Al disminuir la incidencia también lo ha hecho la mortalidad, situándose alrededor del 2% (Ljungman P. et al., 2011).

En los últimos años, se ha observado un aumento de *infección tardía* por CMV, la que ocurre a partir de los 100 días del TPH (4-6 meses post-TPH), aunque no es bien conocida, se sitúa entre el 4% - 15% (Boeckh M. et al., 2009). Diversos estudios han descrito que tanto la profilaxis antiviral como el desarrollo de la EICR, pueden retrasar la reconstitución inmune CMV-específica post-TPH (Sellar RS. Et al., 2015). Esta disminución de la reconstitución inmune, al ser retirada la profilaxis, contribuye a un aumento en la incidencia de infección y de la enfermedad por CMV tardía, así como de la mortalidad relacionada con la enfermedad por CMV. Es muy importante realizar el diagnóstico de la infección tardía, ya que parece que el desarrollo de la enfermedad tardía tiene la misma mortalidad que en la forma precoz (Moins-Teisserenc H. et al., 2008; Corre E. et al., 2010).

Si bien la mortalidad asociada al CMV es baja (2%), la morbilidad derivada de la infección por CMV, así como de su tratamiento es elevada y muy difícil de cuantificar, y dificulta el manejo del paciente y asocia efectos directos e indirectos que pueden contribuir a la mortalidad relacionada con el procedimiento y a disminuir la supervivencia global del paciente tras el TPH (Sellar RS. Et al., 2015).

1.2.2 Diagnóstico de la infección por CMV, estrategias de prevención y características de las viremias en el TPH

La aparición de CMV en sangre periférica (viremia) precede, normalmente, a la sintomatología clínica de la ECMV.

Las técnicas diagnósticas disponibles para la determinación de la infección son el cultivo celular, la antigenemia y las técnicas de detección o cuantificación de ácidos nucleicos. Por otra parte, la técnica utilizada para diagnosticar la enfermedad por CMV es la histopatología. La serología puede servir para diagnóstico de infección primaria sintomática (mononucleosis, hepatitis) y determinación del estatus serológico de donantes y receptores. Las muestras clínicas habituales para el estudio de CMV son: suero para detección de anticuerpos, sangre completa para estudio de la inmunidad celular y para técnicas de detección directa, y orina, saliva, sangre completa, plasma, suero, lavado bronco alveolar, líquido cefalorraquídeo y tejido.

Desde la última década, la mayoría de centros utilizan métodos de detección de ADN viral mediante PCR cuantitativa a tiempo real (Sanbonmatsu S. et al., 2014) por su alta

sensibilidad y especificidad, ya que actualmente hay métodos moleculares completamente automatizados para determinación de carga viral de CMV. La experiencia y observación clínica junto con un adecuado algoritmo de seguimiento acordado entre virólogos y clínicos han permitido, en muchos hospitales, establecer puntos de corte de la viremia medida en copias/ml de sangre completa para la instauración de terapia antiviral anticipada. El uso combinado de la monitorización virológica e inmunológica de la infección activa por CMV nos permite optimizar e individualizar los tratamientos en los pacientes receptores de un alo-TPH.

Aunque, como hemos señalado, la mayoría de los centros de TPH han adoptado una estrategia preventiva contra el CMV, que ha reducido la incidencia de la enfermedad temprana por CMV por debajo del 5% , no hay consenso sobre la frecuencia de la monitorización del CMV o las cargas virales a partir de las cuales debe iniciarse la terapia preventiva (Green M. Et al., 2016; Tan S. et al., 2015). En el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), de forma general, el tratamiento anticipado o *pre-emptive* es la principal estrategia utilizada para prevenir la enfermedad orgánica por CMV. La monitorización es bisemanal durante el ingreso y tras este periodo, en las visitas de control rutinario ya que, la monitorización virológica se recomienda hasta que se produzca la reconstitución inmunitaria post-TPH (Boeckh M. et al., 2009).

En el paciente trasplantado existe correlación entre la cantidad de virus en la sangre cuando éste replica y la probabilidad de desarrollar enfermedad por el virus. La viremia por CMV, ya sea inicial (primer episodio) o recurrente, se puede presentar de varias maneras:

- **Viremia continua:** si se observa la presencia de ADN de CMV en muestras consecutivas monitorizadas.
- **Viremias puntuales:** se definen por la presencia de ADN del CMV en una sola muestra, seguida de una muestra de PCR indetectable, generalmente extraída con varios días de diferencia.
- **Viremias esporádicas o intermitentes (blips virales):** la replicación transitoria de bajo nivel está bien descrita en el entorno del virus de inmunodeficiencia humana. Sin embargo, la epidemiología de tales *blips* en los receptores de trasplante para citomegalovirus sigue siendo incierta y no se había descrito hasta hace unos años, la presencia de detecciones aisladas de CMV. Diversos autores han demostrado que los *blips* de CMV son relativamente frecuentes en el seguimiento de receptores de TPH y sugieren que las características de los *blips* de CMV pueden ser marcadores importantes de una infección posterior, ya que en ocasiones, estos preceden a viremias prolongadas por CMV (Huntley D. et al., 2020; Isabelle P. et al., 2018; Lodding I. et al., 2018; Solano C. et al., 2017). Además, se ha documentado que los episodios aislados de viremia se producen con frecuencia

variable en el contexto del alo-TPH, especialmente en receptores de donantes con seropositivos para CMV (Lodding I. et al.,2018).

1.3 INFECCIÓN POR VIRUS DE EPSTEIN-BARR

El virus Epstein-Barr (VEB) es un virus de la familia *Herpesviridae* y de la subfamilia *Gammaherpesviridae*. Además, es uno del virus ampliamente diseminado en la población mundial, la incidencia varía desde 0,1% hasta el 72,0% (Styczynski et al., 2016) y establece infecciones latentes y de largo plazo, la reactivación del virus de Epstein-Barr (VEB) también es frecuente en el Post-TPH y puede causar complicaciones graves, como el trastorno linfoproliferativo postrasplante (Diop et al., 2012).

Ha sido clasificado en dos subtipos principales denominados tipo 1 y tipo 2 (originalmente A y B), basándose en polimorfismos alélicos observados en un grupo de genes latentes. Estos dos subtipos se diferencian en los “genes Epstein-Barr virus nuclear antigen” (EBNA)-2, EBNA-LP y EBNA3. Este virus tiene entre 122 a 180 nm de diámetro y está compuesto de ADN de doble cadena lineal de cerca de 172.000 pares de bases, encerrado por una nucleocápside, la cual está rodeada por un tegumento de proteínas que, a su vez está rodeado por su envoltura externa, con abundantes glicoproteínas, que son las responsables de la interacción con receptores celulares específicos que determinan el tropismo celular de la partícula viral. El genoma viral contiene alrededor de 85 genes (Figura 5).

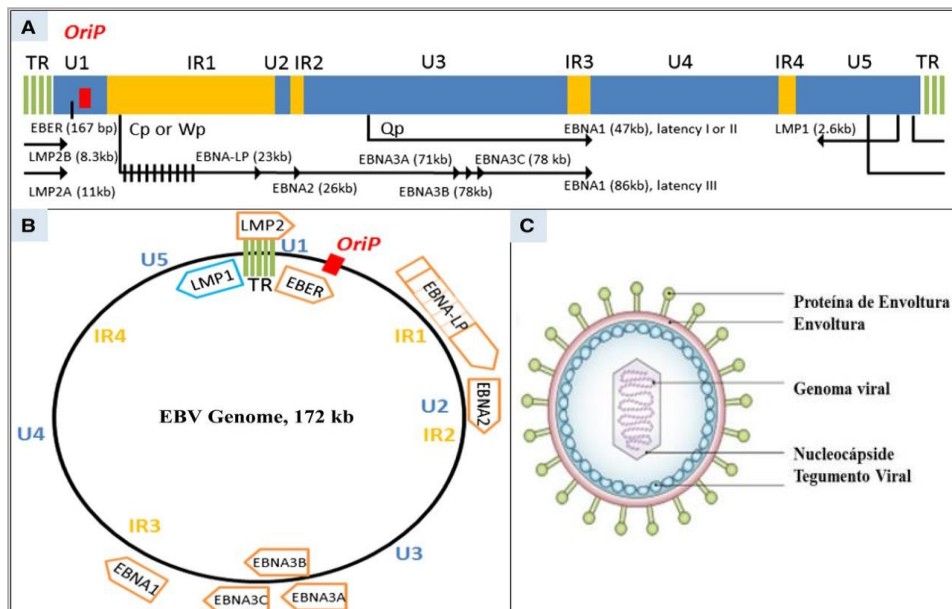


Figura 5. A, B: Morfología y estructura genómica del Virus de Epstein-Barr (Adaptado de Ok C. et al., 2013). C: Conformación física de VEB, conteniendo su envoltura, nucleocápside y tegumento viral, al igual que ADN de doble hebra lineal. (Adaptado de Amon W. et al.,2005)

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 y por otra, una fase lítica, que se caracteriza por replicación y transmisión viral (Thorley-Lawson D. et al., 2004)

1.3.1 Epidemiología, patogenicidad del VEB y aspectos clínicos en el TPH

La infección por VEB es transmitida horizontalmente mediante secreciones nasofaríngeas. La infección primaria en niños es acompañada por pocas o ninguna manifestación sistémica, pero esto resulta en producción a lo largo de la vida de anticuerpos específicos contra el virus e inmunidad permanente a la reinfección. En contraste, el 50% de aquellos sujetos que experimentan infección primaria en la temprana adultez, desarrollan mononucleosis infecciosa (Depper J. et al., 1981). El VEB puede infectar diferentes tipos de células, especialmente linfocitos B y células epiteliales (Wu L. et al., 2007).

Mientras que la mayoría de las infecciones por VEB de lactantes y niños son asintomáticas o presentan síntomas inespecíficos, las infecciones de adolescentes y adultos dan lugar con frecuencia a mononucleosis infecciosa (Cohen J. et al., 2000).

Más del 50% de los pacientes con mononucleosis infecciosa manifiestan la tríada de fiebre, linfadenopatía y faringitis; por otra parte la esplenomegalia, las petequias palatinas y la hepatomegalia están presentes en más del 10% de los pacientes. Otras complicaciones menos frecuentes son anemia hemolítica, trombocitopenia, anemia aplásica, miocarditis, hepatitis, úlceras genitales, rotura esplénica, erupción cutánea y complicaciones neurológicas como síndrome de Guillain-Barré, encefalitis y meningitis.

Las infecciones por virus Epstein-Barr (VEB) son una causa muy significativa de morbi-mortalidad en pacientes sometidos a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos debido al uso de tratamientos inmunosupresores y por el periodo prolongado de inmunodeficiencia al que es sometido el receptor (Vallejo M. et al., 2018).

El VEB latente en los linfocitos B se reactiva durante los periodos de inmunodepresión, los linfocitos T citotóxicos específicos contra el VEB no son capaces de controlar al virus, produciéndose una proliferación linfoide B policlonal y con menos frecuencia monoclonal. Los linfocitos afectados pueden ser tanto del donante como del receptor.

La reactivación del VEB puede conducir a una única pero muy grave complicación post-TPH, el síndrome linfoproliferativo post-trasplante (SLPT-VEB post-TPH). Su incidencia es aproximadamente del 4%, y se observa en el trasplante alogénico, siendo muy raro en el autólogo. Se presenta con una gran variedad de síntomas y signos que pueden ir desde un síndrome mononucleósico hasta el desarrollo de pancitopenia que puede progresar

rápidamente a linfoma, con una alta mortalidad asociada. Son factores de riesgo para su aparición la depleción linfoide T, el uso de ATG o anticuerpos anti-CD3 y la disparidad HLA (Uhlir M. et al., 2014). La mayor parte de los casos se desarrollan alrededor del día 70 post-TPH, aunque se observa en ocasiones formas agresivas precoces (45 días post-TPH) o muy tardíos (años después del TPH) que suelen cursar con febrícula y adenopatías.

En los pacientes con alto riesgo de sufrir reactivación del virus se recomienda monitorizar semanalmente la presencia de VEB mediante técnicas de cuantificación de DNA hasta el cuarto mes post-TPH, así como los signos y síntomas que puedan atribuirse al SLPT (Rouce R. et al., 2014).

En el Hospital Universitario Central de Asturias, de forma general, al igual que en el CMV, el tratamiento anticipado (*pre-emptive*) es la principal estrategia utilizada. La monitorización es bisemanal durante el ingreso, y una vez detectada una carga viral significativa de VEB en sangre en un paciente con riesgo de SLPT-VEB se administra tratamiento anticipado. La implementación de estrategias diagnósticas y terapéuticas para el manejo de la infección por VEB y la monitorización de la viremia y la terapia preventiva o dirigida, ha reducido significativamente la incidencia de mortalidad (Styczynski J. et al., 2013).

Diversos estudios han demostrado que el estado serológico del VEB contribuye significativamente al desarrollo de EICR crónica, y en menor medida también a EICR aguda. El mecanismo más probable depende del papel de las células B y existe una creciente evidencia de que las células B también tienen un papel que desempeñar en la fisiopatología de la EICR crónica (Cutler C. et al., 2013). Además se cree que el VEB también podría tener el potencial de aumentar el riesgo de EICR a través de efectos indirectos, que incluyen infecciones bacterianas, fúngicas y otras infecciones virales, como se conoce para la infección por CMV (Snydman DR. Et al., 2014).

1.3.2 Coinfección CMV y VEB en el TPH

El CMV es un inductor activo de otros virus del grupo herpes, mediante interacciones con el sistema de defensa del receptor del trasplante el CMV puede potenciar la patogenicidad de otros virus, lo que da lugar a coinfección y a una mayor inmunosupresión acumulativa (Sia IG. Et al., 2000).

La interacción entre el CMV y el virus de Epstein-Barr ha sido objeto de especial atención, dada la elevada seroprevalencia de estos virus en la población general y el papel del VEB en el desarrollo de trastornos linfo-proliferativos postrasplante. Al igual que el CMV, el Epstein-Barr está asociado con la disfunción del injerto y la pérdida prematura del mismo.

La reactivación viral está asociada a la inmunosupresión crónica y es probable que se subestime en los pacientes trasplantados.

La reactivación del CMV post trasplante está estrechamente relacionada con la reactivación del VEB y con el riesgo de sufrir SLPT ya que representa un marcador indirecto de la severidad de la inmunosupresión. Aunque aún no se han dilucidado completamente los mecanismos, las interacciones directas entre diferentes virus pueden influir en la progresión de la enfermedad y modular la infectividad mediante la alteración de la expresión génica en los virus que cohabitan (Singh N. et al., 2005).

La carga clínica de las coinfecciones CMV-VEB en la población trasplantada no está bien documentada en la literatura actual y los datos limitados de las publicaciones revelan una gran variabilidad, aunque diversos estudios revelan que las infecciones por CMV y VEB parecen tener un impacto en la viabilidad del aloinjerto que difiere de la mono infección, lo que junto con el desarrollo de PTLD representa una preocupación primordial para el manejo de los receptores de trasplantes. Con el creciente conocimiento de las interacciones víricas, la aparición de nuevos virus y las diferentes eficacias de los antivirales actuales, es vital determinar la relevancia clínica de la coinfección por CMV con otros virus del grupo herpes, especialmente la coinfección con VEB, tras un trasplante de progenitores hematopoyéticos, para diseñar estrategias preventivas y de vigilancia eficaces (Anderson C. et al, 2020).

1.4 INFECCIÓN POR ADENOVIRUS

El Adenovirus humano (ADV) es un virus sin envuelta, perteneciente al género *Mastadenovirus* de la familia *Adenoviridae*. Los ADV engloban a más de 60 tipos diferentes clasificados en siete subgrupos (de la A la G) basadas en sus características biológicas, inmunológicas, bioquímicas y tropismo celular (Tabla 2).

Tabla 2. Subgrupos del Adenovirus humano.

Subgrupo ADV	Tropismo	Bibliografía
A/F/G	Gastrointestinal	Echavarría M. et al., 2008
B/C	Respiratorio	Metzgar D. et al., 2010
D	Conjuntivitis	Robinson C. et al., 2011
E	Respiratorio/Conjuntivitis	Cooper, R.J. et al., 2000

El genoma del ADV es una molécula de ADN de doble cadena lineal, con un tamaño de entre 34 a 37 kb y que porta unos 40 genes. Flanqueando ambos extremos del genoma se encuentran las repeticiones terminales invertidas (ITRs) que actúan como origen de replicación junto con la secuencia de empaquetamiento (Ψ). La organización del genoma es similar en los distintos tipos de ADV, pudiendo dividirlo en tres regiones: temprana (E1A, E1B, E2, E3, E4),

intermedia (IX e IVa2) y tardía (L1-L5). Cada una de estas regiones se corresponde con los distintos patrones/etapas de expresión durante el ciclo de infección del virus (Figura 6).

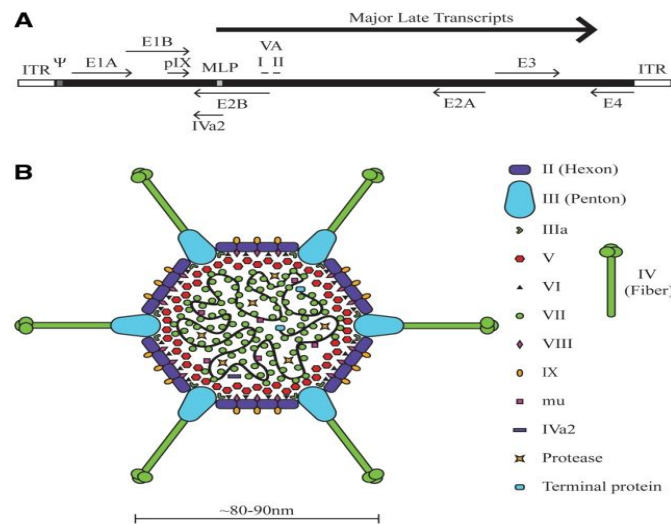


Figura 6. Esquema del genoma y el virión del adenovirus. (A) Mapa simplificado del genoma del HAdV5. (B) Modelo del virión HAdV5, (adaptado de Russell W. et al., 2009, con modificaciones basadas en datos adicionales adaptadas de Reddy V. et al., 2010; Liu H. et al., 2010 y Christensen JB. Et al.,2008).

El ciclo de replicación viral se divide, por convención, en una fase temprana y en una tardía, separadas por el inicio de la replicación del DNA viral. La fase temprana tiene la función general de establecer las condiciones óptimas dentro de la célula para la replicación y expresión eficiente del genoma viral. La fase tardía comienza con el inicio de la replicación del DNA viral. Durante esta fase se expresan los genes virales tardíos y se ensambla la progenie viral.

1.4.1 Epidemiología, patogenicidad y aspectos clínicos del ADV en el TPH

Los Adenovirus (ADV) causan enfermedades respiratorias, oculares (faríngeoconjuntival, queratoconjuntivitis) y gastrointestinales, como se comentaba anteriormente. Estos virus pueden establecer infecciones asintomáticas de por vida en los tejidos linfopiteliales (latencia). En los pacientes trasplantados la infección por ADV se asocia con primoinfección en niños y normalmente con reactivación en adultos y la evolución puede llevar a infecciones severas o diseminadas. (Taniguchi K et al., 2012).

La mayoría de los estudios retrospectivos han documentado el inicio de la enfermedad por ADV durante los primeros 100 días después del trasplante con una media que oscila entre 30 y los 90 días asociada a una alta mortalidad en la mayoría de los casos. Los datos disponibles sugieren que las infecciones por ADV son más frecuentes en los receptores de trasplante de células madre alogénicas (8% - 30%), en comparación con los que reciben injertos autólogos (2%- 12%) (Sive J.I., et al. 2012).

En los receptores de TPH, el ADV se asocia comúnmente con infección del tracto respiratorio superior o inferior, enfermedad gastrointestinal, hepatitis o cistitis hemorrágica. La enfermedad puede simular la EICR, con aparición de fiebre, diarrea, hepatitis y erupción cutánea (Taniguchi K et al., 2012).

Se consideran factores de riesgo y se asocian con una mayor mortalidad la linfopenia aguda, la depleción de células T, la EICR aguda, el aislamiento de ADN de ADV en más de una localización y las altas cargas virales (Lynch J.P. et al., 2016).

Como ocurre con el CMV, y según las guías europeas si se detecta viremia en pacientes de alto riesgo, podría estar indicado el tratamiento anticipado y la monitorización semanal de la viremia cuantitativa y prolongarse en función del grado de reconstitución inmune (Matthes-Martin S. et al., 2012).

Los antivirales indicados para el tratamiento anticipado son el ganciclovir (intravenoso y/o oral) y como alternativa oral el valganciclovir. Si estos tratamientos no resultan efectivos o presentan una mielotoxicidad inaceptable, se utilizan de forma intravenosa el foscarnet o el cidofovir.

- El ganciclovir, un análogo de nucleósido, es actualmente el fármaco de elección para tratar infecciones por CMV, se administra por vía intravenosa y se activa a ganciclovir-trifosfato tras la fosforilación por pUL97 y las quinasas celulares en células infectadas por CMV. Ganciclovir-trifosfato es un potente inhibidor de la enzima CMV polimerasa; inhibe competitivamente la incorporación de desoxiguanosina trifosfato, que produce ADN viral y ralentiza la replicación del ADN viral al incorporarse al final del ADN viral dilatado.
- El valganciclovir es un valina éster de ganciclovir, se hidroliza tras la administración por una valina esterasa de la mucosa intestinal humana, y luego ingresa a la circulación sistémica como ganciclovir. Tiene sobre un 60% de biodisponibilidad, que es 10 veces mayor que el ganciclovir oral, con el mismo mecanismo de acción y perfil de toxicidad.
- Foscarnet es un análogo de pirofosfato orgánico que inhibe reversiblemente pUL54 al bloquear el sitio de unión del pirofosfato sin incorporación en el ADN viral que se alarga.
- Por otra parte el cidofovir es un análogo nucleotídico de la citosina con potente actividad contra el CMV. Después de la fosforilación por cinasas celulares, cidofovir trifosfato inhibe pUL54, se incorpora al ADN viral y altera la elongación adicional.

Aunque puede producirse el aclaramiento espontáneo de la viremia, valores crecientes se relacionan con la aparición de enfermedad invasiva y algunos centros realizan vigilancia de la replicación de ADV en receptores de alo-TPH pediátricos. Si se detecta viremia, estaría indicada la monitorización de enfermedad de órgano, para lo que se tomarían muestras de las localizaciones más frecuentes, heces, esputo y muestras de biopsia.

De acuerdo con diversos estudios, cuando se detectaba viremia tanto persistente como en forma de *blips* al inicio del seguimiento, (en el post-TPH inmediato), esta podía surgir de la reactivación del virus debido a la pérdida de la respuesta inmune o a través del injerto y estos datos podrían respaldar la implementación de un cribado para ADV previo al trasplante como ya han sugerido otros autores (Kosulin K. et al., 2019; Piatti G. et al., 2016).

1.5. INFECCIÓN POR VIRUS DE LA FAMILIA HERPESVIRIDAE EN EL TPH

1.5.1 Virus Herpes Simplex tipo 1 y tipo 2 y el Virus Varicela Zóster

El virus Herpes Simplex tipo 1 (VHS1) y tipo 2 (VHS2), así como el virus Varicela Zóster (VVZ) pertenecen a la familia de los *Alfaherpesvirus*. Al igual que el CMV y el VEB son virus envueltos con genoma de ADN de doble cadena lineal.

Las tasas de seroprevalencia para VHS varían entre las diferentes poblaciones, oscilando entre el 60 y el 80% para el VHS1, y del 10-15% para el VHS2 y en el VVZ en torno entre el 17-50%. (Marr K. et al., 2012).

Las manifestaciones clínicas suelen producir una infección mucocutánea en la zona labial y orofaríngea, y en el área genital, asociadas generalmente con VHS1 y VHS2, respectivamente. También puede producir una infección ocular que afecta a la córnea y a la conjuntiva conocida como queratitis herpética. Además, puede provocar herpes neonatal, hepatitis fulminantes en ausencia de lesiones cutáneas y en casos graves producir infección en el sistema nervioso central como la encefalitis, produciendo convulsiones múltiples que aparecen esporádicamente y la meningitis viral, que generalmente es más frecuente por la infección VHS2. En pacientes con un sistema inmune comprometido puede cursar una afección muy grave con alta mortalidad (Pérez Z., 2020).

En los pacientes trasplantados, la mayoría de las infecciones por VHS y VVZ son originadas por reactivación de una infección latente, aunque se han descrito infecciones primarias transmitidas desde el injerto. En estos pacientes, la manifestación más frecuente causada por el VHS1 es la gingivoestomatitis, la esofagitis ha desaparecido prácticamente con el uso de la profilaxis y la neumonitis y encefalitis son raras. El VHS2 origina enfermedad genital o perianal y el VVZ además de la afectación superficial puede producir complicaciones viscerales como neumonitis, hepatitis y encefalitis.

La reactivación VHS1 y VHS2 puede producirse tanto precoz como tardíamente después del TPH, pero el riesgo real ha disminuido drásticamente por el uso de la profilaxis con aciclovir en los pacientes alo-TPH. (Marr K. et al., 2012).

En receptores de TPH, la EICR aguda y crónica, los receptores HLA no idénticos y el trasplante autólogo por linfoma se han descrito como factores de riesgo de reactivación clínica de VVZ. Además, la EICR aguda y el desarrollo de varicela por infección primaria se han asociado a mayor riesgo de enfermedad diseminada en estos pacientes.

El VVZ produce una de las enfermedades víricas más comunes en los receptores post-TPH con una incidencia estimada entre el 17 y el 50% y causa una gran morbilidad tardía después del TPH, con riesgos tanto de reactivación dermatológica como de enfermedad diseminada. Puede producirse una enfermedad grave y potencialmente mortal, como hepatitis y meningoencefalitis, incluso en ausencia de lesiones cutáneas (Suzuki J. et al., 2012). Además, los TPH tienen un alto riesgo de complicaciones relacionadas con el VVZ, como la sobreinfección bacteriana, la cicatrización y la neuralgia postherpética (De S. et al., 2015).

Los primeros estudios demostraron que los receptores alogénicos de TSCU tienen un alto riesgo de reactivación del VVZ, especialmente en el trasplante tardío (a partir de 90 días) en el contexto de mayor riesgo si el paciente ha sido diagnosticado de EICR (Steer C. et al., 2000), aunque estudios más recientes sugieren que la profilaxis prolongada con aciclovir disminuye eficazmente la morbilidad relacionada con el VVZ (Boeckh M. et al., 2007; Erard V. et al., 2007).

1.5.2 Virus Herpes Humano tipo 6 y tipo 7 en el TPH

Los virus Herpes Humano tipo 6 (VHH6) y tipo 7 (VHH7), son miembros de la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Betaherpesvirinae*. Los dos virus son genéticamente próximos entre sí y al CMV. Son virus linfotropos que generalmente causan infección en los primeros años de vida y se detectan en todas las poblaciones humanas del mundo en más del 90% de la población adulta de los países desarrollados (Yamanishi K. et al., 2013).

El VHH6 tiene una particularidad y es que puede integrar completamente su genoma en el genoma de su huésped, por tanto, puede ser transmitido mediante aloTPH.

La primoinfección por VHH6 ocurre en general en la infancia y es casi siempre asintomática o poco sintomática. La infección suele aparecer antes de los 2 años de edad y los anticuerpos específicos perduran toda la vida. Parece que los linfocitos T son necesarios para mantener esta respuesta adaptativa de por vida. En los niños pequeños inmunocompetentes se relaciona sobre todo con el exantema súbito, que en ocasiones provoca crisis febriles con resolución espontánea. Aunque existen formas graves de encefalitis necrotizante aguda en

niños pequeños. Otras manifestaciones relacionadas con el VHH6 son el DIHS (síndrome de hipersensibilidad inducida por fármacos) y el DRESS (rash con eosinofilia y síntomas sistémicos inducido por fármacos).

En la población adulta la seroprevalencia de este virus es mayor del 90%, por lo que la reactivación tras un TPH es muy frecuente. Sin embargo, en niños la seroprevalencia y, por tanto, el riesgo de reactivación es menor y proporcional a la edad. En lo que respecta a los alo-TPH algunos de los síntomas clínicos asociados a las reactivaciones del VHH6 pueden considerarse inespecíficos, como fiebre, erupción cutánea y disminución transitoria del número de células sanguíneas circulantes pertenecientes a los linajes granulocito/macrófago, eritroide y megacariocítico. Por el contrario, la encefalitis límbica subaguda se reconoce actualmente como una enfermedad oportunista típica debida a la reactivación del VHH6. Los individuos que reciben un TPH y, sobre todo, un TPH alogénico corren un alto riesgo de desarrollar una reactivación en las primeras cuatro semanas tras la transferencia celular. Sin embargo, la encefalitis sólo se desarrolla en una pequeña proporción de los pacientes que experimentan una reactivación del VHH6 (Ogata M. et al., 2013). Se han descrito otras enfermedades asociadas a la reactivación del VHH6: la EICR, microangiopatía trombótica, reactivación del CMV, neumonitis y enfermedad gastrointestinal, aunque cabe destacar que, en estos casos, la relación causal es menos clara debido a los resultados contradictorios, la complejidad de las interacciones del VHH6 con el sistema inmunitario del huésped y la posible confusión con los efectos de otros patógenos concomitantes, como el CMV (Ogata M. et al., 2013).

La reactivación del VHH7 se observa con frecuencia en receptores de TPH, incluidos pacientes pediátricos, y suele ocurrir antes que para el VHH6, dentro de las primeras semanas post-TPH; en cambio, las enfermedades clínicas debidas directamente al VHH7 son menos frecuentes (Fule Robles J. et al., 2014).

En la actualidad no existe suficiente evidencia para recomendar la monitorización sistemática de VHH6 y VHH7 en pacientes asintomáticos, pese a reactivarse con frecuencia en el post-TPH. Es necesario definir el estado de la infección por el VHH6 y determinar la carga viral y su cuantificación en sangre periférica para determinar la posible relación con los síntomas clínicos presentados por el paciente. Por último, hay que valorar el tratamiento de la infección con fármacos antivirales activos contra VHH6 y por ello también hacer una monitorización de la carga viral al inicio del mismo y durante el proceso.

Varios estudios en receptores de trasplantes han demostrado que la coinfección por VHH6 y CMV es frecuente y modula la expresión de la enfermedad debida a cualquiera de los dos virus (Quintela A. et al., 2016).

1.5.3 Virus Herpes Humano tipo 8

El Virus Herpes Humano tipo 8 (VHH8) pertenece a la subfamilia *Gammaherpesvirus* y es conocido por ser el agente etiológico del sarcoma de Kaposi (SK), linfoma de cavidades y la enfermedad de Castleman (Pozo F. et al., 2000). A diferencia de otros herpesvirus, la infección no es ubicua. Presenta tasas de seroprevalencia que oscilan, dependiendo de las regiones geográficas, entre el 0 y el 5% en Norteamérica, el 5 y el 20% en el área Mediterránea y más del 50% en regiones de África. El riesgo de reactivación y de infección primaria después del trasplante dependerá, por tanto, de la seroprevalencia del virus en la región. La seropositividad previa al trasplante, así como la infección primaria adquirida a través del donante, incrementan el riesgo de SK. Además, la intensidad de la inmunosupresión y el empleo de productos antilinfocitarios pueden desempeñar un papel importante en la patogenicidad del VHH8. La realización de técnicas de PCR constituye una opción atractiva para monitorizar la carga viral del VHH8, sobre todo si tenemos en cuenta que las concentraciones de VHH8 en linfocitos de sangre periférica se han asociado con el desarrollo de SK.

1.6. INFECCIONES POR POLIOMAVIRUS BK Y JC EN EL TPH

El virus BK (BK) y el virus John Cunningham (JC) familia *Polyomaviridae*, género *Polyomavirus*. Son virus desnudos de 45 nm de diámetro, que poseen una cápside de simetría icosaédrica. Su genoma está compuesto por ADN de doble hebra circular, aproximadamente de 5.000 pares de bases, asociado a histonas. Los genomas de BK y de JC comparten una identidad de 70-72% (Luo C. et al., 2008). (Figura 7)

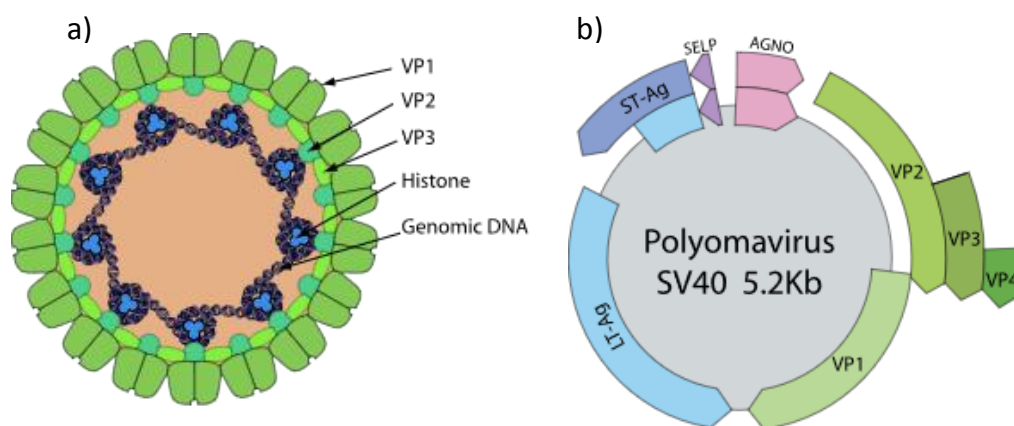


Figura 7. a) *Polyomaviridae* (virión). Cápside no envuelta con simetría icosaédrica de unos 50 nm de diámetro. b) Genoma: ADN circular de unos 5 kb de tamaño, asociado a histonas celulares en un complejo similar a la cromatina. Adaptado de ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics.

Desde el punto de vista epidemiológico, BK y JC se encuentran ampliamente diseminados entre la población mundial, observándose que a la edad de 10 años hasta 90% de la población seroconvierte para BK y entre 50-60% para JC (Martinez M. et al., 2016).

El virus JC es neurotrófico y está asociado a la leucoencefalopatía multifocal progresiva, mientras que el virus BK es causa de cistitis hemorrágica (Dropulic L. et al., 2008). La reactivación del virus suele suceder en estados de inmunosupresión y se manifiesta como cistitis hemorrágica, estenosis ureteral, nefritis tubulointersticial, retinitis, encefalitis y neumonía. La encefalitis y la meningitis por virus BK son muy poco frecuentes, y la mayoría suceden en pacientes infectados por VIH y en pacientes trasplantados.

Dado que el virus BK está presente en la población adulta como virus latente en el uroepitelio, se ha cuestionado cómo diagnosticar y prevenir eficazmente la enfermedad hemorrágica. La EICR presenta un riesgo de cistitis hemorrágica asociada al virus BK. El daño al uroepitelio relacionado con el acondicionamiento permite la replicación viral, que impulsa un ciclo que se vuelve incontrolado y exacerbado por la reconstitución inmunitaria y la alorreactividad (Leung A. et al., 2001). En diversos estudios retrospectivos de alo-TPH la viruria por BK se asoció significativamente con una pérdida de la función renal y una peor supervivencia general (Abudayyeh A. et al., 2016; Gilis L. et al., 2014).

Ambos polyomavirus establecen infecciones asintomáticas persistentes con reactivaciones en el tracto urinario, que se asocian con la cistitis hemorrágica de comienzo tardío en los TPH, siendo muy frecuente en los TPH infantiles, pero también en adultos (White M. et al., 2013).

El mecanismo patogénico aún no está claro si es debido a una reactivación del virus o son episodios de infección por el estado de inmunodepresión de los pacientes. Los factores de riesgo más importantes son la EICR y el régimen de acondicionamiento al que son sometidos los pacientes para el trasplante (Dropulic L. et al., 2008).

Aunque los TPH con cistitis hemorrágica presentan con frecuencia viruria mensurable e incluso viremia antes de la cistitis activa, no se han desarrollado estrategias de prevención definitivas en ensayos terapéuticos .

La viruria por JC y la cistitis asociada al TPH es poco frecuente. Pero sin embargo, el JC sigue siendo un patógeno importante ya es el agente causal de una grave enfermedad, la leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP) y se encuentra de manera cada vez más habitual en los pacientes trasplantados. La reactivación del virus JC lleva a un cuadro desmielinizante y a veces fatal que caracteriza a la LMP siendo el factor de riesgo más importante el grado de inmunodepresión (White M. et al., 2013).

1.7 PARVOVIRUS B-19 EN EL TPH

Los Parvovirus (PVB19) son virus pequeños, no envueltos, de una sola cadena de ADN. De los dos que infectan al hombre, sólo el B19 es patógeno y la seroprevalencia en adultos oscila entre el 60% y el 90% (Ki C. et al., 2005).

El genoma del virus sólo contiene una molécula de ADN positiva y negativa que son almacenadas por separado en los viriones. Por lo menos dos proteínas estructurales y otra no estructural son codificadas por entramados de lectura superpuestos en el genoma de cadena positiva. El virus se replica en células con actividad mitótica y prefiere la serie eritroide, Los estudios en voluntarios sugieren que el virus se multiplica primero en el tracto respiratorio alto y después se disemina mediante viremia hasta la médula ósea y otros lugares, donde se replica y mata o inhibe el crecimiento de las células precursoras eritroides. (Figura 8)

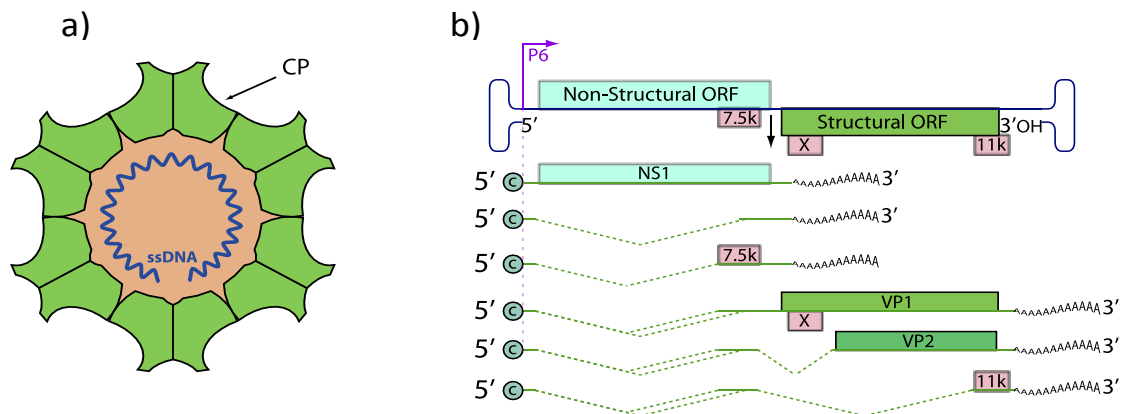


Figura 8. a) Parvoviridae (virión). Cápside no envuelta con simetría icosaédrica de 18-26 nm de diámetro. La cápside consta de 60 copias de proteína CP. b) Genoma lineal de ssADN de entre 4 y 6 kb de tamaño. El genoma se replica a través del mecanismo de la horquilla enrollable. Adaptado de ViralZone, SIB Swiss Institute of Bioinformatics.

Clásicamente, la infección primaria se produce con mayor frecuencia en niños y se manifiesta como eritema infeccioso. En adultos, la infección primaria por PVB19 puede manifestarse como artropatía, y la infección durante el embarazo puede provocar hidropesía fetal. La infección por parvovirus B19 en un huésped normal puede curarse sin síntomas apreciables o producir fiebre y una sintomatología inespecífica, como faringitis, malestar general y mialgia, con disminución ligera de los niveles de hemoglobina, todo ello seguido por un exantema dos o tres semanas más tarde. El parvovirus B19 es propenso a infectar las células progenitoras eritroides y provoca anemia grave en individuos con trastornos hemolíticos.

El PVB19 puede causar complicación grave tras el trasplante. La manifestación clínica predominante es la anemia, aunque pueden observarse manifestaciones invasivas de órganos,

como hepatitis, miocarditis y neumonitis. La infección crónica o persistente en el TPH se ha descrito como causa de anemia aplásica (Eid A. et al., 2006).

En receptores de TPH, la anemia asociada a parvovirus B19 es un hecho infrecuente probablemente por el efecto profiláctico de la inmunoglobulina intravenosa que es administrada en muchos de estos pacientes. El diagnóstico puede realizarse mediante técnicas de PCR en sangre periférica. En los casos en los que exista alta sospecha de enfermedad por parvovirus B19 en los que el resultado de la PCR haya sido negativo, el diagnóstico puede confirmarse mediante estudio tanto por PCR como histológico de la médula ósea.

Para el tratamiento de la enfermedad por parvovirus B19 no existen en la actualidad fármacos antivirales disponibles, por lo que se aconseja si es posible la reducción en la inmunosupresión. (Shimmura H. et al., 2000).

En estos pacientes la incidencia de infección por PVB19 es baja, a pesar de que el virus persiste en los tejidos de los individuos seropositivos, y que, por tanto, podría transmitirse potencialmente a través del injerto o de productos sanguíneos trasfundidos al receptor (Eid A. et al., 2006).

1.8 SARS-COV-2 EN EL TPH

Los coronavirus son virus de ARN de cadena positiva envueltos, SARS-CoV-2 parte del género β -coronavirus que contiene SARS-CoV-1 y MERS-CoV (los virus causantes de los brotes de SARS de 2003 y MERS de 2012, respectivamente).

La secuencia genética del SARS-CoV-2 reveló que comparte el 79% de la identidad de secuencia con el SARS-CoV-1 (Ruiz-Bravo A. et al., 2020).

Como todos los coronavirus, la partícula viral del SARS-CoV-2 está compuesta de proteínas, ácidos nucleicos y lípidos que se ensamblan dentro de las células huésped (Wang M. et al., 2020). La envoltura viral se deriva de la membrana del retículo endoplásmico y contiene proteínas estructurales de membrana (M), espiga (S) envoltura (E), y nucleocápside (N) (Figura 8). La proteína M es la proteína de envoltura más abundante en los coronavirus y es un componente estructural crítico que facilita la gemación y define la forma de la partícula viral (Ujike M. et al., 2015) y se considera el organizador central de la envoltura viral, ya que contacta y coordina todas las demás proteínas estructurales (E, S y N). Las tres proteínas estructurales (M, S y E) definen la envuelta viral que encapsula un genoma viral de ~30 kb.

El genoma del SARS-CoV-2 está compuesto de ARN monocatenario de sentido positivo (ARNmc) que se asocia con cientos de copias de la cuarta y última proteína estructural, la proteína N (Figura 9).

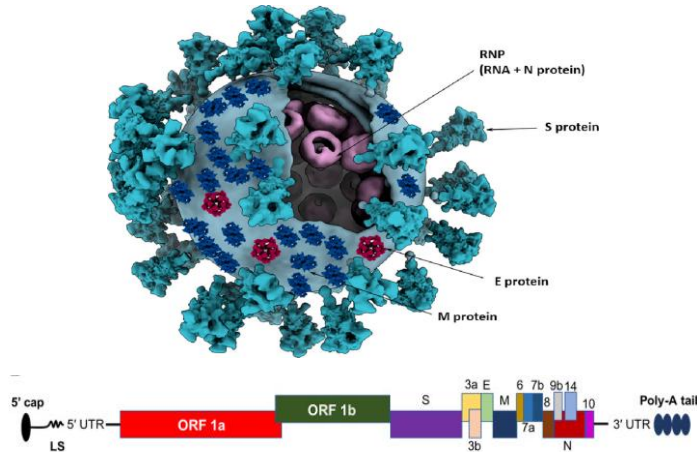


Figura 9. Modelo tridimensional de una partícula de coronavirus. Se muestran las proteínas estructurales de membrana (M), espiga (S), envoltura (E) y nucleocápside (N). (Adaptado de Yao H. et al., 2020) y estructura del genoma (Adaptado de Naqvi. Et al., 2020 y Zhang Y. et al., 2020).

La OMS caracterizó la infección por SARS-CoV-2 como la enfermedad COVID-19 y declaró una pandemia el 11 de marzo de 2020. En la Figura 8 observamos la cronología de la pandemia de COVID-19 entre enero del 2020 y marzo del 2022. (James W. et al., 2022).

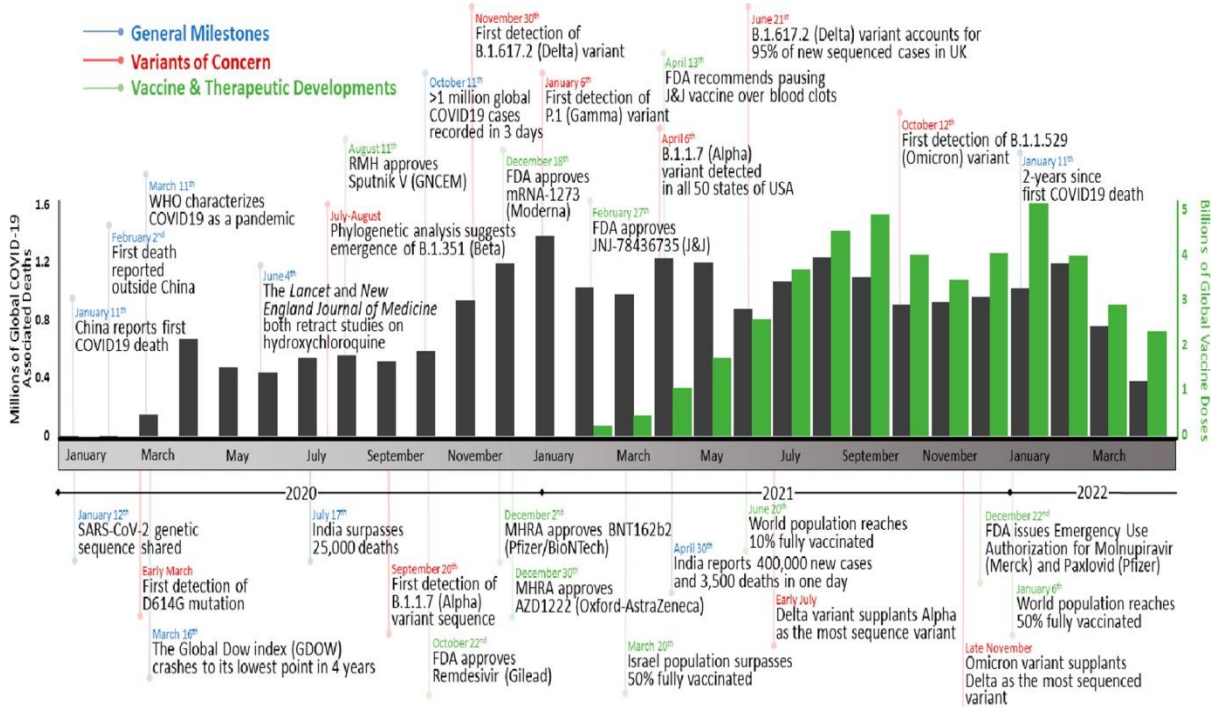


Figura 10. Cronología de la pandemia de COVID-19 . Los eventos se dividen en generales (azul), variantes preocupantes (rojo) y desarrollos terapéuticos y de vacunas (verde). El número de muertes globales asociadas a COVID-19 (gris) y las dosis de vacunas administradas (verde) por mes en el transcurso de la pandemia de COVID-19(Adaptado de James W. et al., 2022).

Los factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad son numerosos, como edad, sexo, enfermedades vasculares, entre otras. Además, el abanico de cuadros clínicos que

pueden presentar es muy amplio, pudiendo ir desde una infección asintomática a cuadros clínicos graves. Se ha estimado que el periodo de incubación promedio de la enfermedad varia de 4 a 5 días y que los síntomas, si es que los hay, se presentan a los 10-12 días (Santos-Fuentes, J. et al., 2023).

La linfopenia en el transcurso de la COVID-19 es un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones graves, como el síndrome de distrés respiratorio agudo. Los pacientes sometidos a TPH pueden presentar linfopenia o alteración de la función linfocitaria hasta aproximadamente un año tras el TPH, Además presentan mayor riesgo de desarrollar microangiopatía trombótica y se ha descrito también que el virus SARS-CoV2 puede formar microtrombos debido a la afectación del endotelio vascular. Por tanto, en el TPH el haber sufrido microangiopatía trombótica podría aumentar el riesgo de complicaciones graves si sufren infección por SARS-CoV-2 (Sáenz M. et al., 2022).

Además, las infecciones respiratorias en el TPH se caracterizan por cuadros clínicos más graves, con excreción viral más prolongada, tasas más altas de progresión del tracto respiratorio superior al inferior y mortalidad (Corman, V. M et al., 2020). Por ello, es esperable que el SARS-CoV-2 pueda ser particularmente severo en aquellos que hayan recibido un trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénicos (García-Suárez J. et al., 2020). La inmunosupresión relacionada con el trasplante junto con riesgo de contraer un SARS-CoV-2 grave llevó a modificar las recomendaciones terapéuticas y, en muchos casos, a posponer el trasplante (Ljungman P. et al., 2020). En el postrasplante inmediato, se debe considerar la administración precoz de los antivirales o anticuerpos monoclonales frente a SARS-CoV-2 indicados para reducir el riesgo de progresión a enfermedad grave así como la determinación y vigilancia epidemiológica de las variantes infectantes para tal fin (Santos-Fuentes, J. et al., 2023).

“Voy buscando lo que quiero, averiguando a mi manera...”

El camino de las utopías

2. OBJETIVOS

El TPH ha supuesto un gran avance reciente para pacientes con problemas hematológicos, sin embargo, existen numerosas complicaciones infecciosas sobre todo en los alo-TPH.

La toxicidad asociada con el régimen de acondicionamiento, las infecciones, la enfermedad de injerto contra receptor y la recaída de la enfermedad básica son las principales causas que provocan una situación de inmunosupresión con una importante alteración de la inmunidad celular que permite la replicación y diseminación de los virus, especialmente de aquellos virus latentes. Su alta prevalencia y la circulación de nuevos virus implican nuevos retos en el manejo de estos pacientes.

El Citomegalovirus en los alo-TPH constituye, sin duda, la infección oportunista más representativa. Por eso, todos los esfuerzos están encaminados a prevenir el desarrollo de la enfermedad. La infección por el virus Epstein Barr en el alo-TPH puede conducir a una única pero grave complicación postrasplante, el síndrome linfoproliferativo postrasplante, que una vez establecido, presenta una alta mortalidad. La estrategia de elección, al igual que en el CMV es la terapia anticipada. Aunque el CMV y el VEB siguen siendo los principales virus en receptores de un alo-TPH, la importancia clínica de otros virus puede ser trascendental y su conocimiento puede ser esencial para el correcto manejo y tratamiento del paciente.

En el Hospital Universitario Central de Asturias desde el año 2011, se realiza un protocolo de seguimiento clínico-virológico en los TPH, centrado en la infección por CMV y VEB, pero en continua revisión teniendo en cuenta los aspectos anteriores. Así pues, en el presente trabajo, se plantearon los siguientes objetivos:

1. Analizar la replicación viral, los marcadores y la evolución de la infección por Citomegalovirus y virus Epstein Barr en pacientes trasplantados de progenitores hematopoyéticos alogénicos durante 10 años.
2. Estudiar la infección y la evolución de otros virus de importancia clínica: Adenovirus, virus BK, virus JC, virus Herpes Humano tipo 6, virus Herpes Humano tipo 7, virus Herpes Humano tipo 8, parvovirus B19, virus Herpes Simple tipo 1, virus Herpes Simple tipo 2 y virus Varicela Zóster.
3. Evaluar la replicación de los virus anteriormente mencionados en un seguimiento protocolizado.
4. Examinar la incidencia del SARS-CoV-2 durante la pandemia en los TPH.

“Se rompió la cadena que ataba el reloj a las horas...”

Dulce introducción al caos

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 PACIENTES Y MUESTRAS

Para contestar a los objetivos planteados en esta tesis se llevaron a cabo dos tipos de estudio. En el primero se incluyeron muestras de sangre de pacientes TPH alogénicos entre enero del 2011 y agosto del 2019.

En el segundo estudio de virus latentes frecuentes en este proceso, se incluyeron muestras de exudados faríngeos de TPH en trasplantados entre 2011 y 2022 y de pacientes hematológicos en los que se había realizado un control de SARS-CoV-2.

Para llevar a cabo los objetivos planteados en este trabajo, se estudiaron dos grupos de pacientes: estudio primero, donde se incluyeron los pacientes que recibieron un trasplante de Progenitores hematopoyéticos alogénicos (alo-TPH) entre Enero del 2011 y Julio del 2019, con el fin de valorar la importancia de la infección por virus latentes; estudio segundo, en el que se incluyeron pacientes trasplantados entre Enero del 2011 y Septiembre del 2019 con el fin de valorar la replicación del SARS-CoV-2. Ambos grupos se describen a continuación.

3.1.1. Estudio primero: Viremias en TPH

Entre el 1 de enero del 2011 y 1 de agosto del 2019 se recibieron en la sección de Virología del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) un total de 16.786 muestras de sangre completa con EDTA para el diagnóstico y seguimiento de viremias post-TPH. Se seleccionaron pacientes que tuvieran al menos 4 meses de seguimiento post-TPH y un mínimo de 6 muestras en fechas dentro de los 100 primeros días. En total, se seleccionaron y procesaron 7.168 muestras de sangre completa pertenecientes a 208 pacientes ($35,3 \pm 14$ muestras por paciente, rango 8-77), de edad 45 ± 17 (rango 1-69) años. De estos 121 (58,17%) eran hombres, con una edad media de $44,3 \pm 18$ (rango 2-69) años, y 87 (41,82%) mujeres con una edad media de $46,6 \pm 16,1$ (rango 1-66) años. El seguimiento medio fue de $278 \pm 100,9$ días post trasplante (rango 53-364). En el caso de las mujeres el seguimiento fue de 274 ± 99 días (rango 53-364) y $281,7 \pm 102$ días en el caso de los hombres (rango 56-364).

Estos 208 pacientes supusieron el 71,23% de los 292 alo-TPH realizados en Asturias en este período de tiempo.

En este grupo se monitorizó y analizó el CMV y VEB, de manera protocolizada y otros virus latentes (ADV, BK, JC, PVB19, VHH6, VHH7, VHH8, VHS1, VHS2 y VVZ), en función de la sintomatología y la sospecha clínica.

Dado que el manejo y el diagnóstico de las infecciones post-TPH ha ido evolucionando con los años, se decidió establecer tres temporadas de estudio:

- Temporada 1 (T1-11/13): de 1 enero del 2011 a 31 diciembre del 2013.
- Temporada 2 (T2-14/16): de 1 enero del 2014 a 31 diciembre del 2016.
- Temporada 3 (T3-17/19): de 1 enero del 2017 a 24 de Julio del 2019.

La distribución de los pacientes según la edad y la temporada se refleja en la Tabla 3 y Figura 11.

Tabla 3. Distribución de pacientes según edad y temporada de estudio. Entre paréntesis se refleja el %.

Temporada	<15 años	15-59 años	>59 años	Total
T1/2011-2013 (%) n=72	11 (15,27)	50 (69,45)	11 (15,27)	72 (34,61)
T2/2014-2016 (%) n=58	4 (6,89)	43 (74,14)	11 (18,96)	58 (27,88)
T3/2017-2019 (%) n=78	4 (5,13)	53 (67,95)	21(26,92)	78 (37,5)
Total	19 (9,13)	146 (70,19)	43 (20,67)	208

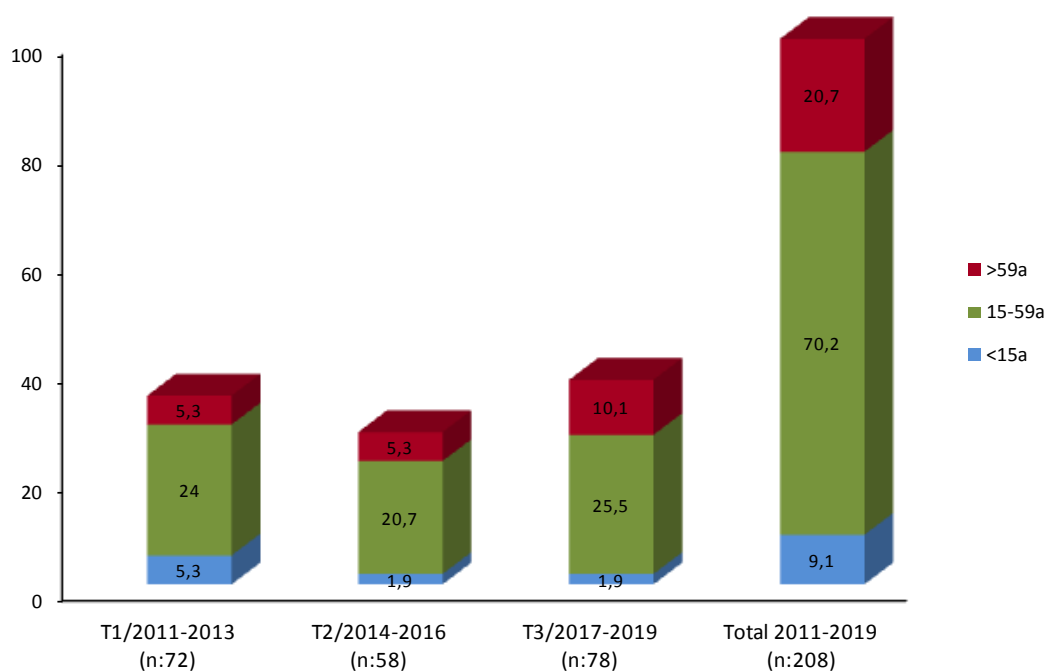


Figura 11. Distribución de los pacientes según la edad y realización del TPH.

Dentro de este grupo primero se seleccionaron 120 pacientes (entre febrero de 2011 y octubre de 2016) que tuvieron un seguimiento de al menos 4 meses y una muestra por mes, recogíéndolas hasta los 6 meses post-TPH. En estas muestras se pretendía llevar a cabo un seguimiento de infecciones por virus no seguidos de manera habitual y mencionados anteriormente: ADV, BK, JC, PVB19, VHH6,VHH7, VVHH8, VHS1,VHS2 y VVZ, además del CMV y el VEB.

Finalmente , se procesaron 582 muestras de 97 pacientes, que cumplían los requisitos establecidos, con una media de muestras por paciente de $5,7\pm 0,7$ (rango 4-7).

Los pacientes tenían una edad media de $43,07\pm 19$ (rango 1-66) años, de los que 59 eran hombres de $41\pm 20,50$ (rango 2-66) años y 38 eran mujeres de $45,7\pm 17$ (rango 1-64) años (Tabla 4).

Tabla 4. Características de los 97 pacientes alo-TPH seleccionados para el estudio de otras infecciones virales protocolizadas.

	Pacientes	Edad	nº muestras	1ª positiva (días post-TPH)
Hombres	59 (60,8)	41±20,5 (2-66)	5,7±0,6 (4-7)	28,7±4,5 (15-40)
Mujeres	38 (39,2)	45,7±17 (1-64)	5,7±0,6 (4-7)	27,3±6,2 (15-39)
Total	97 (46,6)	43,1±19 (1-66)	5,7±0,7 (4-7)	28,1±4 (15-40)

nº: número, TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

3.1.2. Estudio segundo: Infección por SARS-CoV-2 en TPH y pacientes hematológicos

Entre el 1 marzo del 2020 al 31 diciembre del 2022 se recibieron 4.166 exudados nasofaríngeos de pacientes con diagnósticos de enfermedades hematológicas en la sección de Virología del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias, para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2. Todas ellas fueron recogidas en un medio de transporte de virus (Viral Pack; Biomedics S.L.®, Madrid) y mantenidas a 4°C hasta su procesamiento antes de 5 horas. Las muestras pertenecían a 817 pacientes (459 hombres y 358 mujeres), que presentaron 2.963 episodios, con una media de edad de $55,56\pm 45,44$ (rango 2-101) años.

Los pacientes se clasificaron en tres subgrupos de estudio:

- **Grupo TPH-COVID:** Se estudiaron 99 pacientes (57 hombres y 42 mujeres) de $51,9\pm 16,7$ (rango 55-74) años (trasplante entre 04/09/2019 y el 17/11/2022), de los que se procesaron 416 muestras, con una media de $4,2\pm 3,20$ (rango 1-10) muestras por paciente.

- **Grupo TPH-PRECOVID:** Se estudiaron 216 pacientes (124 hombres y 92 mujeres) de $55,9 \pm 13,4$ (rango 8-75) años (trasplante entre 07/01/2011 y el 31/07/2019), de los que se procesaron 1525 muestras, con una media de $7 \pm 6,10$ (rango 1-37) muestras por paciente.
- **Grupo CONTROL:** Se estudiaron 502 pacientes con enfermedades hematológicas (278 hombres y 224 mujeres) de $56,3 \pm 21,7$ (rango 2-101) años de los que se procesaron 2.205 muestras, con una media de $4,39 \pm 4,08$ (rango 1-27) muestras por paciente .

Las muestras procedentes de un mismo paciente recibidas con más de un mes de diferencia se consideraron procesos distintos se contabilizaron como si fuesen pacientes diferentes. La distribución según los grupos establecidos y según el mes y año en el que se recibieron las muestras, se muestra en la Tabla 5 y las Figuras 12 y 13.

Tabla 5. Distribución de pacientes según grupo establecido y temporada (2020/2021/2022).

		TPH-COVID	TPH-PRECOVID	CONTROL	TOTAL
Edad	<15a	3 (3,03)	3 (1,39)	35 (6,97)	41 (5,02)
	15-39a	19 (19,19)	24 (11,16)	71 (14,14)	114 (13,97)
	40-64a	37 (37,37)	93 (43,26)	121 (24,10)	251 (30,76)
	>65a	40 (40,40)	95 (44,19)	275 (54,78)	410 (50,24)
Temporada 2020/2021/2022	ene	0/13/21	0/41/41	0/64/65	0/118/127
	feb	0/13/12	0/41/44	0/58/63	0/112/119
	mar	4/14/11	3/38/40	14/55/72	21/107/123
	abr	4/13/14	17/35/32	36/53/59	57/101/105
	may	0/20/17	20/34/29	28/42/68	48/96/114
	jun	1/18/16	30/39/30	34/54/54	65/111/100
	jul	42585	27/37/28	23/47/39	53/92/76
	ago	4/13/9	20/27/24	23/54/35	47/94/68
	sep	38295	20/31/16	23/46/28	74/88/48
	oct	3/16/7	23/45/13	40/47/28	66/108/48
	nov	11/13/2	36/47/13	64/63/30	111/123/45
	dic	12/14/4	34/45/13	74/65/37	120/124/54
Total		338	1014	1611	2963

TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos

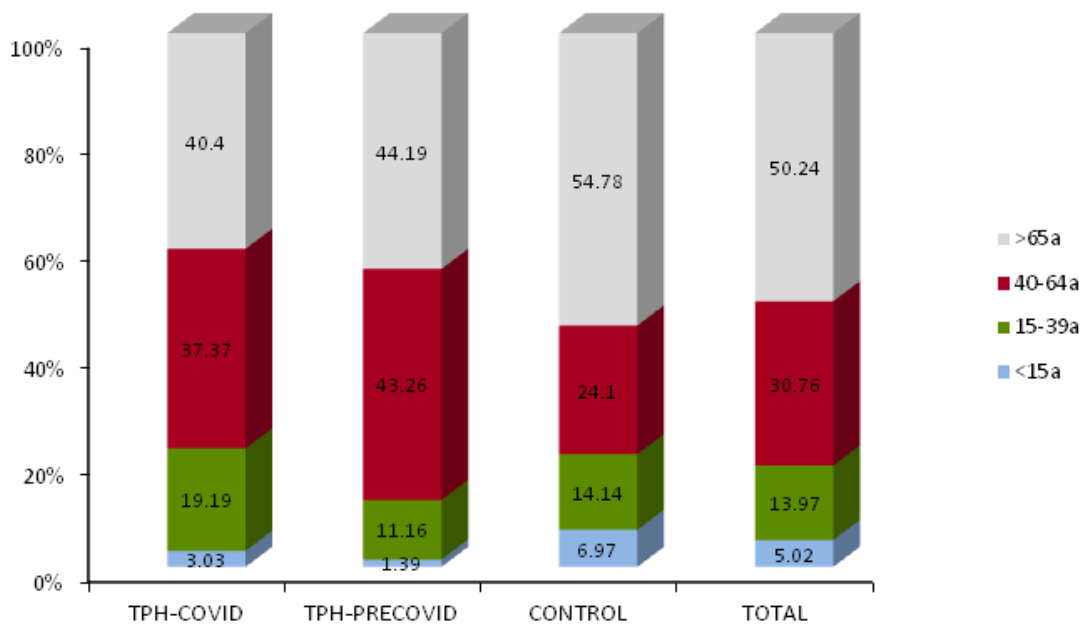


Figura 12. Distribución de los pacientes según grupo establecido y edad.

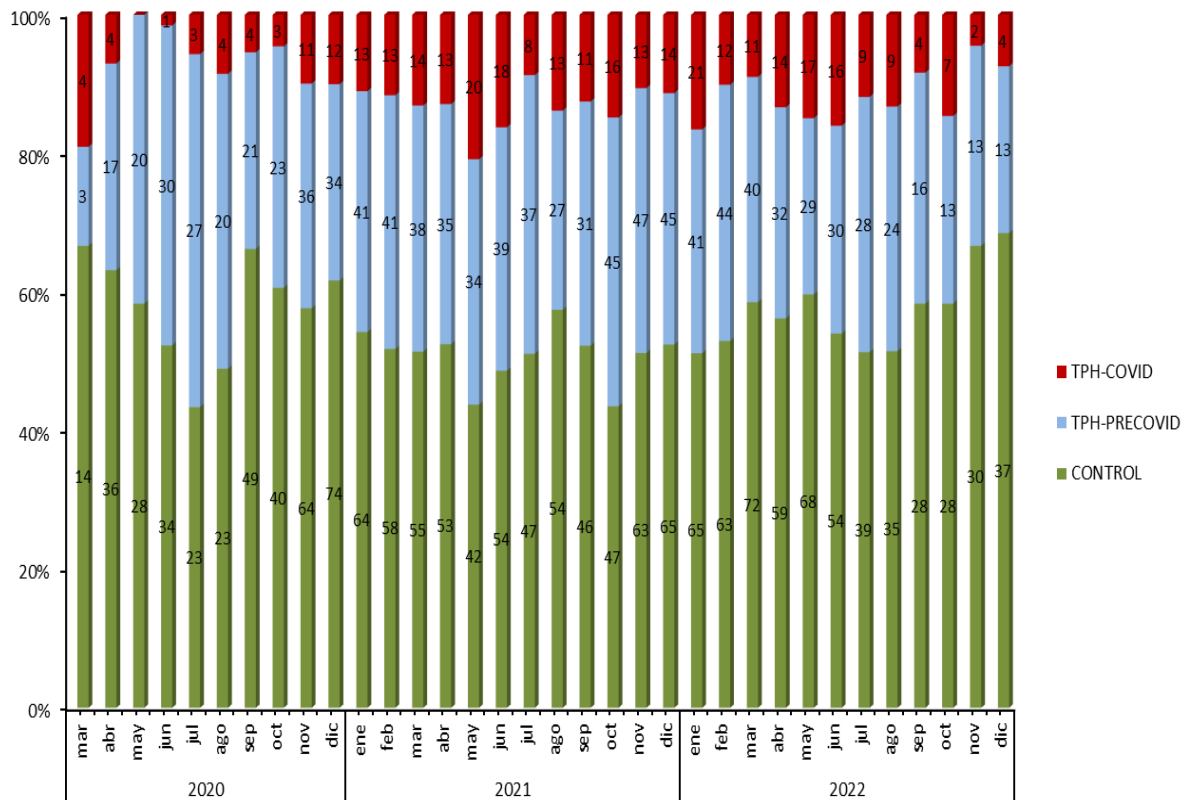


Figura 13. Distribución de pacientes según las muestras recibidas y la tasa de cada grupo .

3.1.3. Muestras respiratorias para evaluar la sensibilidad del genoma

De las muestras procesadas en la Unidad de Virología del Hospital Universitario Central de Asturias durante dos meses (abril-mayo, 2015) se estudiaron 67 exudados (42 nasofaríngeos y 25 faríngeos) recogidos en un medio de transporte de virus.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Seguimiento Clínico-Viroológico de virus latentes

Todos los pacientes sometidos a un trasplante de progenitores hematopoyéticos incluidos en el estudio tuvieron el mismo seguimiento clínico y virológico, establecido según el Protocolo de hospitalización del Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Central de Asturias. El protocolo pretende manejar el paciente en las viremias y posibles complicaciones clínicas como son la mucositis, neutropenia febril, el Síndrome de obstrucción sinusoidal hepático (SOS), la cistitis hemorrágica (tóxica debido al acondicionamiento o vírica por poliomavirus BK, JC o Adenovirus serotipo 11), Síndrome del implante y la Enfermedad injerto contra receptor aguda (EICR).

Protocolo de monitorización de CMV/VEB y otros virus latentes

Los pacientes trasplantados a estudio tuvieron el mismo seguimiento durante los cuatro primeros meses postrasplante. El protocolo de hospitalización del Servicio de Hematología y Hemoterapia del HUCA incluye la monitorización de la replicación viral mediante detección y cuantificación genómica bisemanal, durante ingreso para el CMV y el VEB. Además, en menores de edad se realiza un control de replicación viral del VHH6 y ADV. En el resto de los pacientes, los otros virus (BK, JC, PVB19, VHS, VVZ) se siguen ante la presencia de clínica compatible.

Los virus respiratorios, son monitorizados previamente al ingreso del paciente mediante detección genómica y aislamiento en el caso de confirmarse la infección o presentar síntomas de infección respiratoria de vías altas o bajas, se demora el TPH hasta su resolución.

Protocolo de tratamiento anticipado

La estrategia de elección es la prevención de la enfermedad. De forma general, se inicia tratamiento anticipado cuando el resultado de la monitorización virológica sea el siguiente:

- Una única determinación positiva para CMV o VEB con más de 400 (2,6 log) copias/ 10^5 leucocitos.

- Dos determinaciones consecutivas para CMV o VEB con un incremento significativo de la carga viral, con número de copias 100 y 300 (2 y 2,5 log) copias/10⁵leucocitos, para evitar un aumento incontrolado de la replicación viral.

El tratamiento se aplica durante dos semanas o hasta finalizar la viremia. Los episodios de replicación que ocurrían tras la detección de una respuesta celular específica no fueron tratados y los pacientes fueron monitorizados.

Criterios diagnósticos de viremias

Con el fin de poder analizar de manera adecuada y uniforme el impacto de las viremias en el TPH, se han descrito de manera consensuada, definiciones de infección y enfermedad y se adoptaron los siguientes criterios diagnósticos

- **Infección:** Se define como la el aislamiento del virus, la detección de proteínas virales (antígenos) o la detección de genoma del virus a estudio en leucocitos de sangre periférica.
- **Replicación :** Existe evidencia de multiplicación del virus por detección de genoma viral medido en log copias/ml sangre completa (log/ ml sc) o log copias/10⁵leucocitos (log/ leu).
- **Eliminación o aclaramiento de viremia:** Dos valores consecutivos indetectables para PCR del virus a estudio.
- **Viremia continua:** Dos determinaciones consecutivas de genoma viral medido en log copias/ml sangre completa (log/ ml sc) o log copias/10⁵leucocitos (log/ leu).
- **Viremia puntual:** Una determinación aislada de genoma viral.
- **Viremia esporádica o intermitente (*blips*):** Viremia detectable por varios episodios persistentes o puntuales de viremia.

3.2.2 Procesamiento de las muestras de sangre periférica

Las muestras de sangre se enviaron al laboratorio de Virología del HUCA donde se procesaron siguiendo los pasos que se describen a continuación:

Cada muestra se dividió en dos alícuotas, una para llevar a cabo el recuento del número de leucocitos en un contador automático de células (Coulter T660) y con la segunda alícuota se llevó a cabo una extracción y purificación automatizada de los ácidos nucleicos presentes en las muestras, mediante la tecnología de partículas magnéticas recubiertas de sílice.

Para ello se utilizó un extractor automático (Figura 14) siguiendo las indicaciones del proveedor. En el caso de utilizar AmpliPrep se preparaban 500 µl de sangre completa más 500

μ l de MEM, medio esencial mínimo, compuesto por BSS+aminoácidos+vitaminas (Sigma, España) y EDTA, ácido dietilenaminotetracético al 1% (Sigma, España) y en el caso de realizarse en el MagnaPure 96 se añaden 100 μ l de sangre completa más 500 μ l de MEM/EDTA 1%.



Figura 14. Robots de extracción y purificación de genoma: a) AmpliPrep, b) MagnaPure 96 (Roche Diagnostics S.L., Switzerland)

3.2.3 Procesamiento de las muestras de exudados nasofaríngeos

La detección del SARS-CoV-2 se llevó a cabo a partir de muestras respiratorias, según el protocolo establecido en la sección de Virología del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias.

Una vez que las muestras llegaron al laboratorio se procesaron inmediatamente para la detección viral y la detección de la Beta-globina. Para ello se llevó a cabo una extracción con un extractor automático (AmpliPrep o MagnaPure 96, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) siguiendo las indicaciones del proveedor. Posteriormente se almacenaron a 4°C hasta la realización de la amplificación genómica frente a SARS-CoV-2 y el gen de la β -globina mediante RT-PCR-tr diseñada en el laboratorio. Los resultados, en el caso de detección viral, se expresaron en copias/1000 células y su log de carga viral normalizada (Argüelles ME et al., 2015).

Previamente a la detección del SARS CoV2, se realizó en el laboratorio un estudio de la viabilidad de los genomas de ARN obtenidos en la extracción.

A continuación dos alícuotas de 10 μ l de muestra para cada 67 muestras extraídas fueron guardadas en nevera durante 10 días, añadiendo a una de ellas de 0.5 μ l de RNasin.

A los 10 días se realizó la RT-PCR por el procedimiento habitual a 5 μ l de la muestra

extraída sin el RNasin y a 5 µl de la muestra extraída con el RNasin.

Tras su conservación a 4°C y después de un periodo de 10 días, tiempo de trabajo estándar en un laboratorio de Microbiología Clínica, que se considera suficiente para realizar todos los procesos rutinarios que implica el diagnóstico viral de una muestra

En los 67 exudados se llevó a cabo una extracción y purificación del material genómico con el Reactivo MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit, en el sistema automático MagnaPure LC 2.0 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland). Se obtuvieron 100µl para una posterior amplificación de fragmentos de genoma viral y se aplicaron protocolos de diagnóstico sintromico del laboratorio. En todos ellos se evaluaba la cantidad del virus y la calidad de muestra, con la amplificación del gen de la β-globina humana y se informaba la carga viral normalizada (copias de virus por número de células).

Del extracto nucleico total se separaron dos alícuotas de 10 µl y en una se añadió 1 µl *RNase*[®] Inhibitor (Applied biosystem, USA), ambas se almacenaron a 4°C hasta la realización de la RT-PCR-tr a los 10 días (Figura 15).

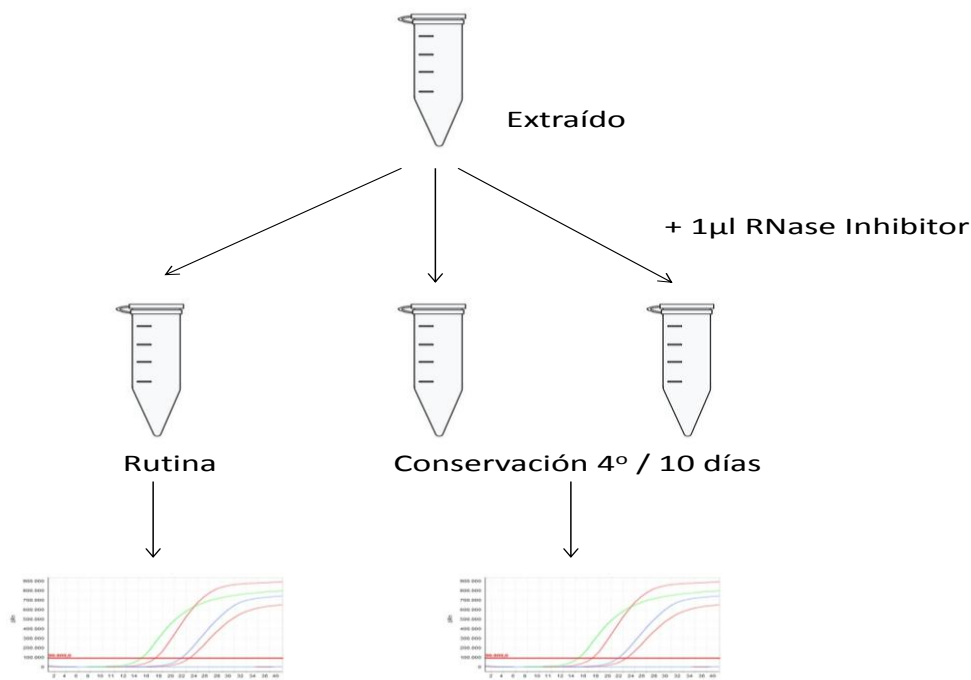


Figura 15. Esquema de trabajo del laboratorio a partir del extraído del material genómico de las muestras respiratorias.

3.2.4 Diagnóstico basado en técnicas de amplificación genómica

La detección y cuantificación de diferentes genomas virales se llevó a cabo mediante una técnica de amplificación genómica a tiempo real (PCR-tr) diseñada en el laboratorio.

Para ello, 5 µl del extraído (eluido) fueron mezclados con el preparado comercial Taq Man Fast Virus-1 Step Master Mix (Thermo Fisher Scientific Waltham, Estados Unidos) en un volumen final de 10 µl al que se añaden los cebadores (450 nM) y las sondas (125 nM) recogidas en la Tabla 5, según el virus o grupo de virus a ensayar.

Tabla 6. Cebadores y sondas utilizados para la detección viral.

Virus	Cebadores		Sondas	
	Nombre ¹	Secuencia (5'-3')	Nombre ²	Secuencia (5'-3')
VHS1	VHS1-TR-S	GCCGTGTGACTATCGTCCATA	VHS1-FAM	CCACACCGACGAAT
	VHS1-TR-A	TTGTTATACCCCTCTCTCGTAA		
VHS2	VHS2-TR-S	AAGCTCCCCTAAGGACAT	VHS2-VIC	CTGTTCTGGTTCCTAACG
	VHS2-TR-A	GGTGCTGATGATAAAGAGGATATCTA		
VZV	VZV-TR-S	GGGAAGACGGGTTTCATTGAG	VZV-NED	CGCCGAATGTTCTT
	VZV-TR-A	TCATCGTCGTATCGTCTCA		
VEB	VEB-TR-S	GGCTAGGAGTCACGTAGAAAGG	VEB-VIC	CCAAGTTCCTTCGTCGGTA
	VEB-TR-A	CTCCATATACGAACACACCG		
CMV	CMV-TR-S	GACTTCAGGGTACTGGAACCTTACT	CMV-FAM	AACGCAGCTCTTTCTG
	CMV-TR-A	ATTCGCGCATGATCTTTCGA		
VHH6	HH6-TR-S	GTGTCATGCTCAAAGCTCTACTCAA	HH6-FAM	TTCATAAGAGTATAGAAGTTGA CCG
	HH6-TR-A	TTCAGATGATCATACTGACTGACGATT		
VHH7	HH7-TR-S	TTCATGTAGATCGGGGCTTT	HH7.2-VIC	TATGACGCAATTTCTTCA
	HH7-TR-A	AACGGTTTACTTCCGCGAGTTT		
VHH8	HH8-TR-S	ATGCATCCTTGCCAATATCC	HH8-NED	TTGCAACGATACTCGG
	HH8-TR-A	AGGTTGTGCATGCCATGTAA		
ADV	ADV2-TR-S	CCAGGACGCCTCGGAGTA	ADV2-NED	AGTTTGCCCGCCACCG
	ADV2-TR-A	AAACTTGTTATTTCAGGCTGAAGTACGT		
	ADV4-TR-S	GGACAGGACGCTTCGGAGTA	ADV4-NED	CAGTTCGCCCGYGCACAG
	ADV4-TR-A	CTTGTTCCCCAGACTGAAGTAGGT		
BK	BKJC-TR-S	AGTCTTTAGGGTCTTCTACC	BK-FAM	TGTTGAGAATCTGCTGTTGC
	BKJC-TR-A	GTGCCAACCTATGGAACAGA		
JC	BKJC-TR-S	AGTCTTTAGGGTCTTCTACC	JC-VIC	TGTTGGGATCTGTGTTTTCA
	BKJC-TR-A	GTGCCAACCTATGGAACAGA		
PVB19	Parvo-TR-S	TATAAGTTTCTCCAGTGCC	Parvo-NED	CTGCAGTCAACACTTT
	Parvo-TR-A	TGAATTGCATGGTCTTCATG		
SARS-CoV-2	Wuhan-S-Mod	ATCAAGTTAATGGTTACCTAACATGTT	Wuhan-FAM	CCGCGAAGAAGCTA
	Wuhan-A-Mod	ACCTAGCTGTAAAGGTTAAATTGGTACC		
	CoV-Wu-CDC-S	GACCCCAAATCAGCGAAAT	CoV-Wu- CDC-VIC	CCGCATTACGTTTGGT
	CoV-Wu-CDC-A	TCTGGTTACTGCCAGTTGAATCTG		
β-globina	Beta-TR-S	ACACAAGTGTGTTCACTAGC	Beta-Cy5.0	TGCATCTGACTCCTGAGGA
	Beta-TR-A	CCAACTTCATCCAGTTTACC		

¹El sentido del cebador aparece en el nombre. S (Cebador sentido), A (Cebador antisentido).

²El nombre de la sonda termina con el fluoróforo con el que está marcada.

Las técnicas de detección del genoma a tiempo real (*Polymerase Chain Reaction real-time*, PCR-tr), se han convertido en el estándar de la cuantificación de la carga viral (en sangre y otras muestras clínicas), para el diagnóstico de infección por CMV y otros virus y la monitorización de la respuesta o fracaso al tratamiento que, en ocasiones indica la realización de un estudio de resistencias. La identificación de todos los virus estudiados, se llevó a cabo según los protocolos establecidos en la Sección de Virología del HUCA.

Como se indica anteriormente, después de la purificación de los ácidos nucleicos de una muestra, 5 µl del extraído fueron amplificados usando el preparado comercial Fast-Virus 1-Step Master Mix (Life technology, USA), que amplifica tanto ADN como ARN, en un volumen final de 10 µl al que se le añaden los cebadores (450 nM) y las sondas (125 nM).

Todas las amplificaciones, así como los análisis de éstas, se realizaron usando un LC 480 (Roche Diagnostics, Switzerland), o un Applied Biosystems 7500 o 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Waltham, Estados Unidos). Estos son sistemas con dos, tres y cuatro canales de lectura o emisión/excitación y, por tanto, permite detectar varios fluoróforos simultáneamente. Así, en una misma reacción se pueden detectar dianas distintas por lo que se protocolizó la detección de virus RT-PCR-tr múltiples:

- CMV/VEB
- BK/JC/ADV
- VHH6/VHH7/PVB19
- VHS1/VHS2/VVZ/VHH8
- Betaglobina/SARS-CoV-2.

Los perfiles de amplificación de virus ADN (mezclas de reacción de la a) a la d) y ARN o mixto (mezcla de detección betaglobina y SARS CoV2) se muestran en la figura 16.

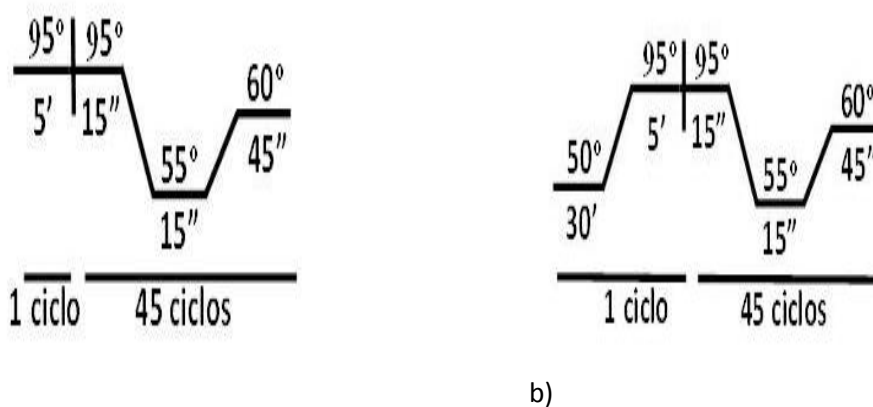


Figura 16. Perfil térmico de la PCR-tr empleada para la detección viral de virus ADN (a) o ARN (b).

Como resultado de la PCR-tr descrita anteriormente, se obtiene un ciclo umbral (Ct, del inglés *Cycle threshold*) que es utilizado para calcular la carga viral presente en la muestra, medida como número de copias de genoma viral, sirviéndonos de curvas de patrón externas para las muestras de sangre según la cantidad de leucocitos en cada paciente. Los resultados, en el caso de detección viral, se expresaron como número de copias y su logaritmo, log copias /ml sangre completa (log/ ml sc) y log copias/10⁵leucocitos (log/ leu). Los logaritmos pretenden hacer comprender mejor la cinética de la replicación viral.

Para el SARS-CoV-2 y otros virus respiratorios, de forma paralela y con el objeto de evaluar la calidad de la muestra, así como normalizar la carga viral haciéndola independiente de la cantidad de células presentes en la muestra, se amplificó y cuantificó el gen de la Betaglobina humana en cada muestra obteniendo un Ct. Mediante estudios previos se generó una curva patrón que permite establecer una correlación entre el Ct obtenido al cuantificar la betaglobina de la muestra con el número de células presente en dicha muestra. Uniendo ambos valores la carga viral se indica como el logaritmo del número de copias de genoma viral por cada 1000 células (Álvarez-Argüelles et al, 2015).

3.2.5 Análisis de los datos y metodología estadística

Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el programa estadístico para ordenador *GraphPad InStat V2.04a* (GraphPad Software, Estados Unidos).

El significado estadístico de la diferencia entre las proporciones se determinó usando la prueba χ^2 con corrección de Yates o el test exacto de Fisher para variables cualitativas en celdas 2x2 cuando en la tabla teórica existía un dato menor de 5, o el global de los datos no llegaba a 50. Se aplicó el test t-Student para datos no apareados cuando se compararon medias aritméticas, aplicándose la corrección de Welch cuando las diferencias entre las varianzas eran estadísticamente significativas.

Se utilizaron test de dos colas para todas las determinaciones. El nivel de significación requerido en todos los casos fue $p < 0,05$, así como para el cálculo de los intervalos de confianza.

Queriendo no equivocarme en nada...”

Del tiempo perdido

4. RESULTADOS

4.1. CITOMEGALOVIRUS EN EL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS, EPIDEMIOLOGIA Y MARCADORES VIRALES

De las 7168 muestras de sangre completa procesadas de 208 pacientes alo-TPH, se detectó ADN de CMV en 1541 (21.5%) muestras pertenecientes a 145 (69,7%) pacientes. La primera muestra positiva apareció con una media de 46,6±58 días post-TPH (rango 1-348) y con una carga viral de 3,7±1,3 log/ml sc (rango 1,5-7,6). Cuando no se tuvo en cuenta los valores extremos en días de aparición, quitando las muestras detectadas para la primera viremia después de 105 días (62,5%), se encontró que en 130 pacientes con replicación de CMV, la primera viremia apareció a los 30±23 (1-105) días post-TPH.

Como se indica en el apartado de material y métodos, se agruparon los TPH según el tipo de trasplante: trasplante haploidéntico de progenitores hematopoyéticos, de sangre periférica o médula ósea (Haplo); y trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica, cordón umbilical o médula ósea de donante emparentado (DE) o no emparentado (DNE).

Así mismo, se estudió la infección por CMV en las tres temporadas. Y debido al rango de edad tan grande (1-69 años), se decidió estratificar los pacientes en tres grupos de edad: menos de 15, entre 16- 59 y mayores de 59 años.

Atendiendo a estas distribuciones, se analizó la incidencia, la primera muestra positiva, (medida en días post-TPH), la duración de la viremia, así como la carga viral (medida en log/ml sc). Los resultados generales obtenidos se muestran en la Tabla 7 y Figura 17.

Los datos evolutivos correspondientes a la primera viremia (en días post-TPH) y a la máxima carga viral detectada (en log/ml sc) aparecen representados en la figura 18.

Tabla 7. Datos generales de la viremia por CMV según sexo, edad, tipo de TPH y temporadas establecidas.

		CMV+ (%)	1ª positiva	Cvmáx (log/ml sc)	p
Total		145 (69,71)	46,6±58 [1-348]	3,7±1,3 [1,5-7,6]	
Total adaptada*		130 (62,5)	30±23 [1-105]	3,86±1,3 [1,5-7,6]	
Sexo	Hombres (n=121)	85 (70,49)	42,48±62 [1-348]	3,68±1,3 [1,5-6,8]	ns
	Mujeres (n=87)	60 (68,9)	52,4±52 [2-313]	3,87±1,2 [1,5-7,6]	
Tipo TPH	DNE (n=82)	56 (68,29)	44,43±43,81 [1-168]	4,03±1,16 [1,5-6,6]	
	DE (n=114)	80 (70,1)	42,38±42[1-348]	3,7±1,31 [1,5-7,6]	ns
	Haplo (n=12)	9 (75)	85±96[1-300]	3,19±1,35 [1,5-5,3]	
Edad (años)	<15 (n=19)	10 (52,63)	21,27±17,34 [2,5-55,84]	3,19±1,35 [1,5-5,3]	*0,044
	15-59 (n=146)	101 (69,17)	51,42±64,59 [1-348]	3,7±1,31 [1,5-7,6]	ns
	>60 (n=43)	39 (90,7)	44,43±43,81 [1-168]	4,03±1,16 [1,5-6,6]	
Temporada	2011-2013 (n=72)	59(81,9)	39±49,8[1-299]	3,5±1,4 [1,5-6,2]	*0,01
	2014-2016 (n=58)	39(67)	52±71,51[4-348]	4±1,4 [2-7,6]	ns
	2017-2019 (n=78)	47(60)	51±56,5 [1-313]	3,8±1,2 [1,6-6,8]	

* viremias antes de los 4 meses post TPH

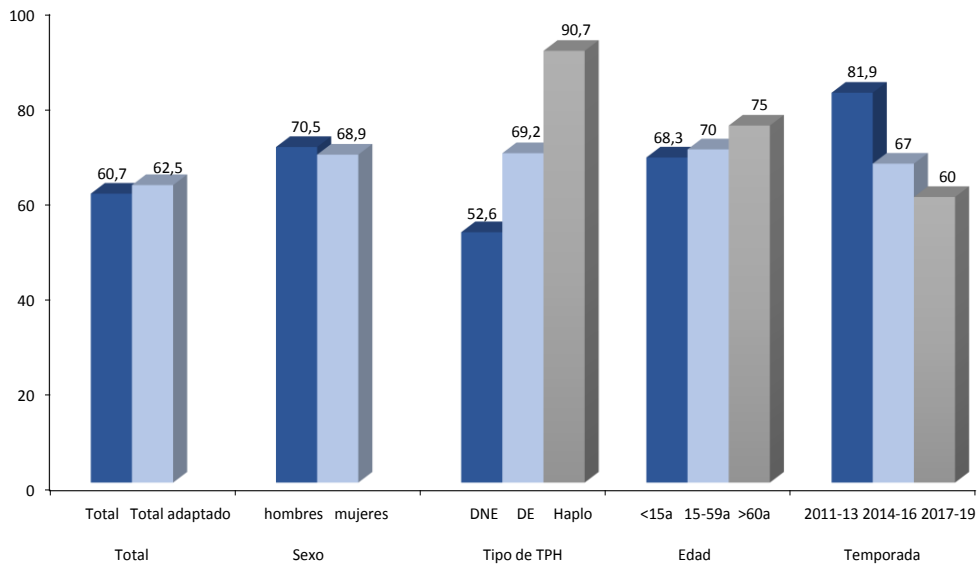


Figura 17. Distribución de los pacientes con viremia por CMV según sexo, edad, tipo de TPH y temporadas establecidas.

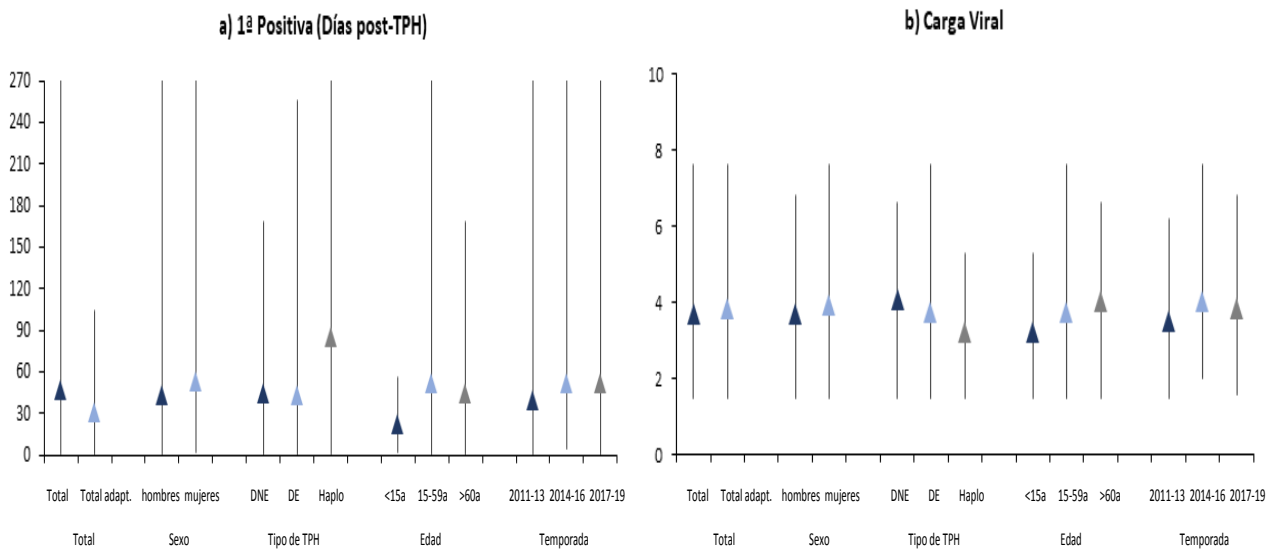


Figura 18. Distribución de los pacientes por Sexo (H, hombres, M mujeres), tipo de TPH, edad y temporada establecida en función a) de los días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log /ml sc.

No se encontraron diferencias significativas en el tipo de TPH y tampoco en los datos diferenciados por sexos por lo que posteriormente se analizaron conjuntamente. Por el contrario la incidencia pasó del 52,6% en los menores de 15 años al 90,7% en los mayores de 60 años ($p=0,004$).

En la temporada 2011-2013, la incidencia fue del 81,9% mientras que en la de 2017-2019 fue del 60% (p:0,01).

A la vista de los resultados, y atendiendo a los cambios significativos, analizamos la incidencia por edad y temporada, los resultados se muestran en la tabla 8 y Figura 19.

Tabla 8. Distribución de pacientes con infección por CMV del total estudiado y porcentaje total según edad y temporada.

Edad	<15 años	15-59 años	>59 años	p
2011-2013	8/11 (72,7%)	41/50 (82%)	10/11 (90,9%)	ns
2014-2016	1/4 (25%)	27/43 (62,8%)	11/11 (100%)	0,011
2017-2019	1/4 (25%)	33/53 (62,2%)	13/21 (61,9%)	ns
p	0,004	0,05	0,022	

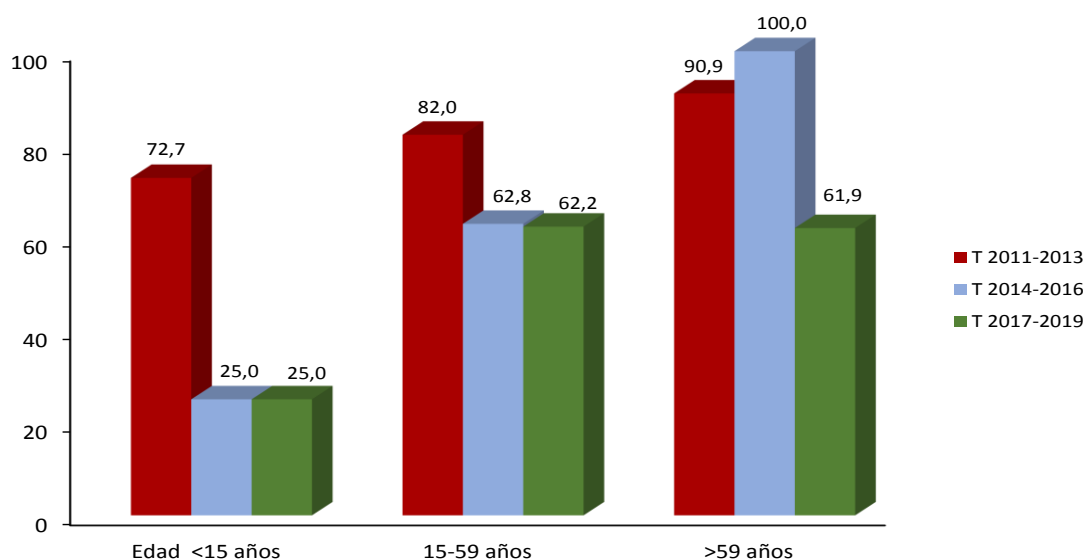


Figura 19. Distribución de los pacientes con viremia por CMV según edad y temporada.

Como se observa en la tabla y en la figura, en todos los grupos de edad la incidencia pasó del 72%-90,9% en la primera temporada (T 2011-2013) al 25%-61,9% en la última temporada (T 2017-2019) (P=0,004).

4.1.1 Características de las viremias por CMV

Como se comentó en el apartado de Introducción, los pacientes con CMV pueden tener distintos grados de replicación viral y presentar episodios de viremias continuas, viremias puntuales o varios episodios de viremias esporádicas o intermitentes (*blips*). Una vez analizados los datos generales para las muestras de CMV positivas, se estudió como fueron esos episodios.

En 103 (49,5%) pacientes las viremias fueron continuas y en 42 (20,2%) la viremia apareció de manera esporádica o puntual (Tabla 9).

Tabla 9. Características de las viremias por CMV en función del número de episodios y la aparición de la primera muestra con replicación de CMV según los días post-TPH.

Viremia	CMV+(%)	1ª positiva (Días post-TPH) IC (95%)	Cvmax
Continua	103 (49,5)	36±42 [1-299] (27-44)	[27-44]
Esporádica	15 (7,2)		
Episodios: (<3/>3)	(13/2)	74±80 [2-342](49-98)	[49-98]
Puntual	27 (12,9)		
Duración: (<60/>90)	(12/15)		

Las viremias como episodios continuos aparecen a los 36±42[1-299] días post-TPH, mientras que si se presenta esporádica o puntual aparece a los 74±80[2-342] días post-TPH (p=0,003).

La distribución de los pacientes según tipo de viremia, respecto al total de pacientes (n=208) y respecto a los pacientes CMV+ (n=145) aparecen reflejados en la Figura 20.

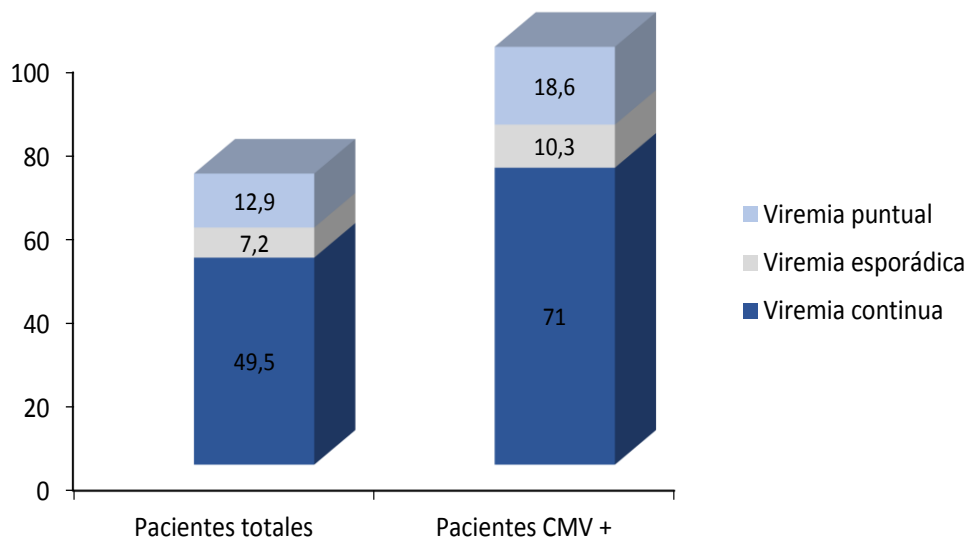


Figura 20. Distribución de los pacientes según tipo de viremia presentada.

Se realizó un estudio de las características de las viremias continuas por periodos post-TPH, cuando aparecía la primera detección de CMV. Teniendo en cuenta la reconstitución inmunológica de los pacientes, se establecieron 4 periodos post-TPH (días): <15; 15-45, 46-90 y >120, analizando en los mismos incidencia, duración y carga viral, medida tanto en log/ ml sc como en log/ leu (Tabla 10).

Tabla 10. Características de las viremias de los 103 pacientes con replicación continua de CMV.

Días post-TPH	CMV+(%)	Duración (IC95%)	Cvmax-sc (IC95%)	Cvmax-leu (IC95%)
<15	29 (28.1)	84±75 (55,5-112,5)	4±1,3 (3,5-4,4)	4,2±1,2(3,7-4,6)
15-45	45 (43,7)	108±96,8 (2-324)	4,3±1,1 (3,9-4,6)	3,7±1,1(3,3-4,1)
46-90	15 (14,6)	63±72,34(7-276)	3,8±0,7 (3,4-4,2)	3,4±0,8 (2,9-3,8)
>120	5 (4,8)	76±96 (0-195,2)	4,5±1 (3,2-5,7)	4,4±1,2(2,9-5,9)
p	<0,0001	ns	ns	0,046

Centrándose en los primeros periodos, si aplicamos la carga viral en log/ ml sc, se observa que ronda los 4 log en todos los periodos ($p=ns$). Sin embargo, si medimos la carga viral por log/leu, pasa de 4,2±1,2 en el periodo temprano a 3,4±0,8 en el periodo tardío ($p=0,046$). En el último periodo el tamaño muestral era muy pequeño para hacer comparación. La representación de las cargas virales según se analizaron en log /ml sc y en log/leu según los días post-TPH se observan en la Figura 21.

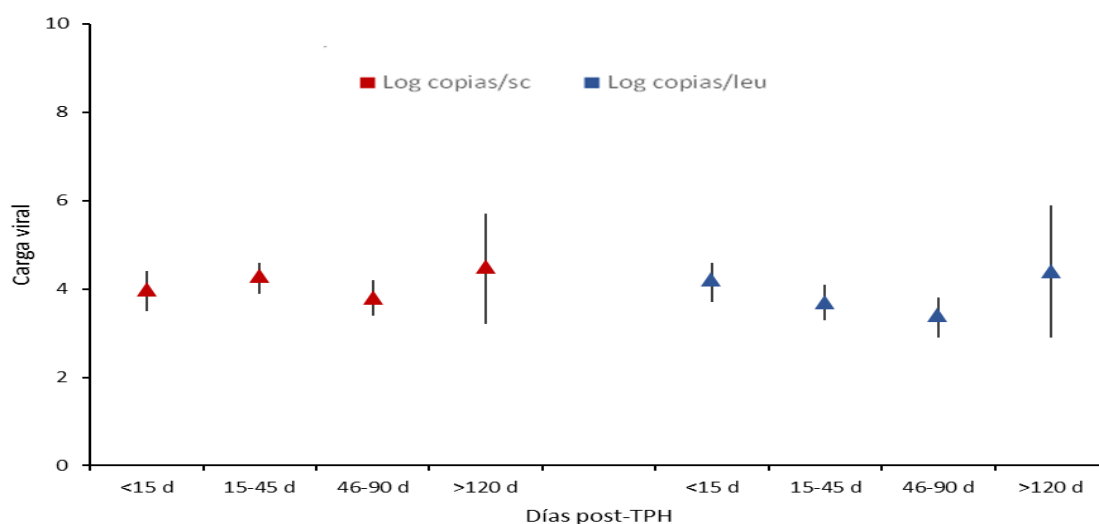


Figura 21. Carga viral en sangre completa y leucocitos en función de los días post-TPH.

Cabe señalar las determinaciones de replicación de CMV después de 120 días post-TPH, las viremias se presentan en solo 5(4,85%) de los pacientes pero con unas cargas virales altas.

A continuación se analizaron los datos de la viremia en función de los periodos post-TPH descritos, atendiendo a la edad y a las temporadas establecidas, obteniendo los datos representados en la Figura 22.

Teniendo en cuenta la edad, se puede comprobar que las viremias persisten en 6 (6%) de 10 pacientes menores de 15 años con CMV detectables, en 66 (65,3%) de los 101 TPH entre 15 - 59 años y en 31 (91,2%) de los mayores de 59 años ($p=0,012$).

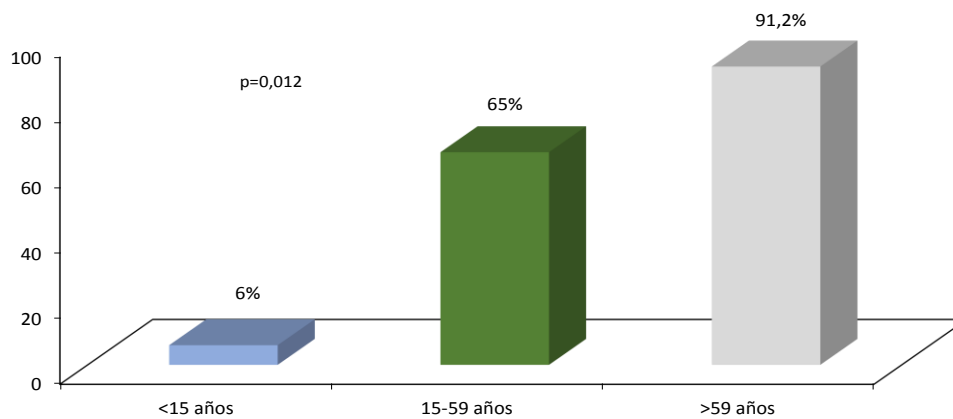


Figura 22. Viremias continuas de CMV según la edad ($p=0,012$).

4.2 VIRUS EPSTEIN BARR: EPIDEMIOLOGIA Y MARCADORES VIRALES

Como en el caso del CMV, se incluyeron en el estudio 208 pacientes, de los que fueron valorables 206 (119 hombres y 87 mujeres) de los que se estudiaron 7103 muestras. Se detectó viremia por VEB en 861 (12,12% muestras) pertenecientes a 143 (68,75%), pacientes de los que 78 (54,55%) eran hombres y 65 (45,46%) mujeres.

La primera viremia se detectó a los $72,6 \pm 72,9$ días post-TPH (rango 3-347) y con una carga viral de $3,5 \pm 0,8$ log/ml sc (rango 1,8-6,2).

Al igual que en anterior estudio, suprimiendo las muestras detectadas para la primera viremia después de 105 días, se encontró que la primera viremia apareció a los $40 \pm 23,04$ días post-TPH (rango 1-105). Se estudió la viremia en función del sexo, edad, tipo de TPH y temporadas de estudio establecidas (Tabla 11 y Figura 23).

Tabla 11. Datos generales de la viremia por VEB según sexo, tipo de TPH, edad y temporadas establecidas.

		VEB+ (%)	1ª Positiva	C _v máx (og/ml sc)	p
Total		143 (68,7)	$72,6 \pm 72,9$ [3-347]	$3,5 \pm 0,8$ [1,8-6,29]	
Total adaptada*		113 (54,8)	$40,8 \pm 23,04$ [1-105]	$3,5 \pm 0,9$ [1,8-6,30]	
Sexo	Hombres (n=119)	78 (54,5%)	51 ± 43 [5-196]	$3,39 \pm 0,77$ [1,8-4,9]	ns
	Mujeres (n=87)	65 (45,4%)	68 ± 65 [8-329]	$3,7 \pm 0,9$ [2,6-6,3]	
Tipo de TPH	DE (n=81)	53 (65,43)	$61,8 \pm 66,1$ [53-321]	$3,4 \pm 0,8$ [2-6,1]	0,005
	DNE (n=113)	86 (76,11)	$72,5 \pm 67,8$ [3-329]	$3,6 \pm 0,8$ [1,8-6,3]	
	Haplo (n=12)	4 (33,33)	$217,8 \pm 123,6$ [105-347]	$2,9 \pm 0,5$ [2,5-3,7]	
Edad (años)	<15 (n=19)	8 (42,1)	51 ± 39 [5-116]	$3,9 \pm 1,06$ [2,7-5,6]	0,013
	15-59 (n=144)	107 (73,3)	$75,9 \pm 76$ [3-347]	$3,5 \pm 0,8$ [2,04-6,3]	
	>60 (n=43)	28 (65,1)	$65,7 \pm 65$ [8-300]	$3,5 \pm 0,8$ [1,8-5,9]	
Temporada	2011-2013 (n=71)	50 (70,4)	$72,6 \pm 72,2$ [8-329]	$3,4 \pm 0,8$ [2,7-6,1]	<0,001
	2014-2016 (n=58)	44 (75,8)	$79,8 \pm 75,1$ [5-321]	$3,7 \pm 0,8$ [1,8-6,2]	
	2017-2019 (n=77)	49 (63,6)	$66,1 \pm 72,4$ [3-347]	$3,45 \pm 0,8$ [2,04-5,9]	

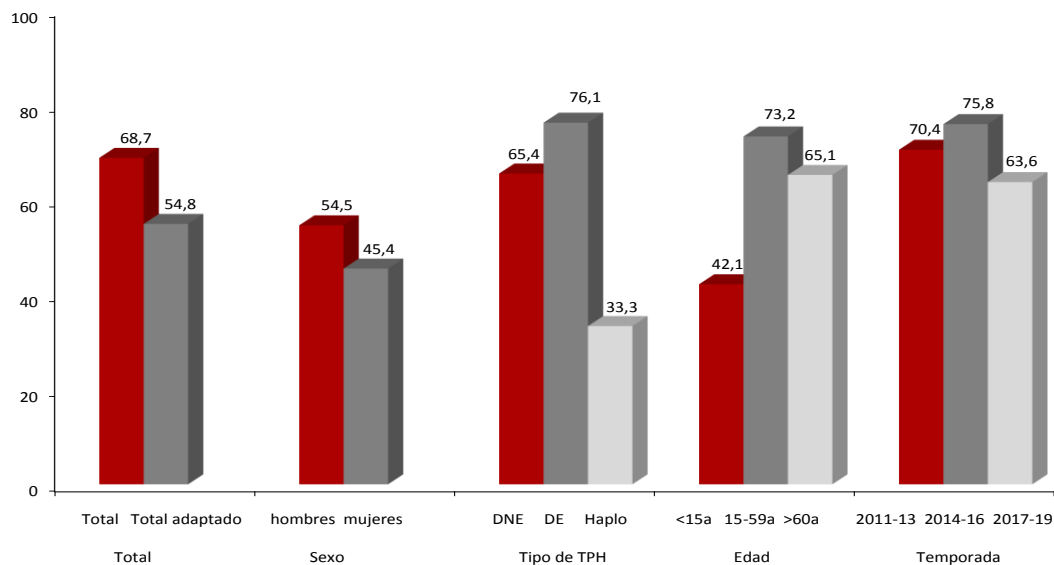


Figura 23. Distribución de los pacientes con viremia por VEB según sexo, edad y temporada establecida.

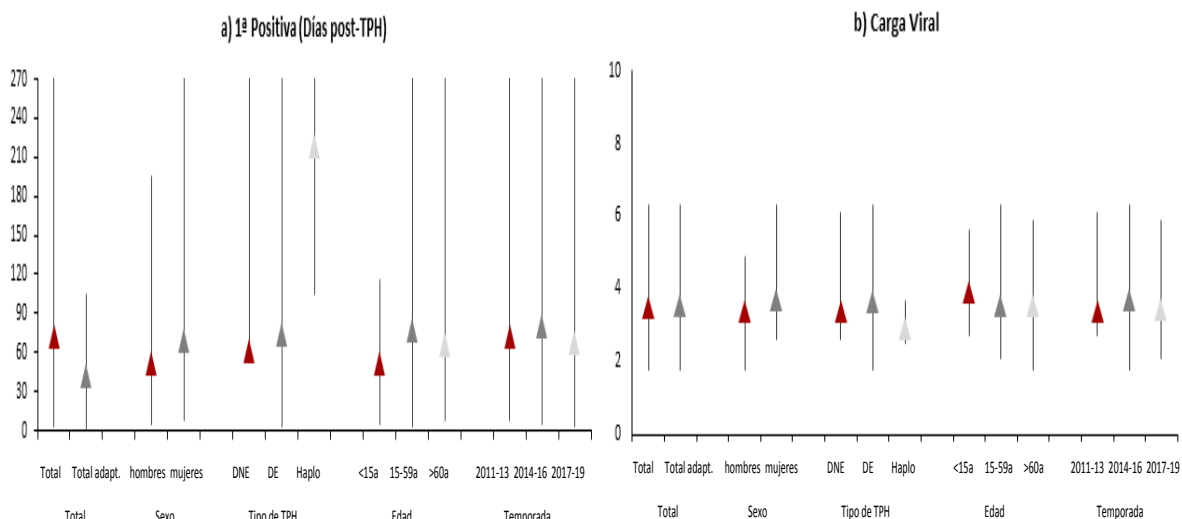


Figura 24. Distribución de los pacientes por Sexo (H, hombres, M mujeres), tipo de TPH, edad y temporada establecida en función de: a) días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log/ml sc.

Como se puede observar, en los menores de 15 años, el VEB se detectó en el 42,1% pero el número de pacientes era pequeño, por lo que se analizaron todas las variables sin tener en cuenta la edad ni el sexo.

También se observó esta limitación en los pacientes trasplantados haploidénticos, donde además la media de aparición de la replicación fue a los 217 días.

Los datos evolutivos correspondientes a la primera viremia (en días post-TPH) y a la máxima carga viral detectada (en log/ml sc) aparecen representados en la figura 24 por sexo, edad, tipo de TPH y temporadas de estudio establecidas.

4.2.1 Características de las viremias en el VEB

Se estudiaron las características de las viremias, si se presentaban como replicaciones continuas o esporádicas. Fueron 84 (40,7%) los pacientes los que presentaron una viremia continua y 59 (28,6%) los que presentaron una viremia puntual. Los resultados de incidencia y carga viral en en log/ ml sc y en log/ leu aparece reflejados en la Tabla 12.

Tabla 12. Distribución de las viremias en función de las características de las viremias (continuas o puntuales).

Días post-TPH	VEB+ (%)	1ªPositiva	Cvmax-sc (IC95%)	Cvmax-Leu (IC95%)
Viremia continua	84(40,7)	59,2±55 [5-329]	3,8±0,85(1,88-6,3)	3,08±0,84 (1,2-5,4)
0-30d	22(10,6)		3,8±0,6 (2,8-4,9)	2,9±0,87 (1,22-4,48)
30-90d	51(24,7)		4,2±0,8 (2,7-6,3)	3,2±0,85 (1,5-5,4)
>90d	11(5,8)		3,8±0,4 (3,1-4,5)	3,06±0,7 (2,2-4,2)
Viremia puntual	59(28,6)	91,7±89 [3-347]	3,16±0,62[2,1-4.9]	
0-30d/ 30-90d/ >90d	18/ 18/ 23			
p	ns	0,008	<0,001	ns

Se puede observar que las viremias continuas aparecen a los 59,2±55 post-TPH de media, con una carga viral de casi 4 log y las puntuales a los 91,7±89 (p=0,008), con una carga viral de 3 log.

aparecía con una distribución similar en todos los periodos, pero las viremias continuas tienen mayor incidencia entre los 30-90 días post-TPH. La distribución de las viremias esporádicas y continuas, respecto al número total de pacientes y respecto a los pacientes VEB positivos, aparecen representadas en la Figura 25.

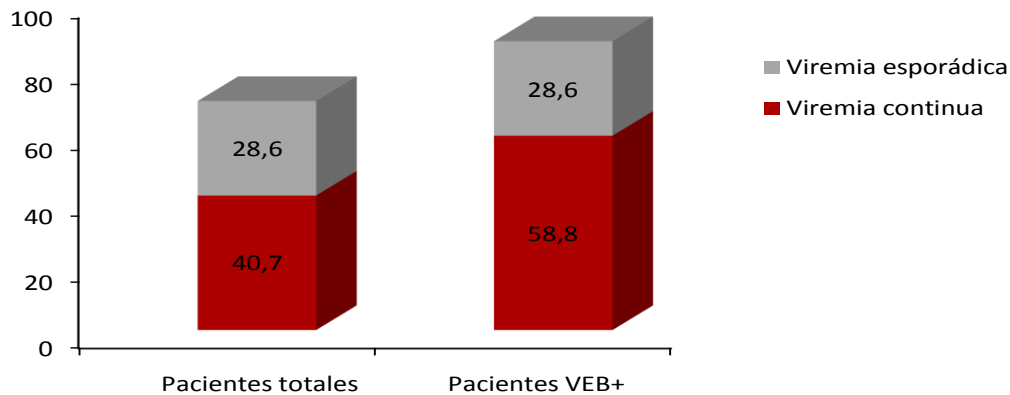


Figura 25. Distribución de los pacientes con viremia por VEB continuas y esporádicas.

4.2.2 Relación del VEB con el CMV

Atendiendo a que la infección por CMV se presenta en la misma proporción pero primero que el VEB en el post-TPH, [46,6±58 (IC 95% 26-33) vs 72,6±72,9 (IC 95% 60-84); p=0,0002].

Se planteó estudiar a los pacientes que presentaron replicación de ambos virus para saber si la viremia del VEB es una variable dependiente o no asociada a la viremia por CMV.

De los 208 pacientes estudiados para CMV y VEB, el número de ellos con ambos virus positivos fue de 105 (50,4%). De 143 pacientes con VEB positivo, 38 (18,26%) no tenían replicación por CMV. Con el fin de estudiar la relación entre ambos virus, se analizaron los datos de replicación por VEB para la 1ª viremia, la duración de la misma, así como la carga viral (medida en log/ leu), en función de las viremias por CMV continua y esporádicas o ausencia. resultados se reflejan en la Tabla 13.

Tabla 13. Episodios y viremias de CMV y VEB (días post-TPH) y carga viral (Leu).

		VEB+(%)	1ª viremia	Duración	Cvmax(Leu)
VEB total (n=208)	CMV continuo	92(44)	72±70[5-347]	32,9±63[1-318]	3,9±1[2,5-6,9]
	CMV esporádico	13(6,3)	91±66,8[9,4-279]	36±56[1-176]	3,7±1[2,4-5,3]
	CMV negativo	38(18)	71±75,9[5-129]	21±30[1-129]	3,5±0,8[1,8-6,1]
VEB continuo (n=84)	CMV continuo	56(66,7)	53±48[5-264]	90±103[8-355]	4±0,7[2,7-6,9]
	CMV esporádico	7(3,4)	107±91[40-279]	65±63[7-176]	4±0,7[2,3-6,8]
	CMV negativo	21(25)	68±60[18-236]	26±31[1-129]	3,8±0,9[1,8-6,1]
VEB esporádico (n=59)	CMV continuo	36(61,1)	80±68[5-300]	-	3,5±0,6[2,5-4,9]
	CMV esporádico	6(2,8)	71±80[9-200]	-	3,3±1[2,1-4,7]
	CMV negativo	17(28,8)	75±94[3-321]	-	3,1±0,6[2,2-4,4]
p			0,01	0,007	0,06

Leu: log copias/10⁵ leucocitos

Cuando la replicación por CMV era continua, el VEB también aparecía como viremia continua en la mayoría de pacientes, 56 (66,7%) y además se presentaba más pronto de manera significativa (p=0,01), a los 53±48 días post-TPH (rango 5-264), respecto a los episodios virémicos esporádicos del CMV. La distribución de los pacientes según las características de las viremias presentadas se refleja en la Figura 26 y 27.

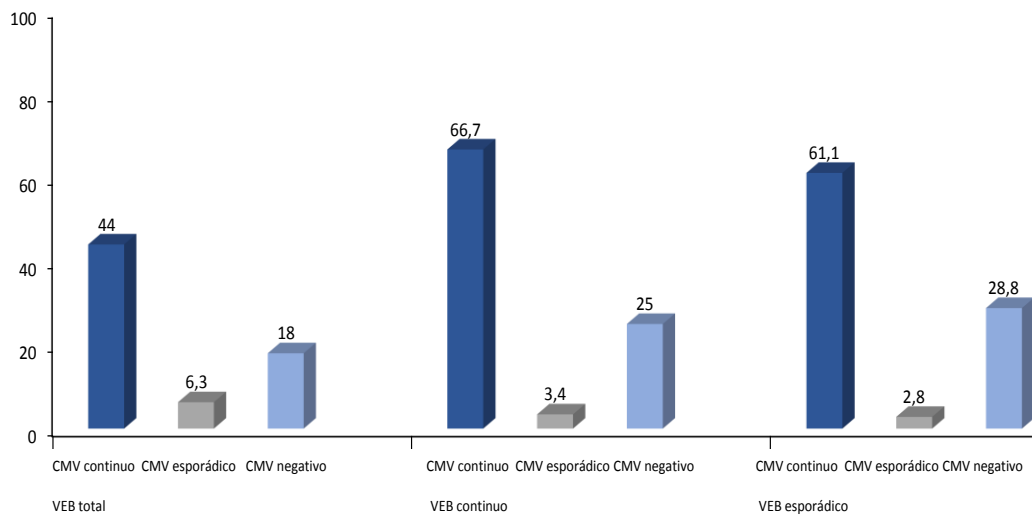


Figura 26. Distribución de los pacientes según las viremias de VEB en función de los episodios de CMV.

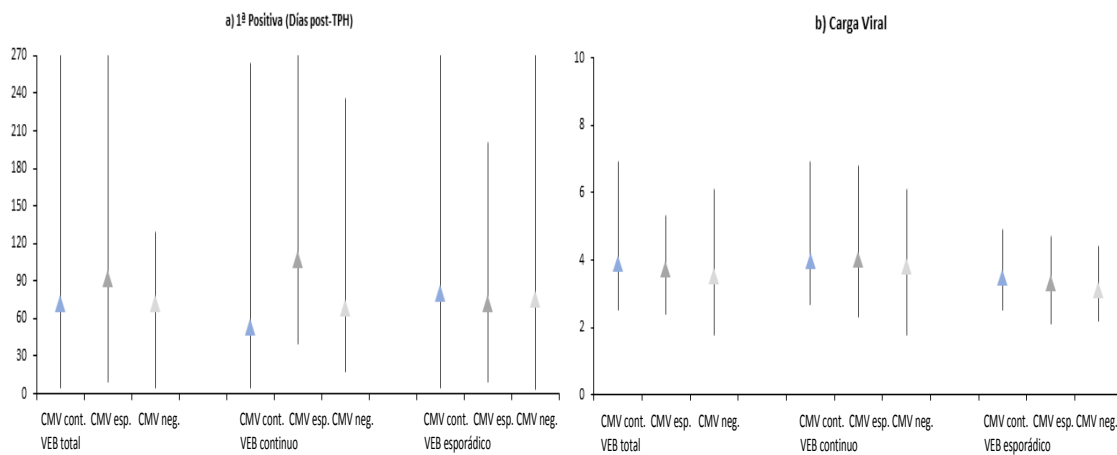


Figura 27. Aparición y carga viral de las viremias para VEB, según los distintos episodios de replicación del CMV en función de: a) los días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log /ml sc.

El VEB presentaba una carga viral de $3,9 \pm 1$ log/leu en los CMV continuos frente a $3,7 \pm 1$ en los CMV esporádicos y $3,5 \pm 0,8$ en los que no tenían CMV ($p=0,006$). También se observó que el VEB persistente aparecía a los 53 ± 48 días y duraba 90 ± 103 en los CMV persistentes. Sin embargo, en los pacientes con VEB continuo y CMV esporádicos, la aparición del VEB era a los 107 ± 91 días y duraba 65 ± 63 días ($p=0,007$).

4.3. OTROS VIRUS DE ALO-TPH EN SEGUIMIENTO OPORTUNISTA

Aunque el CMV es el virus protocolizado para seguimiento en el post trasplante, otros virus son causa muy importante de infecciones agudas.

En los 208 pacientes se analizaron otros virus latentes (ADV, BK, JC, PARVO, VHH6, VHH7, VHS1, VHS2, VVZ), en función de la sintomatología y sospecha clínica. Los resultados correspondientes de incidencia total y por edad, primera viremia (en días pos-TPH) y carga viral (en log/ml sc) se muestran en la Tabla 14 y Figuras 28 y 29.

Tabla 14. Incidencia de otros virus buscados en los Alo-TPH de forma oportunista en función de la edad y seguimiento.

Virus	Total (%)	1ª positiva	Cvmáx (log)	Edad (%)			P	
				Media (X̄)	<15 a	15-59 a		>59 a
ADV	32/139 (23,02)	57,12±74,51 [1,4-289]	4,79±2,11 [1,2-6,9]	34±20 [2-66]	8/18 (44,4)	19/93 (20,4)	5/22 (22,7)	0,03
BK	27/118 (22,9)	95,42±64,27 [10-263]	4,2±1,4 [2,3-7,6]	40±19 [5-68]	4/11 (36,4)	18/82 (21,9)	5/25 (20)	ns
JC	7/124 (5,64)	89,56±67,6 [11-205]	4,09±1,13 [2,6-5,2]	47±19,7 [12-66]	1/11 (9,1)	4/83 (4,8)	2/30 (6,7)	
PVB19	2/37 (5,4)	78/234	(0/12,3)	(12 /57)	1/7 (14,3)	1/21 (4,7)	0/9	
VHH6	10/46 (21,7)	64±51 [13-181]	.*	34,8±23 [3-60]	4/12 (33,4)	5/24 (20,8)	1/10 (10)	ns
VHH7	11/43 (25,6)	77,5±78,08 [7,4-281]	.*	27,9±22 [1-61]	4/12 (33,4)	6/23 (26,1)	1/8 (12,5)	

*no se tiene datos de cuantificación

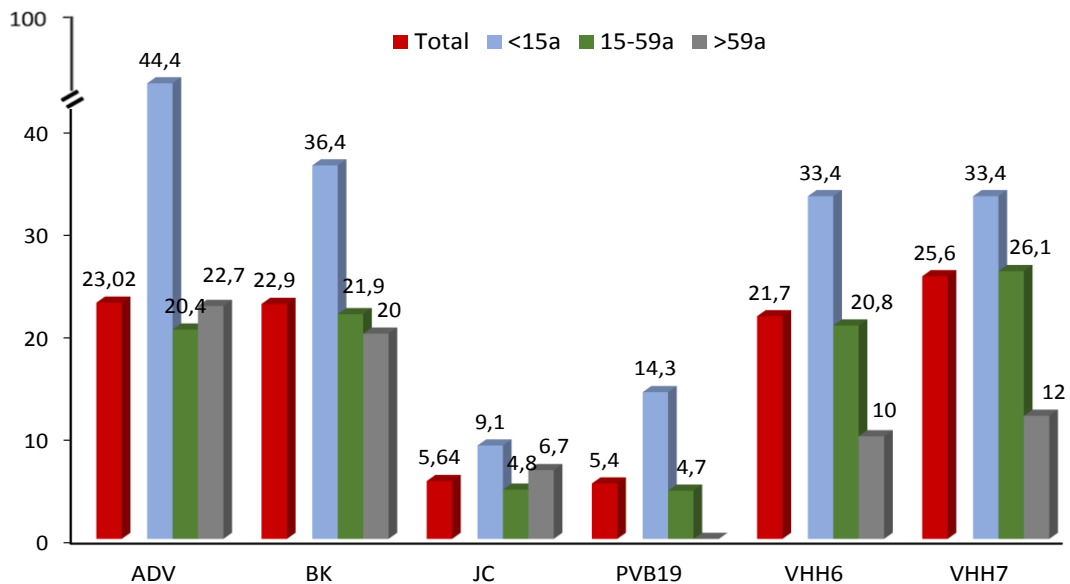


Figura 28. Incidencia de otros virus buscados en los Alo-TPH de forma oportunista en función de la edad y seguimiento.

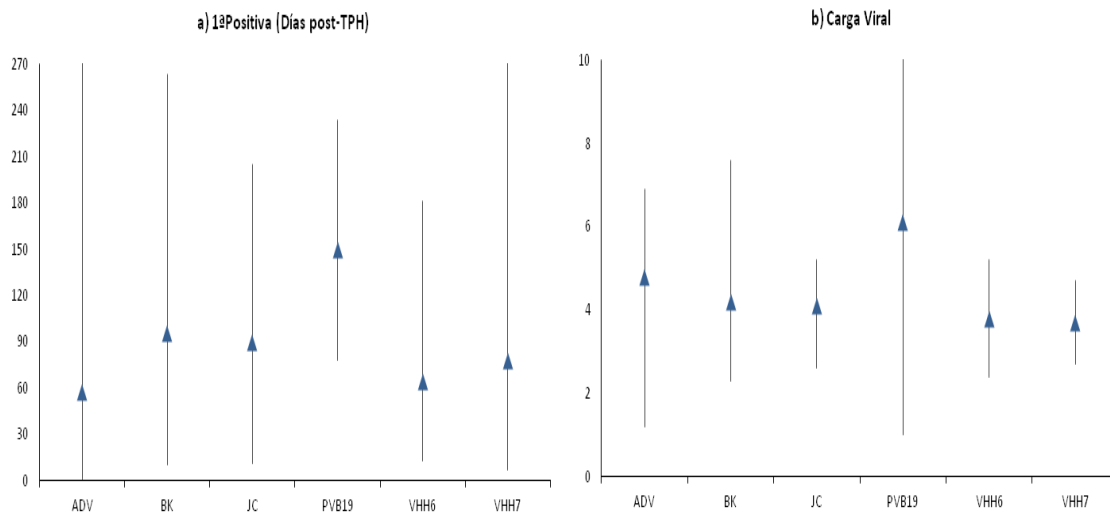


Figura 29. Distribución de otros virus buscados en los pacientes TPH de forma oportunista en función de: a) los días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) la carga viral en log /ml sc.

En los menores de 15 años, los virus más frecuentemente detectados fueron el Adenovirus (ADV) en 8 (5.752%) de 18 pacientes y el BK en 4 pacientes (36,4%) y VHH6 y VHH7 en 4 pacientes (33,4%). En adultos, cabe señalar, que también los virus con mayores tasas de detección son ADV y BK (ambos por encima del 20%).

En la Figura 29 se observa que, todos los virus latentes son de aparición tardía, posterior a 60 días post-TPH y las cargas virales en general son altas, por encima de 4 log. De los virus VHH6 y VHH7 no se encontraron datos sobre carga viral, ya que hasta el año 2016 no se realizaba cuantificación de los mismos.

4.4 SEGUIMIENTO PROTOCOLIZADO DE LOS VIRUS ANTERIORMENTE CITADOS

Como se observó en los datos recogidos, el seguimiento de los virus que no son CMV ni VEB es muy bajo, ya que solamente hay resultados recogidos en peticiones realizadas bajo sospecha clínica. Por ello se decidió hacer un estudio protocolizado aprovechando el seguimiento del CMV y el VEB, como se explicaba en material y métodos.

Se analizaron 582 muestras de 97 pacientes (59 hombres y 38 mujeres) en los que se buscaron los siguientes virus, ADV, BK, JC, PVB19, VHH6, VHH7, VHS1, VHS2, VVZ y VHH8. Los resultados de estos virus a estudio incluyeron el CMV y VEB, para realizar los datos desde la perspectiva de la incidencia de los mismos.

A continuación se presentarán los datos obtenidos, de los días post-TPH de la primera detección positiva y del valor de la carga viral (en log /ml sc).

4.4.1 Viremia por CMV

De los 97 TPH, 70 (72,2%) presentaron replicación por CMV. En el estudio del CMV de estos TPH, además de los datos ya presentados, se analizaron aspectos como el seroestatus, la utilización de antiviral o la aparición de la EICR, que también se estudiaron según el tipo de donante emparentado (DE n=47) o no (DNE n=48). Debido a que el número de pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico era muy reducido (2 pacientes), se analizan en conjunto con los donantes emparentados.

Viremia en función del seroestatus Donante/Receptor del CMV

Se analizó la viremia del CMV en función de la serología pretrasplante Donante/Receptor (D/R), se dividió a los pacientes en cuatro grupos (D+/R+; D+/R-; D-/R+ Y D-/R-) (Tabla 15 y Figura 30 y 31).

Tabla 15. Viremia por CMV según seroestatus pre-TPH en función del tipo de trasplante.

Seroestatus	Tipo de TPH	Total (%)	1ºPos	Cvmáx (log)
D+/R+ (n=40)		35 (87,5)	28,8±31[2,4-139]	3,8±1,3[1,5-5,5]
	DNE	12 (30)	22,5±19[2,4-54]	4,3±1[1,5-5,3]
	DE	23 (57,6)	32±36[2,4-139]	3,5±1,2[1,5-5,5]
D-/R+ (n=17)		17 (100)	36±32[5-126]	4,2±1,2[1,5-6,2]
	DNE	13 (76,5)	42±33[6-126]	4,2±1,3[1,5-6,2]
	DE	4 (23,5)	16±19[5-49]	4,2±0,8[3,4-5]
D+/R- (n=11)		9 (81,8)	43,3±34[2,4-104]	3,6±2,1[1,5-6]
	DNE	6(54,5)	53,8±39[3-104]	3,5±2,4[1,5-6,6]
	DE	3(27,3)	22±14[6-35]	3,9±1,9[1,5-5,5]
D-/R- (n=26)		8 (30,7)	19,3±10[4,4-41]	3,2±1,8[1,5-6,7]
	DNE	6(23,1)	19,8±12[4-41]	3,6±2,1[1-6,7]
	DE	2(7,7)	18±2,9[15-20]	2,3±1[1,5-3,2]
p		ns	<0,0001	ns

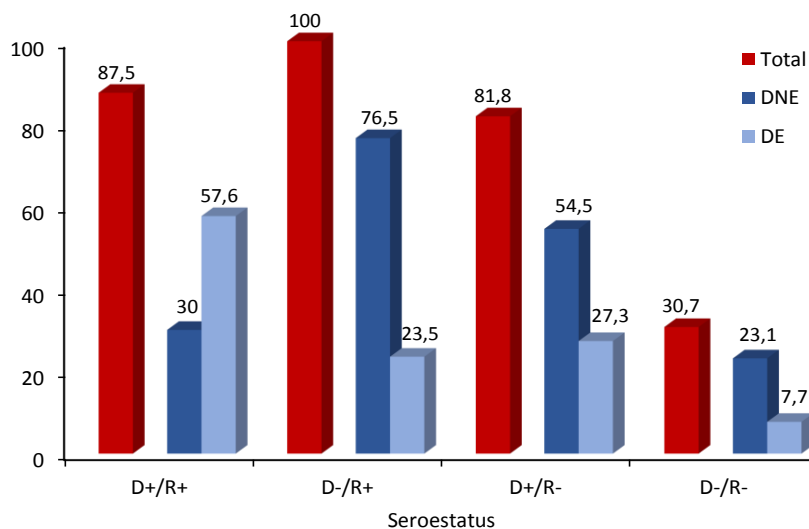


Figura 30. Distribución de viremias según seroestatus Donante/Receptor del CMV en función del tipo de trasplante recibido.

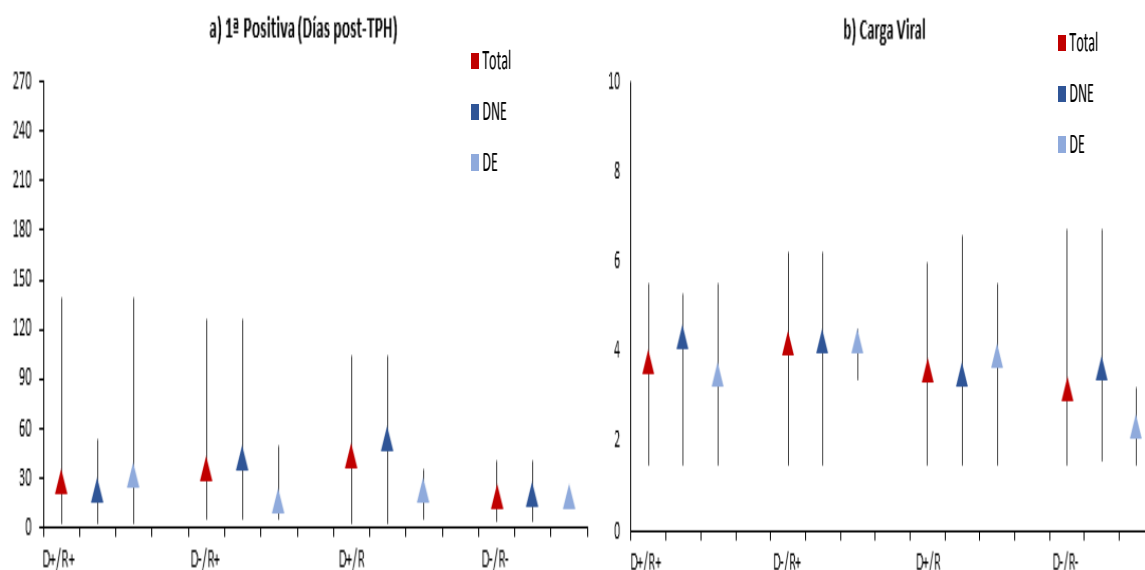


Figura 31. a) días post-TPH de la 1ª muestra y b) carga viral en log /ml sc, según seroestatus Donante/Receptor del CMV en función del tipo de trasplante recibido.

El CMV se detectó a los $19,3 \pm 10$ días en los D-/R- y a los $43,3 \pm 34$ días en los D+/R- ($p < 0,0001$)

CMV y prescripción de antiviral

Los resultados de la detección de la incidencia, primera viremia (en días post-TPH) y carga viral (log/ml sc), según el TPH aparecen reflejados en la Tabla 16.

Tabla 16. Viremia de CMV según tipo de trasplante y la utilización de antiviral.

	Total (%)	1ªPos	Cvmáx (log)
Tratamiento n=16		$18 \pm 15,5 [2,5-54]$	$4,40 \pm 1,3 [1,5-6,6]$
DNE	11 (15,7)	$21,8 \pm 17,3 [2,5-54]$	$4,5 \pm 1,5 [1,5-6,6]$
DE	5 (7,1)	$9,93 \pm 5,9 [5,3-20]$	$4,2 \pm 0,68 [3,4-4,9]$
No tratamiento n=54		$36,7 \pm 33 [2,5-139]$	$3,6 \pm 1,3 [1,5-6,2]$
DNE	27(38,5)	$41 \pm 33,5 [2,5-126]^*$	$3,8 \pm 1,5 [1,5-6,2]$
DE	27(38,5)	$31,8 \pm 34 [2,5-139]^*$	$3,4 \pm 1,22 [1,5-5,5]$
p		0,032	0,044

* $p < 0,0001$

De los 38 DNE con viremias, 11 (33%) precisaron tratamiento antiviral frente a los 5 (15%) de los DE ($p < 0,0001$) (Figuras 32 y 33).

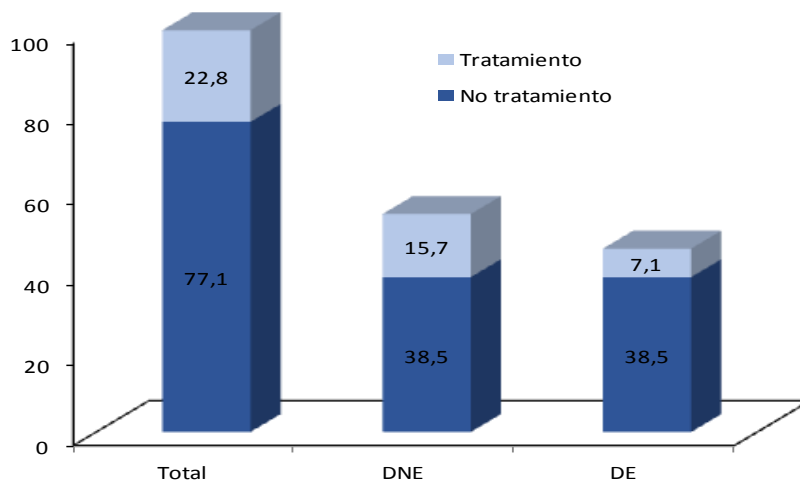


Figura 32. Viremias de CMV según tipo de trasplante en función del tratamiento.

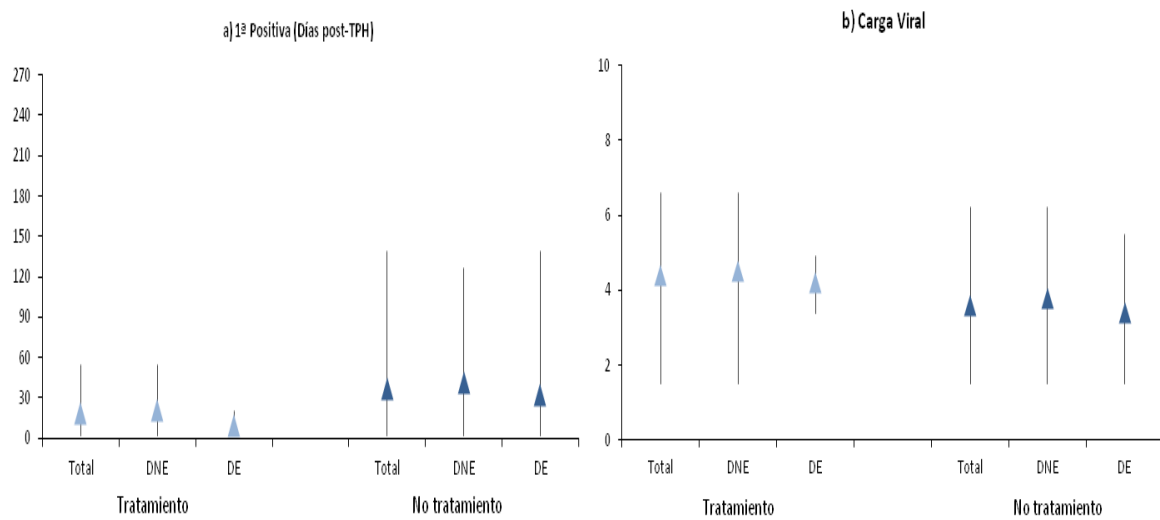


Figura 33. a) días post-TPH de la 1ª muestra y b) carga viral en log /ml sc, según tipo de trasplante y tratamiento.

Mientras en los pacientes en los que se dispensó tratamiento, la viremia del CMV comenzó a los $18 \pm 15,5$ días, en los que no fueron tratados apareció a los $36,7 \pm 33$ días ($p=0,032$) y la carga viral de los primeros alcanzó los $4,40 \pm 1,3$ log frente a los $3,6 \pm 1,3$ log de los segundos ($p=0,044$).

4.4.2 Viremias de los virus protocolizados en función del tipo de trasplante

Si se analizan las tasas de replicación de los virus protocolizados en función del tipo de trasplante obtenemos los resultados para las tasas de incidencia, primeras viremias y carga viral reflejados en la Tabla 17 y Figura 34 y 35. No se encontró replicación positiva de VHS2 ni de VHH8 en las muestras analizadas.

Como se comentó anteriormente, el número de pacientes que recibieron un trasplante haploidéntico se analizaron en conjunto con los donantes emparentados.

Tabla 17. Detección, días post-TPH y carga viral (medida en log/ml sc de CMV, VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en función del tipo de trasplante DNE (n=48) y DE (n=49).

Virus	Tipo TPH	Total (%)	1ªPos	Cvmáx (log)
CMV		70 (72,16)	32,4±31[2,4-139]	3,8±1,4[1,5-6,36]
	DNE	38 (79,1)	35,8±30[2,4-126]	4±1,5[1,5-6,8]
	DE	31 (63,2)	29±32[2,4-139]	3,5±1,1[1,5-5,5]
VEB		68 (70,1)	54,6±41[2,4-155]	3,9±0,9[0-6]
	DNE	37 (77,1)	59,45±43[32-158]	4±0,9[2-6]
	DE	31 (63,2)	48,7±39,5[3-140]	3,8±0,9[3-6]
ADV		9 (9,3)	106±46[21-161]	1,2±0,45[0,6-1,8]
	DNE	5 (10,4)	129±20[110-161]	1,54±0,25[1,3-1,8]
	DE	4 (8,2)	77±54[21-152]	0,85±0,33[0,6-1,3]
BK		13 (13,4)	111±50[31-184]	2,07±1[0,6-4,2]
	DNE	5 (10,4)	118±37[88-184]	1,64±1[0,6-3,3]
	DE	8 (16,3)	94±52[31-178]	2,03±0,94[1,3-4,2]
JC		8 (8,2)	94±66[21-178]	1,65±0,5[0,9-2,1]
	DNE	2 (4,2)	(31 / 32)	(1,8 / 2,1)
	DE	6 (12,2)	114±63[21-178]	1,55±0,5[0,9-2,1]
PVB19		22 (22,7)	82±52[22-177]	2,5±1,6[0,6-7,7]
	DNE	13 (13,40)	87±61[22-163]	2,3±1,16[0,9-5,4]
	DE	9 (9,27)	76±39[28-120]	2,95±2[0,6-7,8]
VHH6		38 (39,1)	70±44[20-186]	1,45±0,96[0,6-6]
	DNE	18 (37,5)	73±49[21-152]	1,4±0,5[0,6-2,1]
	DE	19 (38,7)	67±42[20-186]	1,47±1,27[0,6-6]
VHH7		53 (54,6)	83,6±49[20-175]	1,78±0,61[0,6-3,3]
	DNE	27 (56,2)	95±55[20-175]	1,78±0,6[0,6-2,4]
	DE	25 (51,1)	72±40[21-166]	1,75±0,63[0,9-3,3]
VHS1		13 (13,4)	113±49[21-179]	1,6±0,83[1-3,6]
	DNE	6 (12,6)	106±44[54-176]	1,3±0,7[1-2,7]
	DE	7 (14,3)	120±55[21-179]	1,8±0,9[1-3,6]
VVZ		10 (10,3)	103±51[32-177]	1,46±0,52[1-2,7]
	DNE	5 (10,4)	82±51[32-166]	1,25±0,26[1-1,5]
	DE	5 (10,2)	(> 54)	1,7±0,76[1-2,7]

DNE: Donante no emparentado.

DE: Donante emparentado.

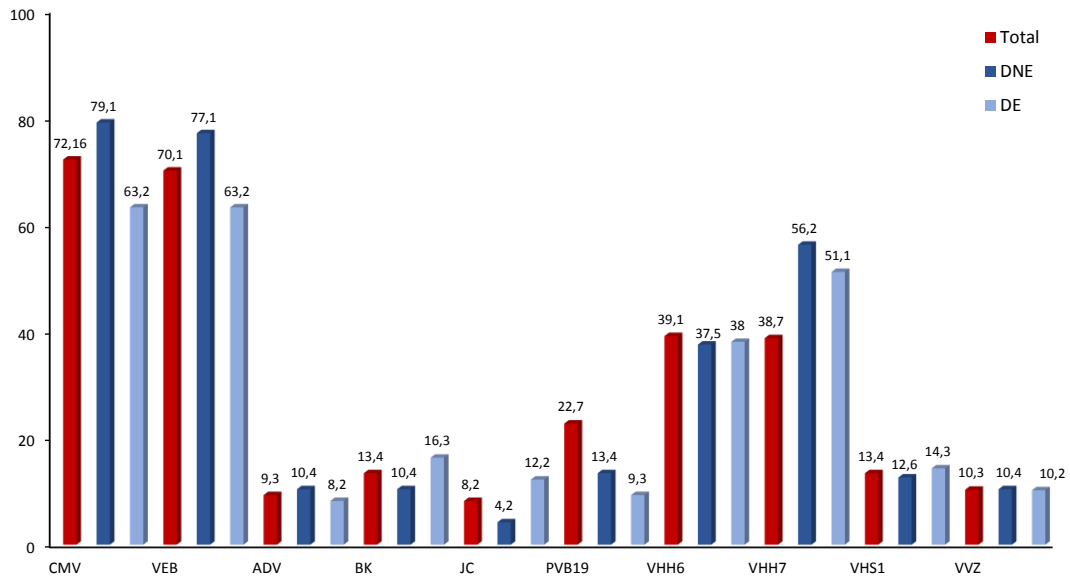


Figura 34. Tasa de detección de otros virus, CMV y VEB en seguimiento protocolizado en función del tipo de trasplante.

Las tasas de incidencia más altas fueron del VHH6 (39.1%) y VHH7 (54.63%). También cabe destacar la incidencia del PVB19 con un 22.68%. El resto de los virus presentaron una tasa de detección por debajo del 13%. No se encontraron diferencias significativas según el tipo de TPH recibido.

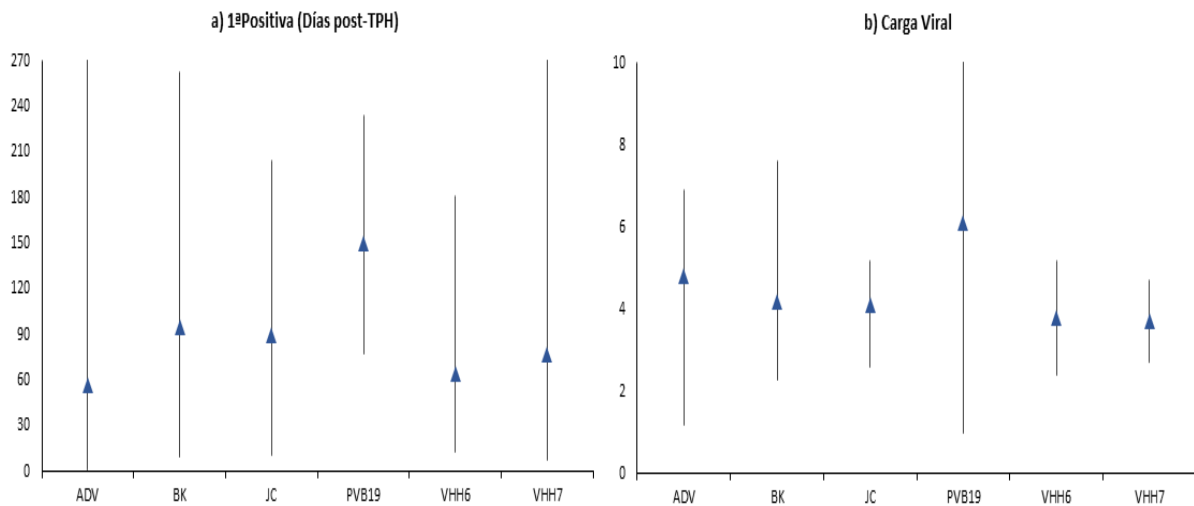


Figura 35. a) días post-TPH de la 1ª muestra positiva y b) carga viral en log /ml sc, de otros virus buscados en los TPH de forma protocolizada.

Se pudo comprobar que, en general, todos los virus aparecieron después de 70 días post-TPH y las cargas virales estudiadas fueron bajas, salvo en el PVB19 donde la media observada fue de $2,5 \pm 1,6$ log/ ml sc (rango 0,6-7,7).

Viremias de los virus protocolizados en presencia de EICR

Se estudió la posible influencia que la EICR pudiera tener en la replicación de todos los virus analizados. Se valoraron los datos de 91 pacientes, de los cuales 30 presentaron EICR y 61 no presentaron clínica compatible con la enfermedad. En 6 pacientes no se registraron datos o presentaban clínica dudosa no filiada. Los datos obtenidos se pueden apreciar en la Tabla 18 y en las Figuras 36 Y 37.

Tabla 18. Viremias en función de la presencia de EICR (n=30) o no EICR (n=61).

Virus (n=91)		Total (%)	1ªPos	Cvmáx (log)
CMV (n=68)	EICR +	19(63,4)	33,1±21,5[22,6-43,4]	4,7±1[4,2-5,2]
	EICR-	49(80,3)	31,4±33,8[21,7-41,1]	3,4±1,3[3-3,9]
VEB (n=65)	EICR +	21 (70)	49,9±32[35-64]	4,2±0,9[3,7-4,6]
	EICR-	44 (72,1)	56,4±44,9[42,7-70]	3,8±0,9[3,5-4,1]
ADV (n=9)	EICR +	5 (16,7)	123,4±30,6[85,3-161,4]	1,4±0,4[0,78-2]
	EICR-	4 (6,5)	85,4±57,4[28,7-176]	1±0,3[0,5-1,6]
BK (n=13)	EICR +	4 (13,3)	100,3±62,9[31,4-200]	2,1±1,6[0,8-4,7]
	EICR-	8 (13,1)	126,1±39[93-158]	2,0±0,7[1,4-2,7]
JC (n=7)	EICR +	3 (10)	79,1±63,7[36,7-237]	1,8±0,3[0,2-2,5]
	EICR-	4 (6,5)	120±71[7-234]	1,5±0,7[0,4-2,6]
PVB19 (n=21)	EICR +	4 (13,3)	101,9±56,6[11,9-192]	4,2±2,9[1,4-8,8]
	EICR-	17 (27,8)	73±49,7[47,5-98,6]	2,2±0,9[1,8-2,7]
VHH6 (n=33)	EICR +	10 (33,3)	73±21[35-111,2]	1,5±0,7[0,9-1,9]
	EICR-	23 (37,7)	72±42[53-90,6]	1,4±1,1[0,9-1,9]
VHH7 (n=47)	EICR +	13 (43,4)	92,5±51[61-123]	1,5±0,6[1,1-1,9]
	EICR-	34 (55,7)	80,4±50,3[62-98]	1,8±0,6[1,6-2]
VHS1 (n=11)	EICR +	4 (13,3)	100,7±69[34-211]	2,1±1,2[0,1-3,9]
	EICR-	7 (11,4)	118,9±55[67,2-170]	1,4±0,6[0,8-2]
VVZ (n=8)	EICR +	2 (6,7)	-	-
	EICR-	6 (9,8)	-	-

p(CMV EICR+/EICR-)= 0,0006 p(PBV19 EICR+/EICR-)=0,02

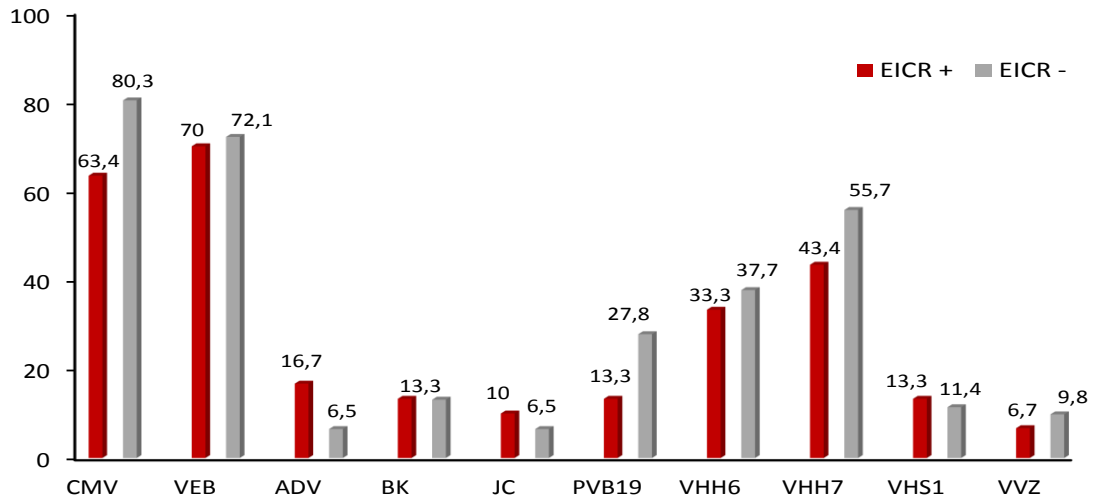


Figura 36. Distribución de viremias en función de la presencia (EICR+) o no (EICR-) de la EICR.

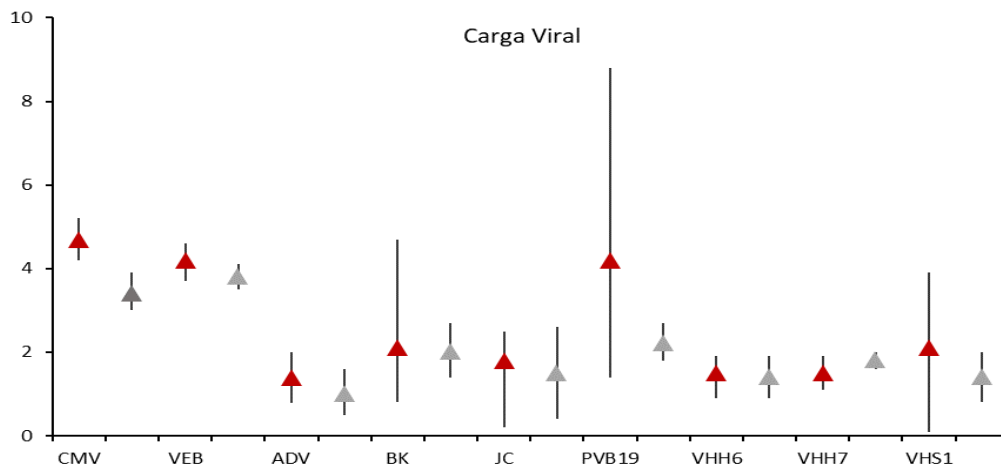


Figura 37. Carga viral en log /ml sc, de otros virus buscados en los TPH de forma protocolizada en función de la presencia de EICR.

En la mayoría de los virus, en lo que refiere a la incidencia y aparición de la viremia no se encontraron diferencias en función de que el paciente presentara EICR. Pero si se observaron diferencias significativas en la carga viral para el CMV ($p=0,0006$) y el PVB19 ($p=0,02$), siendo estas más altas si la viremia ocurrió en presencia de la EICR.

Relación con el CMV

Se analizó como era la replicación del VEB y el resto de los virus cuando se detectaba CMV en el post-TPH. Los resultados obtenidos para la tasa de detección de VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en presencia de replicación por CMV y en función del tipo de trasplante se reflejan en la Tabla 19 y Figuras 38 y39.

Tabla 19. Tasa de detección de VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en presencia de replicación de CMV (n=70) y no replicación de CMV (n=27).

Virus		Total (%)	1ºPos	Cvmáx (log)
VEB	CMV+	56 (80)	53,4±40,8[3-155]	3,87±0,87[2-6]
	CMV-	12(44,4)	59,9±46[2-152]	4±1,08[3-6]
ADV	CMV+	8(11,4)	112±51[21-161]	1,22±0,49[0,6-1,8]
	CMV-	1(3,7)	58	1,3
BK	CMV+	8(11,4)	135±36[88-184]	2,2±1,3[0,6-4,2]
	CMV-	5(18,5)	73±47[31-152]	1,84±0,6[1,3-2,7]
JC	CMV+	4(5,7)	102±77[31-178]	1,75±0,51[0,9-2,1]
	CMV-	4(14,8)	85,9±58[21-151]	1,57±0,5[0,9-2,1]
PARVO	CMV+	19(27,1)	83±51[22-177]	2,6±2[0,6-7,7]
	CMV-	3(11,1)	76±67[31-166]	2,3±1,16[1,2-3,6]
VHH6	CMV+	22(31,4)	69±44[20-152]	1,5±1,4[0,6-6]
	CMV-	16(59,3)	70±47[21-186]	1,3±0,7[0,6-2,4]
VHH7	CMV+	37(52,9)	88±54[20-175]	1,76±0,64[0,6-3,3]
	CMV-	16(59,3)	73±37[28-140]	1,8±0,7[0,9-3,3]
VHS1	CMV+	7(10)	108±64[21-176]	1,4±0,76[1,0-2,7]
	CMV-	6(22,2)	110±55[31-180]	1,87±1,1[1-3,6]
VVZ	CMV+	4(5,7)	96±51[54-177]	-
	CMV-	6(22,2)	108±52[32-173]	-

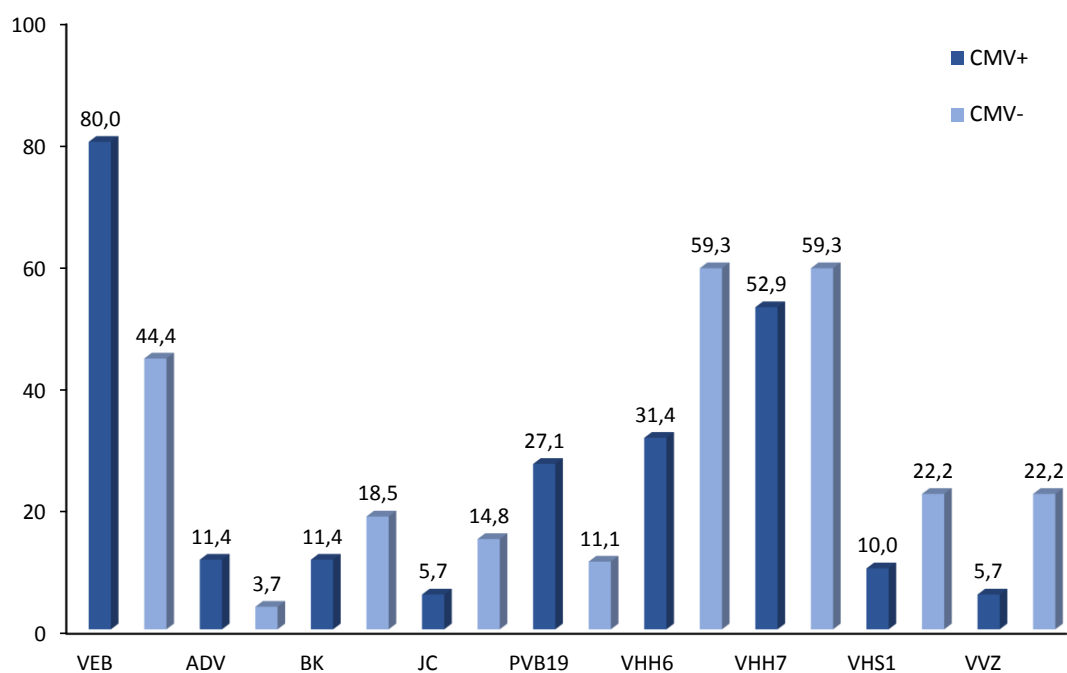


Figura 38. Tasa de detección de VEB y otros virus en seguimiento protocolizado en presencia de replicación de CMV.

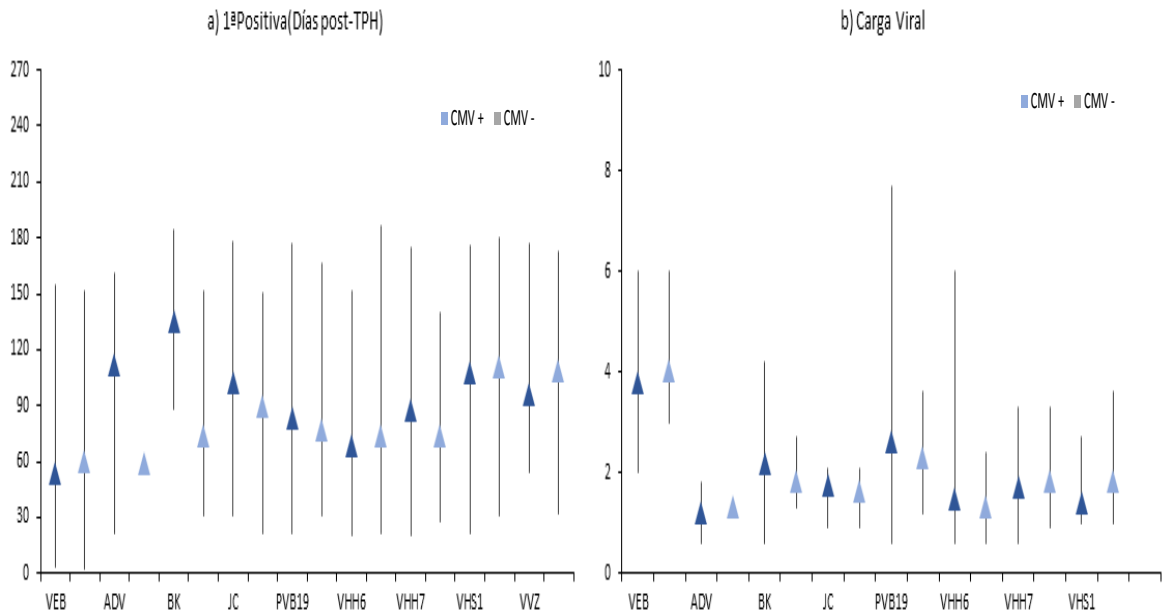


Figura 39. Días post-TPH y Carga viral (medida en log/ ml sc) en presencia de replicación de CMV.

El VHH6 apareció en 22 (31,4%) de los pacientes con CMV y en 16 (59,3%) sin CMV. Por su parte, el VEB se encontró en 56 (80%) con replicación de CMV y en 12 (44,4%) sin replicación ($p < 0,0001$).

4.5. SARS-COV-2 EN PACIENTES TRASPLANTADOS

4.5.1 Estabilidad del ARN viral en purificados de muestras clínicas para el diagnóstico viral

Como se describió en Material y Métodos 67 muestras fueron sometidas al proceso diagnóstico habitual en el laboratorio para virus de ARN enterovirus (ETV) (n=53), parainfluenzavirus (PIV) (n=11) e influenza A (IA) (n=3) y se realizó un estudio para evaluar la integridad del ARN viral de muestras clínicas tras su almacenaje a 4°C después de un periodo de tiempo de trabajo estándar (7-10 días) y la posible aplicación de un inhibidor para evitar su degradación.

A los 10 días, a las 2 alícuotas almacenadas se les volvió a realizar la misma PCR y se compararon los ciclos de amplificación (Ct). Se analizaron los datos según los grupos establecidos por su Ct (< 20, 20-25 y 25-35 ciclos) y el tipo de virus. Las Tablas 20 y 21, así como la Figura 40 muestran los resultados obtenidos.

Tabla 20. Resultados de los Ct en cada uno de los protocolos y media según el tipo de virus.

		Estándar	Con inhibidor	Sin inhibidor	
VIRUS	IA (n=3)	28,67 ± 4,16[24-32]	28,34 ± 3,78[24-31]	28,67 ± 5,13[23-33]	
	PIV (n=11)	23,54 ± 5,80[15-30]	24,09 ± 5,75[17-31]	24,18 ± 5,87[17-32]	ns
	ETV (n=53)	22,13 ± 4,12[12-29]	22,79 ± 5,53[11-36]	23,00 ± 5,25[12-34]	
Total		24,78±3,44[21-28]	25,07±2,37[22-27]	25,28±2,44[22-27]	ns

ETV: enterovirus; IA: Influenza A virus; PIV: Parainfluenza virus; ns: no significativo

Tabla 21. Rendimiento de las muestras de dilución ensayadas.

n=67		Estándar	Con inhibidor	Sin inhibidor	p
Ciclos amplificación (Ct)	Ct: <20	18	20	17	
	Ct: 20-25	31	25	29	ns
	Ct: >25	18	22	21	
Rendimiento	Mejora		7 (10,4%)	4 (5,9%)	
	Ct: <20/20-25/>25		(-/4/3)	(-/1/3)	
	Igual		51 (76,1%)	57 (85,1%)	ns
	Ct: <20/20-25/>25		(16/20/25)	(18/24/25)	
	Empeora		9 (13,4%)	6 (8,9%)	
	Ct: <20/20-25/>25		(2/7/-)	(-/6/-)	

Ct: Ciclo threshold (límite de lectura)

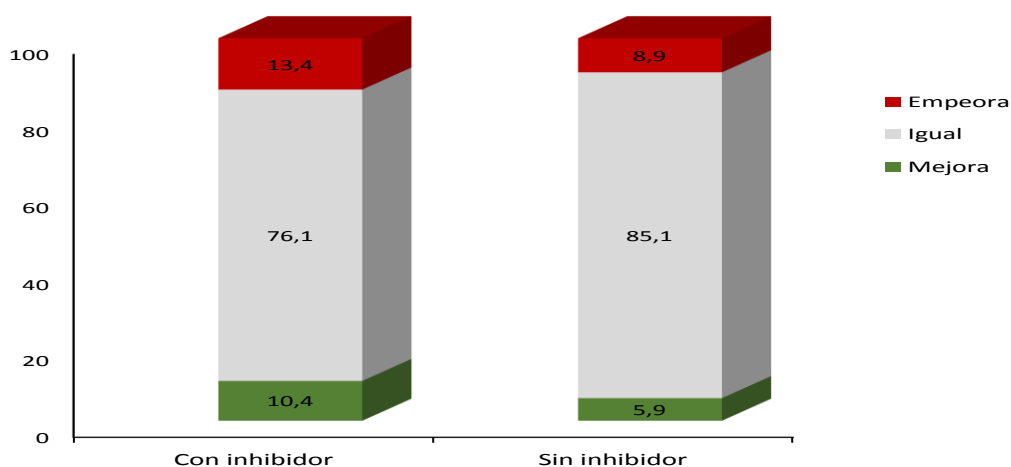


Figura 40. Rendimiento de las muestras de dilución ensayadas.

Como se puede observar en la Figura 40, no se encontraron diferencias significativas en el uso de un inhibidor para el tratamiento de las muestras en el periodo de trabajo de las mismas.

4.5.2 Características de la replicación del SARS-CoV-2

Como se comentó en el apartado de Material y Métodos, se analizaron 4.166 exudados nasofaríngeos de 817 pacientes procedentes del Servicio de Hematología, para la detección de SARS-CoV-2 que se clasificaron en tres grupos: grupo TPH-COVID (n=99), grupo TPH-PRECOVID (n=216) y grupo CONTROL (n=502).

De los 817 pacientes, 148 (18,11%) fueron positivos para SARS-CoV-2. La incidencia, tiempo de replicación así como los episodios de infección por SARS-CoV-2 para los tres grupos se muestran en la Tabla 22 y Figura 41.

Tabla 22. Incidencia, tiempo de replicación y carga viral de SARS-CoV-2 de los tres grupos establecidos y nº de distribución según el número de episodios de infección.

	TPHCOVID (%) n=99	TPH-PRECOVID (%) n=216	CONTROL (%) n=502	P
Episodio 1º (%)	16(16,1)	42(19,4)	101(20,1)	0,008
esporádico/<15 días		35 (16,2)	93 (18,5)	ns
>15 días		7 (3,2)	8 (1,5)	ns
CV_{máxima}(log)	6,8±1,80	7,87±1,45	7,43±1,70	<0,0001
Episodio 2º (%)		9(4,16)	6(1,12)	ns
esporádico/<15 días		7 (3,2)	6(1,12)	
>15 días		2 (0,9)	-	ns

t_R : tiempos de replicación, entre paréntesis se reflejan los días de duración.

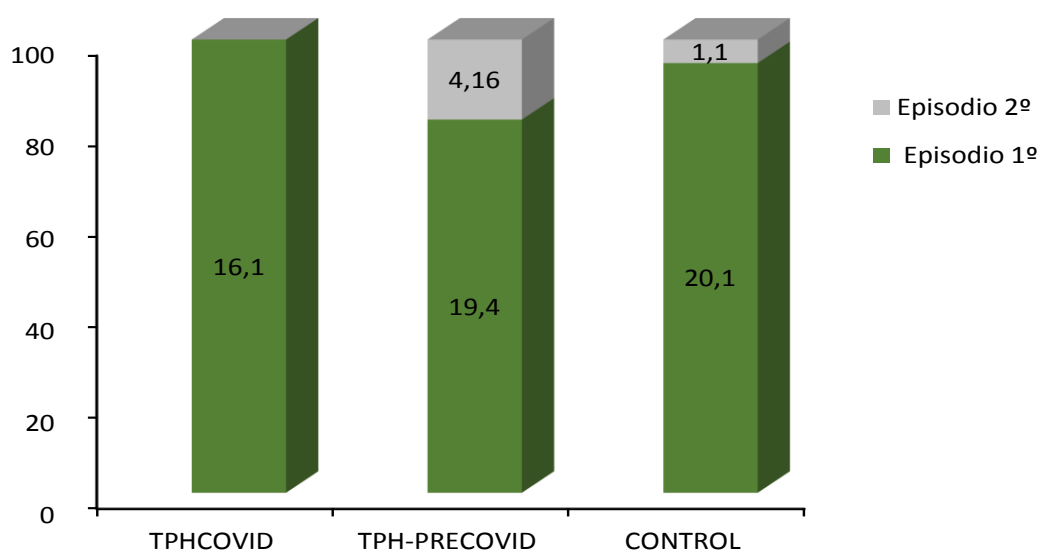


Figura 41. Presencia de episodios según los grupos de pacientes establecidos.

Los pacientes que presentaron replicación viral de más de 15 días fueron 17 (11,4%) de los 148 y se reinfectaron 15 (10,1%).

La presencia de un segundo episodio de replicación se detectó en 9 pacientes del TPH-PRECOVID y 6 del grupo CONTROL, no se observó la presencia de segundos episodios en los pacientes del grupo TPH-COVID.

A la vista de los resultados epidemiológicos en las temporadas estudiadas se decidió estratificar los pacientes en cuatro grupos de edad: menores de 15 años, entre 15 y 39 años, entre 40 y 64 y mayores de 65 años (Tabla 23 y Figura 42).

Tabla 23. Incidencia de SARS-CoV-2 según la edad.

Edad (años)	TPH-COVID (n=99)	TPH-PRECOVID (n=215)	CONTROL (n=502)	p
<15 a	0 / 3 (0,00)	1 / 3 (33,3)	8/35 (22,8)	ns
15-39 a	1/19(5,26)	5/24(20,8)	12/71 (16,9)	
40-64 a	10/37(27,03)	12/93(12,90)	20/121 (16,53)	
>65 a	5/40(12,50)	19/95(20,00)	55/275 (20)	

Los datos de los menores de 15 años son muy pocos, por lo que no se puede valorar adecuadamente, aunque se expresan en la Figura 42.

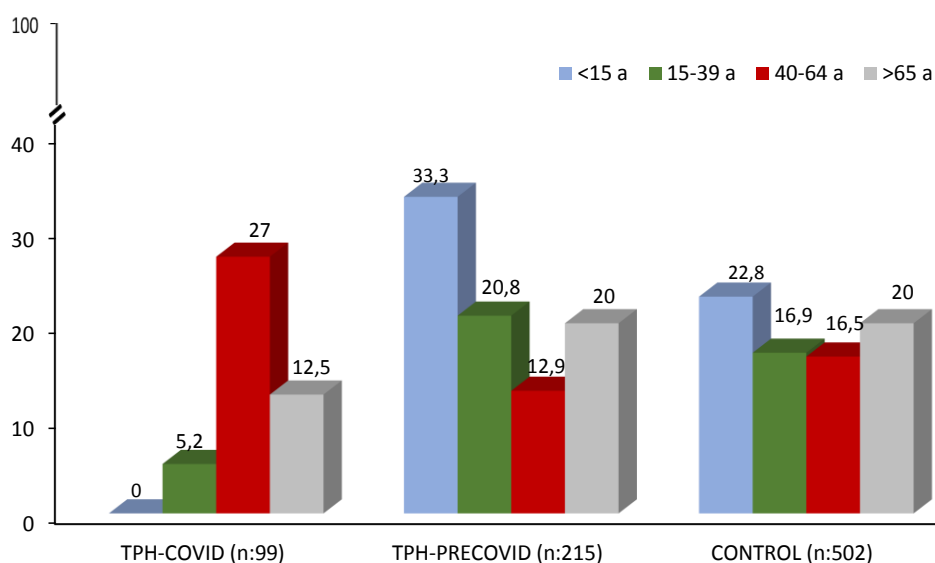


Figura 42. Incidencia de SARS-CoV-2 según la edad.

No se encontraron diferencias significativas por edad en ninguno de los grupos establecidos.

Finalmente se comprobó cuando ocurrieron las infecciones por SARS-CoV-2. La Tabla 24 y la Figura 43 muestran la distribución por meses de la tasa de infección (en %) de los tres grupos de pacientes.

Tabla 24. Incidencia de SARS-CoV-2 por mes en los años de pandemia.

	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic
2020												
TPH-COVID	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/12 (8,3)
TPH-PRECOVID	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	2/36(5,6)	0
CONTROL	-	-	0	0	0	0	0	0	0	1/40(2,5)	3/64(4,7)	3/74(4,1)
2021												
TPH-COVID	0	0	0	1/13(7,7)	0	0	0	0	0	0	0	2/14(14,3)
TPH-PRECOVID	3/41(7,3)	1/44(2,4)	1/38 (2,6)	1/35(2,8)	0	0	1/37(2,7)	0	1/31(3,2)	0	0	1/45(2,2)
CONTROL	2/64(3,1)	3/58(5,2)	0	2/53(3,7)	0	0	2/47(4,2)	1/54(1,8)	0	1/47(2,1)	1/63(1,6)	6/65(9,2)
2022												
TPH-COVID	4/21(19,1)	2/12(16,6)	0	3/14 (21,4)	0	1/6(6,2)	2/9(22,2)	0	0	0	0	0
TPH-PRECOVID	6/41(14,6)	4/44(9,1)	3/40(7,5)	7/32(21,8)	2/29(6,9)	3/30(10)	6/28(21,4)	2/24(16,7)	0	2/13(15,4)	2/13(15,4)	3/13(23,1)
CONTROL	15/65(23,1)	10/63(15,9)	10/72(13,9)	9/59(15,2)	13/68(19,1)	10/54(18,5)	8/39(20,5)	4/35(11,4)	2/28(7,1)	4/28(14,3)	3/30(10)	3/37(8,1)

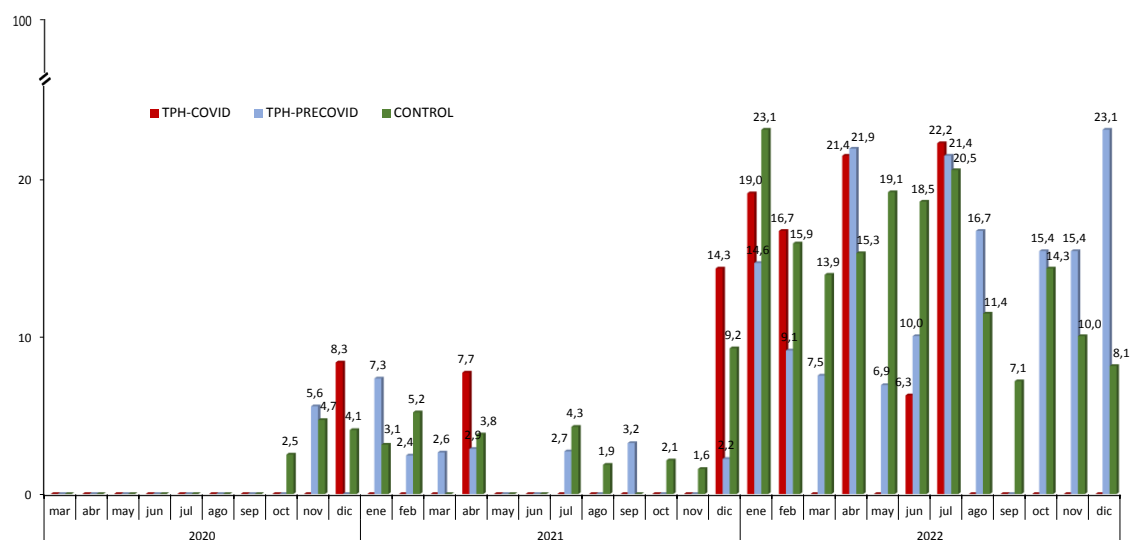


Figura 43. Estacionalidad del SARS-CoV-2 en las tres temporadas de pandemia.

Se observó que el virus no circuló entre estos pacientes hasta octubre del 2020, el pico de máxima detección aparece en los tres grupos en el año 2022, aunque en el grupo COVID la detección fue menor que en los otros dos.

“Y me busco en la memoria el rincón donde perdí la razón...”

Cuarto movimiento, la realidad

El trasplante de progenitores hematopoyéticos provoca un estado de inmunosupresión severo y prolongado debido esencialmente a dos factores inherentes al mismo. Primero por el procedimiento del TPH, ya que el sistema inmune debe ser reconstituido de manera escalonada y segundo por las diversas complicaciones propias que contribuyen al agravamiento de la inmunosupresión. Las complicaciones infecciosas de cualquier etiología (fúngica, bacteriana o vírica) son las consecuencias del sistema inmunitario deficiente. El avance en el diagnóstico de las infecciones ha hecho que el manejo precoz de las mismas mejore considerablemente la calidad de vida y disminuya la morbilidad y mortalidad de los pacientes TPH (Ljungman P. et al., 2008).

Los virus representan un riesgo continuo debido a la condición innata del trasplante (limitación de la inmunidad celular) y, hasta la fecha, a la carencia de antivirales efectivos que se puedan utilizar como profilaxis. Conocer los diferentes factores de riesgo, como el seroestatus pre-trasplante de donante y receptor, el tipo de trasplante, la enfermedad injerto contra receptor (EICR) y las complicaciones infecciosas, permiten individualizar las estrategias de prevención de la enfermedad que causan los diversos virus, así como aplicar estrategias de profilaxis y/o tratamiento anticipado, para tratar la infección antes del desarrollo de enfermedad (Boeckh M. et al., 2003; Locatelli F. et al., 2016).

Las infecciones virales más frecuentes en los TPH son las producidas por los agentes del grupo Herpesvirus y dentro de ellos los más relevantes clínicamente son la infección por CMV, por VEB y por VHS1. Su característica principal de mantenerse latentes en el organismo una vez ocurrida la primoinfección, representa un peligro potencial, sobretudo en pacientes con alteración de la inmunidad como son lo TPH. Y estas reactivaciones pueden conllevar enfermedades graves e incluso la muerte del paciente. Fan J. et al., 2016; Styczynski J. et al., 2018).

Aunque CMV y VEB siguen siendo los agentes infecciosos principales y controlados con un protocolo clínico-virológico en el post-TPH, los avances tecnológicos han permitido identificar y cuantificar otros virus latentes de importancia clínica: Adenovirus, Poliomavirus BK y JC, virus Herpes Humano tipo 6, virus Herpes Humano tipo 7, parvovirus, virus Herpes Simple tipo 1, virus Herpes Simple tipo 2 o virus Varicela-Zoster.

En el HUCA, los TPH experimentaron un considerable avance al final de la primera década de este siglo cuando se impulsó una Unidad específica que se dotó con medios y personal capacitado suficiente.

En el presente trabajo se pretendió conocer el alcance de la infección de los virus anteriormente mencionados en los TPH, así como analizar los posibles factores que afectan a su replicación, según los datos recogidos en la sección de Virología del HUCA en la última

década, basándose en el seguimiento clínico-viroológico de la Unidad anteriormente mencionada.

Los resultados han sido analizados considerando primeramente la infección y/o enfermedad por CMV y VEB, así como la relación entre ellos. Posteriormente se han analizado los datos correspondientes a otros virus en seguimiento oportunistas y finalmente se han evaluado los virus en un seguimiento protocolizado.

La fase final de estudio de los datos de esta tesis coincidió con la aparición del SARS-CoV2, su diseminación mundial y la declaración de la pandemia, que afectó, en mayor o menor medida todo tipo poblaciones. Esta circunstancia obligaba a incluir un apartado final para conocer el alcance de la infección por el virus en el grupo de TPH.

Infección por CMV en el TPH

El CMV continúa siendo la principal preocupación (dentro del ámbito de las infecciones) en los pacientes que han recibido un trasplante de progenitores hematopoyéticos.

La primoinfección por CMV suele ocurrir en la infancia y generalmente es asintomática en personas inmunocompetente. Una vez resulta esa infección, como todos los Herpesvirus, permanece en estado de latencia en las células que infecta. En la actualidad se estima que el 60-70% de la población ha estado en contacto con el virus y ha producido la respuesta inmune correspondiente. Esta seroprevalencia aumenta progresivamente con la edad (Ory M. et al., 2001; Styczynski J., 2018).

Las circunstancias que se presentan en el post-TPH favorecen que el CMV pueda pasar de su estado de latencia a producir una infección con enfermedad asociada. Su reactivación después de un TPH alogénico, puede llevar a enfermedades graves, con una mortalidad importante (Griffiths PD et al., 2009; Sellar RS. Et al., 2015; Smedbraten YV et al., 2014).

De hecho, la infección por CMV es la infección viral más frecuente y con mayor morbi-mortalidad en este tipo de pacientes. Su incidencia oscila entre el 30% y el 70% (Auger et al., 2014; Ljungman et al., 2019; Styczynski et al., 2016; Teira et al., 2016). Esta variabilidad se puede explicar por factores como las características del donante y receptor, los tipos de inmunosupresores utilizados o el momento del post-TPH analizado. Incluso pueden influir en estas variaciones el tipo de técnica diagnóstica que se utilice, aunque en la actualidad todas ellas se basan en la detección/cuantificación genómica por su alta sensibilidad y especificidad (Sanbonmatsu S. et al., 2014).

En este estudio de casi 10 años, la incidencia de infección por CMV global alcanzó casi el 70%, en el margen superior del valor umbral según se puede comprobar en distintos

estudios y en los resultados de distintas sociedades científicas como la SEIMC (Torre-Cisneros J, et al., 2005). Hay que tener en cuenta que la edad media de los pacientes era de 45 años, donde la prevalencia es relativamente alta.

Como se comentaba anteriormente, uno de los factores que pueden aumentar la incidencia de replicación viral es la procedencia de los progenitores hematopoyéticos: los donantes no emparentados favorecen la infección (Styczynski J. et al., 2018). No fue el caso en este estudio.

Otra característica que podía influir en la infección por CMV era el estado serológico del donante y del receptor (Fagundo J. et al., 2021). El estado serológico de donante y receptor es el principal factor de riesgo de infección por CMV en el trasplante alogénico, especialmente cuando el receptor es positivo, independientemente del tipo de trasplante (Cesaro S. et al., 2018; Cho BS et al., 2013; George B. et al., 2012; Luo et al., 2014; Morayta E. et al., 2018).

Estos argumentos se corroboran con los datos de este trabajo, donde la reactivación/infección de CMV se constata en 52 de los 57 receptores seropositivos y sólo en 17 de los 37 receptores seronegativos.

En el caso de los pacientes de riesgo alto-intermedio, cuando el CMV latente se reactiva, el sistema inmune no tiene memoria frente al CMV y como vemos en nuestro estudio la incidencia es alta. En los pacientes de riesgo intermedio, con donante seropositivo para el CMV, los linfocitos memoria CMV específicos hacen que aunque la respuesta sea deficitaria pero más eficaz que si no hubiera memoria inmunológica, lo que se comprueba con una incidencia algo menor, pero no significativamente. La diferencia significativa se observa en la incidencia de receptores seronegativos que reciben progenitores de donantes también seronegativos.

Cuando se analizaron estas variables en un grupo de pacientes controlados, tampoco se observaron diferencias notables entre los grupos.

Variables como la edad o el sexo también pueden favorecer en alguna medida a la replicación del CMV. En términos globales, tampoco estas variables influyeron en la infección.

Como el manejo de los pacientes pudo cambiar en más de una década del estudio, se estratificaron los pacientes por temporadas. En los datos globales se observa un descenso de la incidencia a medida que pasa el tiempo. La práctica continua y el mejor conocimiento de todos los procesos del trasplante redundan, obviamente, en un mejor manejo de los TPH y por consiguiente, en un descenso de las infecciones.

Esta disminución fue más acusada en los trasplantados más jóvenes. Sin embargo, el escaso número de este grupo no permite obtener conclusiones categóricas. Introducir otras variables en el estudio como el seroestatus o el tipo de trasplante como postulan otros autores

(Morayta-Ramírez A. et al; 2018) tampoco ayudaría a obtener nuevas conclusiones por el escaso número de pacientes.

En cualquier caso cabe señalar que la incidencia de la infección por CMV es alta pero dentro de los límites descritos y va descendiendo a medida que se adquiere experiencia.

En cuanto a la aparición de la infección, el CMV se detectó, por término medio, al mes y medio tras el trasplante, pero con una desviación grande y en un rango muy amplio. Si se tenían en cuenta los datos de los primeros cuatro meses, donde el virus provoca mayores problemas, la primera viremia se detectaba en el primer mes post-TPH, independientemente del sexo, la edad, el tipo de trasplante o la temporada de estudio. Esto se corresponde con los datos encontrados en general en la mayoría de los trabajos donde indican que la reactivación viral por CMV puede iniciarse en cualquier momento pero la mayor incidencia de reactivación e infección ocurre antes del primer mes (Fagundo J. et al., 2021). De hecho hay que reseñar que en 5 pacientes TPH la replicación empezó después de los 120 días de haber realizado el trasplante.

La replicación temprana del CMV se relacionó con los receptores seronegativos que recibían progenitores de un donante seronegativo y apareció incluso antes que en los grupos de mayor riesgo (receptores seropositivos), donde el CMV se detectó sobre el mes post-trasplante, como se indicaba antes. A pesar de esta precocidad en la viremia, en este grupo (D-/R-) la infección no presentaba altos índices de replicación.

La replicación del virus no fue homogénea en todos los pacientes. El tipo de episodio virémico se definió como continua o persistente, esporádica o por *blips* y puntual. El tipo de viremia podría usarse como marcador pronóstico, ya que quizás un análisis de la diversidad de la viremia por CMV podría ser útil como marcador auxiliar para estimar el riesgo de viremias prolongadas de CMV y poder adaptar de forma individualizada la estrategia de tratamiento anticipado.

La mayoría de los pacientes con replicación por CMV presentaron un episodio virémico continuo. Además esta circunstancia se relacionó con la detección precoz de la infección. Así pues, el control estrecho y continuo de la infección en el primer mes post-trasplante puede anticipar una actuación sobre el receptor que evite el mantenimiento de la infección y la gravedad de la misma.

Por otra parte, en el contexto del TPH alogénico, los *blips* suelen desarrollarse como primeros episodios de viremia por CMV en ausencia de tratamiento anti-CMV (Huntley D. et al., 2020). Se sabe muy poco sobre la incidencia y la evolución virológica de este tipo de episodios en el contexto del TPH alogénico y lo que es más importante, sobre su efecto en los

resultados clínicos (Lodding, I. et al., 2020). La acumulación de *blips* sugiere una replicación intermitente de bajo nivel y, es prudente confirmar la replicación en curso, para iniciar o no tratamiento antiviral, ya que se ha documentado que los episodios aislados de viremia se producen con bastante frecuencia en el alo-TPH y según diversos autores se pueden asociar a fracaso inmunitario o aparición de resistencias a antivirales.

En este estudio observamos que sólo 42 (alrededor del 20%) presentaron viremias esporádicas o puntuales, 27 de los cuales lo hicieron de manera puntual (12 antes de los dos meses y 15 después de los tres meses post-TPH) y en la mayoría estos episodios aparecieron de forma tardía. Pero, dado que el número de pacientes que replican de manera esporádica con varios episodios no es bajo, quizás se debería ampliar la monitorización semanal en un periodo de días post-TPH más amplio, ya que estas viremias pueden ser marcadores importantes para una infección posterior (Lodding I. et al., 2020).

El tratamiento antiviral anticipado como estrategia terapéutica frente a CMV en los pacientes alo-TPH ha resultado ser eficaz en la reducción de enfermedad y los efectos adversos derivados de los fármacos anti-CMV actuales (principalmente mielotoxicidad). La monitorización virológica de CMV es la piedra angular que sustenta el tratamiento antiviral anticipado y diversos estudios sugieren, que un inicio temprano de la terapia adelantada, está asociado con una corta duración de la viremia y una menor mortalidad asociada.(Giménez E. et al., 2014; Tan SK. et al., 2017). Por tanto, existe la necesidad de establecer un criterio óptimo que permita identificar a aquellos pacientes que requieren la instauración de tratamiento anticipado para controlar la replicación de CMV.

Desde hace ya mucho tiempo el manejo de la infección por CMV no se puede realizar sólo con la presencia o ausencia del virus, sino que es necesario cuantificar dicha infección para conocer la cinética de crecimiento del virus. Incluso la OMS estableció en el año 2010 un estándar internacional expresado en unidades internacionales por mililitro (UI/mL) (Fryer JF. et al., 2016). Sin embargo, estos estándares han cambiado ya que, con las técnicas más sensibles utilizadas actualmente, las muestras de sangre completa presentan valores más precoces y más altos que la muestra de plasma, porque detecta tanto virus intracelulares (en leucocitos) como libres.(Abdul-Ali D. et al., 2011; Kraft CS. et al., 2012). Pero incluso se puede intentar dar afinar en esa detección y distinguir la cantidad de virus por leucocitos.

La infección por CMV al igual que el trasplante, evoluciona de manera escalonada y dinámica. En el TPH se pueden objetivar tres periodos: trasplante precoz (menos de 30 días post-TPH), intermedio (entre 30 y 90 días post-TPH) y tardío (más de 120 días post-TPH). En este estudio se modificaron esos periodos para contemplar el prendimiento o recuperación hematológica que ocurre a partir del día 10 o día 14 post-TPH, cuando empiezan a aparecer los primeros leucocitos, reticulocitos y plaquetas. Por eso se establecieron los análisis antes de los 15 días, entre 15 y 45 días y posteriores.

En el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), el tratamiento anticipado o *pre-emptive* es la principal estrategia utilizada para prevenir la enfermedad orgánica por CMV y el punto de corte para la instauración del tratamiento no se basa en el número de copias/ml de sangre completa, sino que se tiene en cuenta el número de leucocitos, lo cual permite iniciar el tratamiento en el momento correcto. En este estudio se pudieron comprobar las diferencias entre estos marcadores virales.

Cuando se analizó la carga viral medida en copias (log) por ml de sangre completa no se encontró ninguna diferencia entre los TPH en los periodos anteriormente mencionados. Sin embargo, cuando se hacía la corrección del contaje de virus por leucocitos se podía comprobar que la replicación era más activa en el primer periodo de aplasia (antes de 15 días post-TPH) y que esto reflejaba mejor la situación del paciente y permitía adoptar estrategias de terapia anticipada adaptada a las circunstancias de cada momento del TPH y de cada paciente.

Aplicando este criterio se observa que se instauró el tratamiento antiviral de manera precoz en aquellos pacientes con carga viral alta medida en copias (log) por leucos (log/ leu) y que luego no fue necesario, aplicando los protocolos establecidos. Estas diferencias no se hubiesen objetivado si se hubiese tenido en cuenta la carga viral por ml de sangre completa. Y se hubiese retrasado en al menos una semana la actuación sobre los pacientes si se hubiese utilizado una muestra de plasma (Gracia-Ahufinger I. et al., 2010; Lisboa LF. et al., 2011).

El tratamiento antiviral se instauró más frecuentemente en los donantes no emparentados que en los emparentados.

Si se analizan los datos de carga viral según el seroestatus, también se constató que era algo mayor en los pacientes de alto riesgo, aunque no se encontraron diferencias significativas.

Uno de los grandes problemas a los que se enfrenta el TPH es a la aparición de la EICR. Esta puede retrasar la reconstitución inmune CMV-específica post-TPH (Sellar RS. et al., 2015). Se han publicado datos controvertidos en cuanto a dicha relación (Akahoshi Y. et al., 2020; Gimenez E. et al., 2016). Estos resultados discrepantes podrían explicarse por las variaciones

entre estudios en varios parámetros, como las características clínicas de los pacientes, la naturaleza del régimen de profilaxis de la EICR empleado y, sobre todo, el método empleado para la monitorización del CMV. Pero un estudio reciente retrospectivo, observacional y multicéntrico de 632 pacientes sometidos a TPH alogénico de sangre periférica en 20 centros españoles con monitorización de la carga de ADN del CMV en plasma o sangre total, sugiere que los TPH presentaron un mayor riesgo de EICR tras la aparición de viremia por CMV. (Bueno F. et al., 2021).

En el presente estudio la EICR aconteció en uno de cada tres TPH y sí se observó una relación con una replicación más activa del CMV, con mayor carga viral.

Si la replicación del CMV representa un marcador de riesgo de riesgo o es un factor causal está fuera del alcance de estudios observacionales, pero plantea una importante vía de investigaciones futuras.

Una vez más, la carga viral se presenta como el mejor marcador para evaluar el estado del paciente.

Anteriormente se comentó que se observó replicación de CMV después de 120 días post-TPH en 5 pacientes. Este periodo se clasifica como post-trasplante tardío y comprende desde los 3 meses hasta prácticamente un año post-TPH: entre los 90 y los 180 días tiene lugar la reconstitución inmunitaria de las células T lo que es un factor importante relacionado con el riesgo de contraer infecciones; a partir de los 6 meses se inicia la reconstitución de los linfocitos B de manera lenta, que se puede prolongar entre 2 y 5 años después del trasplante. La infección tardía por CMV no se registra habitualmente. Boeckh et al (Boeckh M. et al 2009), constataron un aumento de infección tardía por CMV después de los 100 días del TPH, con unas tasas de incidencia que se sitúan entre el 4%-15% lo que se corresponde con lo encontrado en nuestro estudio (4,85%). Por su parte Vallejo M et al (Vallejo M. et al., 2018), observaron que reactivaciones posteriores al día 100 post-TPH se acompañaban de un retraso funcional en la reconstitución inmunológica. Otros autores destacan la importancia de realizar el diagnóstico en post trasplante tardío, ya que parece que el desarrollo de la enfermedad tardía tiene la misma mortalidad que en la forma precoz (Boeckh M. et al., 2003; Corre E. et al., 2010; Moins-Teisserenc H. et al., 2008).

En este estudio, la tasa de infección tardía por CMV era del 2%, algo inferior al que se mencionaba anteriormente, pero los TPH presentaban una carga viral alta, similar a la carga viral del primer periodo post-TPH, con lo que parece necesario mantener el control de la infección hasta el año post-trasplante, o, al menos, considerar su presencia ante disfunciones inmunológicas o clínicas compatibles.

Infección por VEB en el TPH

La reactivación del virus de Epstein-Barr también es frecuente en el post-TPH y puede causar complicaciones graves, como el trastorno linfoproliferativo postrasplante (Diop et al., 2012). Según los estudios publicados, la incidencia varía mucho, con cifras que van desde 0,1% hasta el 72,0% (Styczynski et al, 2016, Wei N. et al., 2021). Al igual que en la detección del CMV, variaciones tan importantes entre estudios podrían ser secundarias a las distintas técnicas utilizadas, así como de las características del donante y receptor, de los tipos de inmunosupresores utilizados y del momento del post-TPH analizado.

En este estudio, al igual que para el CMV, la incidencia del VEB vuelve a estar en el límite alto de lo publicado en la literatura, 68,75%, ratificando datos anteriores. Como ya se comentaba anteriormente, la población estudiada son adultos que superan los 40 años, donde la prevalencia de la infección es alta (Styczynski et al., 2016). De hecho, en los menores de 15 años se encontró que la incidencia era más baja que en los mayores, posiblemente asociado con la seronegatividad en los países desarrollados hasta la adolescencia como indican algunos autores (Plata L. et al., 2018). La incidencia también fue más baja en los trasplantes haploidénticos, pero como ya pasaba con la infección del CMV en algunos análisis, la escasa cantidad de individuos en este grupo impide obtener resultados concluyentes.

A diferencia de lo que ocurrió con el CMV, en la incidencia de la infección por VEB no se encontraron diferencias significativas por temporada.

Si se analiza la primera detección del VEB en cada TPH, se puede comprobar que su aparición ocurre a los dos meses y medio del trasplante, más tardía que el CMV. Si, como en el caso anterior, se suprimen las infecciones que aparecen después de los 105 días, el comienzo de la viremia se observa a los 40 días post-TPH. En cualquier caso, siempre posterior a la infección por CMV (Anderson C. et al, 2020).

Resulta sorprendente que la viremia por VEB aparezca primero en hombres que en mujeres. Y por el contrario, en mujeres alcanza una replicación viral más activa. Estos datos están basados en un grupo nada desdeñable de pacientes, pero no se encuentra una explicación convincente, salvo que la seroprevalencia en mujeres sea mayor que en hombres para la misma edad, como ya apuntaron otros autores (García et al., 2019; Winter et al., 2019). Se puede pensar que se repliquen más tarde pero con mayor carga viral por ser el grupo de riesgo con defensas inmunológicas limitadas.

En el análisis de los datos se puede comprobar que los menores de 15 años presentan antes la infección que el resto de TPH. Y por el contrario, en los TPH-haploidéntico no se detecta el virus hasta pasados los 200 días post-trasplante. Ninguno de los dos resultados se

deben considerar como concluyentes porque la población de estudio es muy pequeña (19 y 12 individuos). Se necesitarían nuevos trabajos que corroborasen estos datos y si fuesen ciertos, adoptar las medidas oportunas para controlar la infección (sobre todo en los TPH de menor edad).

Las viremias en el VEB aparecieron mayoritariamente como episodios continuos o persistentes, pero en una proporción menor que en el caso del CMV (40% vs 50%). De hecho, el número de muestras con replicación viral de VEB fue la mitad que en el CMV.

Esta viremia persistente aparece un mes antes y con mayor carga viral que en los episodios puntuales en los episodios continuos. Pero no hay que obviar los casos de viremia puntual cuando son tan frecuentes. Viremias puntuales que pueden estar condicionadas por los protocolos de seguimientos cortos y que pueden acabar en procesos graves, como se apuntaba anteriormente en las viremias puntuales por CMV.

Por eso, cobra especial relevancia la detección del VEB y el hecho de no interrumpir el protocolo de seguimiento muy pronto, como ya se apuntaba anteriormente. O, al menos, sospechar su presencia en episodios compatibles con este tipo de infección, sobre todo en los periodos tardíos, que superen los 4 meses desde el trasplante.

El CMV y el VEB son los virus con repercusión clínica más estrechamente relacionados y parece existir una relación bidireccional entre ambos, ya que la reactivación de uno está significativamente asociada con la reactivación del otro (Einsele et al., 2020 ; Fan et al., 2016).

Diversos autores estudiaron que la coactivación de CMV y VEB después de alo-TPH podría conducir a peores resultados clínicos en comparación con aquellos con reactivación de un solo virus. Song y colaboradores encontraron que en comparación con los pacientes que sólo reactivaban CMV o VEB, la coactivación del CMV y el VEB era un factor de riesgo de mortalidad precoz en pacientes sometidos a TPH alogénico (Chiereghin et al., 2019; Green et al., 2013; Song T. et al., 2014).

En este trabajo ya se ha comprobado que la viremia por CMV aparece sobre el primer post-trasplante, antes que el VEB que aparece unos 15 días después, lo que está de acuerdo con la mayoría de estudios consultados. ((Anderson C. et al, 2020; Sia IG. Et al., 2000; Singh N. et al., 2005). Por ello, se evaluó la replicación del VEB en función del CMV. Y se pudo comprobar que la viremia por VEB era más frecuente cuando había replicación del CMV y que esa replicación era más activa, lograba mayor carga viral (medida en log copias/ leucocitos).

Incluso se podía hacer un examen más exhaustivo y comprobar que si la viremia por VEB era temprana y había replicación de CMV persistente, esa viremia por VEB se convertía

también en continua y podía durar hasta 90 días desde su aparición. Por tanto, ante una replicación por CMV continua, la aparición del VEB sugiere una situación que se debe manejar con cuidado ya que puede llevar aparejado una replicación persistente de ambos virus.

Estos datos amplían y confirman los estudios de los autores señalados anteriormente, que señala a la coactivación como un factor de riesgo en el TPH (Chiereghin et al., 2019; Green et al., 2013; Song T. et al., 2014). Este dato se refuerza con el de que en ausencia de CMV, el VEB se presentaba con una carga viral significativamente más baja.

Infecciones por otros virus oportunistas

Además del CMV y el VEB, otros virus son causa muy importante de infecciones en el TPH como ADV, VHH6, VHH7, Polyomavirus BK o JC, o parvovirus B19. La reactivación de estas infecciones latentes tras un Alo-TPH se ha asociado a diversos síntomas, como erupciones cutáneas, fiebre, neumonitis intersticial, supresión de la médula ósea, encefalitis y EICR (Fan J. et al., 2016; Gotoh, M. et al., 2014).

En este trabajo, en los 208 pacientes se analizaron otros virus latentes, cuyo diagnóstico se basó en peticiones realizadas bajo sospecha clínica y su sintomatología. De esta forma, aunque no se siguieron todos los virus por igual ni se hicieron estudios seriados de la infección de manera protocolizada como en el caso del CMV y VEB, la incidencia fue relevante, con porcentajes superiores al 20% de ADV, BK, VHH6 y VHH7. En el protocolo clínico-viroológico del HUCA se suelen incluir en el estudio ADV (aunque no de forma continua ni seriada) y VHH6 en niños, y Poliomavirus BK en adultos.

En el análisis de los datos de este control oportunista sólo cabe reseñar que el ADV apareció más frecuentemente en niños (TPH menores de 15 años). Todos ellos aparecieron después de los dos meses del trasplante y alcanzaron una carga viral mayor que en el caso del CMV y el VEB. Este resultado es lógico ya que, como se comentaba anteriormente, su búsqueda se realizó, en la mayoría de los casos, por presentar patología compatible. En el caso del CMV o del VEB, el seguimiento activo protocolizado permitió adelantarse a los problemas y a permitir que la infección adquiriese relevancia, en la medida de lo posible.

Para evitar este tipo de sesgos, se aprovechó el seguimiento del CMV y el VEB, y se realizaron cuantificaciones genómicas de estos virus latentes seriadas para comprobar sus tasas de replicación. En este seguimiento también se analizó la influencia de la procedencia de los progenitores (donante no emparentado o emparentado junto con haploidénticos) y su posible relación con la Enfermedad Injerto contra receptor. En esta serie, los datos de CMV y

VEB, como era lógico esperar, mostraron una incidencia similar al estudio completo de los casi diez años de estudio, rondando el 65-70%.

La reactivación por ADV tras el alo-TPH puede cursar como una infección asintomática, enfermedad localizada (cistitis hemorrágica, colitis o neumonía) y/o enfermedad diseminada (Vallejo Ruiz, M. et al., 2018). Ison et al encontraron que la incidencia del ADV oscila entre un 5-40% en los alo-TPH y que aparecía después del tercer mes post-trasplante asociada a una mortalidad del 20-80% de los casos (Ison M. et al., 2006). Se consideran factores de riesgo, la depleción de células T, la presencia de EICR, la linfopenia y la edad, donde Affranchino P y colaboradores constataron como en el TPH pediátrico era una causa importante de morbimortalidad (Affranchino P., et al, 2010).

No existe consenso sobre la monitorización de la viremia en pacientes post-TPH, aunque según la *European Conference on Infections in Leukemia*, se recomiendan monitorizar semanalmente las viremias por ADV en pacientes con un factor de riesgo o más (Matthes-Martin S. et al., 2012). Otros autores recomiendan la monitorización a todos los pacientes post-TPH, ya que se ha descrito una correlación entre la carga viral y la mortalidad asociada a la enfermedad por ADV (Lindemans C. et al., 2010)

En este estudio la incidencia en el ADV fue alta en el seguimiento oportunista (23%) y disminuyó en el seguimiento protocolizado (9%), pero no demasiado, a pesar de que no hubiese patología asociada. Esta incidencia alcanzó valores del 44% en los TPH menores de 15 años. Por lo tanto, no estaría mal incluir su seguimiento por su importancia clínica y por su alta incidencia, al menos en los TPH jóvenes. Y estos protocolos deberían realizarse al menos hasta el cuarto mes post-trasplante, ya que en el caso del ADV su detección media fue pasados los tres meses. Y teniendo en cuenta que alguno ya se encontró en el primer control, por lo que podrían protocolizarse desde el comienzo del seguimiento.

No se observó ninguna asociación con el tipo de trasplante, con el EICR ni con la replicación del CMV.

Los Poliomavirus BK y JC, tras la infección primaria también permanecen latentes y pueden reactivarse como consecuencia de la inmunosupresión. Ambos establecen infecciones asintomáticas persistentes con reactivaciones en el tracto urinario, que se asocian con la cistitis hemorrágica de comienzo tardío en los TPH. Son más frecuentes en los TPH infantiles (Hayden RT. Et al., 2015; Kloos RQ et al., 2013)

En el seguimiento oportunista, la incidencia del virus BK llegó al 20% y del virus JC al 10%. Esta incidencia disminuyó en el seguimiento protocolizado al 13% y 9% respectivamente,

un porcentaje nada desdeñable y que también aconseja seguir periódicamente. Y como en el caso del ADV, este seguimiento debe extenderse al menos hasta los cuatro meses post-trasplante, ya que su aparición media esta los 100 y 80 días respectivamente. Como en el ADV, tampoco se encontró ninguna otra asociación con las variables analizadas.

La infección crónica o persistente por parvovirus B19 se ha descrito como causa de anemia aplásica en receptores de TPH. Eid A. y colaboradores realizaron una revisión de 96 casos durante un periodo de 16 años, en la que se puso de relieve la importancia de Parvovirus como causa de anemia refractaria y grave en pacientes trasplantados (Eid A. et al., 2006). Esta sintomatología no fue frecuente en los TPH ya que sólo en 37 se tuvo la necesidad de su diagnóstico. Y sólo en dos de ellos encontró el virus. Al realizar el protocolo seriado, sorprendió la frecuencia con la que se encontró el virus (22%) y aparecía un poco antes de los tres meses post-trasplante. Además, en la EICR la carga viral era más alta que en los TPH que no presentaban dicha afección.

Por la gravedad de la patología que puedan provocar, una vez se debería plantear incluir el seguimiento del Parvovirus en el protocolo clínico-viroológico de los TPH.

Desde hace tiempo se sabe que las infecciones víricas en receptores de trasplantes, en particular las debidas a Herpesvirus, pueden ir seguidas de una cascada de complejas interacciones con el sistema de defensa del huésped que pueden facilitar las infecciones debidas a otros virus o potenciar su patogenicidad. Debido a la importancia de virus de la familia como el CMV o el VEB y por la ya conocida influencia en el TPH de otros Herpesvirus, todos ellos se incluyeron en el protocolo de seguimiento seriado Fan J. et al., 2016).

La reactivación de VHS1 y VHS2 puede producirse tanto precoz como tardío después del TPH, aunque el riesgo real ha disminuido drásticamente por el uso de la profilaxis con aciclovir (Marr K. et al., 2012), profilaxis que también afecta a la infección por VZV. De hecho, en los pacientes del seguimiento oportunista no se constató presencia del VHS1, del VHS2 o del VVZ, aunque en estos casos, el diagnóstico de la infección pudo realizarse por otros métodos o en otro tipo de muestras.

En el protocolo del seguimiento seriado, el VHS1 alcanzó valores de incidencia del 14%, pero con una aparición muy tardía, con una media de cuatro de meses, y con una carga viral muy baja, que puede corresponder a una replicación sin trascendencia clínica. No se encontró ninguna muestra con replicación positiva para el VHS2, resultado que se repitió para el VHH8.

En el caso del VVZ, era esperable encontrar replicación activa por la frecuencia de reactivación que suele tener el virus provocando un Herpes-Zóster. El VVZ, tiene una incidencia

estimada entre el 17 y el 50% y causa una gran morbilidad en el TPH. Típicamente provoca infecciones tardías, después de los 120 días post-TPH. Además, los TPH tienen un alto riesgo de complicaciones relacionadas con el VVZ, como la sobreinfección bacteriana, la cicatrización y la neuralgia postherpética (De S. et al., 2015). Antes del uso del aciclovir profiláctico, la incidencia de encefalitis en los pacientes con infección aguda por VVZ se estimaba entre el 4% y el 20% (Maffini E, et al., 2017). Otros estudios han evidenciado que, más que evitar la re-infección por VVZ, la profilaxis con aciclovir o ganciclovir lo que hace es retrasar la infección (Steer CB et al., 2000).

En el seguimiento protocolizado, la incidencia para el VVZ fue del 10,3%, lo que concuerda con los datos consultados, y aparece sobre los tres meses desde el trasplante. Por ello, aunque hoy en día habría que analizar la aplicación de las recientes vacunas en el contexto del TPH y de que la profilaxis parece efectiva, el virus también se podría seguir de manera protocolizada para anticiparse a las complicaciones clínicas, por lo menos a partir del segundo mes después del trasplante.

Por último, los VHH6 y VHH7 están estrechamente relacionados con el TPH y con la infección por CMV, que como se ha visto, es la infección que mayor morbi-mortalidad provoca en este tipo de pacientes.

Affranchino P y colaboradores afirman que la infección por CMV no es un factor de riesgo evaluado habitualmente, pero que estudios de coinfección viral demuestran que es frecuente y se asocia con cuadros clínicos más graves (Affranchino P., et al, 2010). En varios estudios en los que se examinaron las relaciones entre los herpesvirus, se observó que los herpesvirus se activaban entre sí, mientras que la infección por CMV parecía desencadenar la coinfección por VHH6 y/o VHH7 y viceversa (Gotoh, M. et al., 2014). Varios estudios en receptores de trasplantes han demostrado que la coinfección por VHH6 y CMV es frecuente y modula la expresión de la enfermedad debida a cualquiera de los dos virus (De Oña M, 2002; Galarraga M, 2005; Quintela A. et al., 2016). Fan J y sus colaboradores demostraron que la infección preexistente por VHH6 se asoció a tasas más bajas de infección por CMV y del mismo modo, la infección preexistente por CMV fue protectora frente a la infección por VHH6 (Fan J et al., 2016). Pero otros autores aseguran que la coinfección por VHH6 y CMV es frecuente y modula la expresión de la enfermedad debida a cualquiera de los dos virus (Rogers J et al., 2000). Por último, Singh N. y colaboradores realizaron un estudio sobre los efectos moduladores de los herpes virus en receptores de trasplantes, en el que señalaban, entre las interacciones más frecuentes, el CMV con VHH6, como efecto inmunosupresor de los virus coinfectados (Singh N. et al, 2005).

Los síntomas clínicos asociados a las reactivaciones del VHH6 pueden considerarse inespecíficos. En el post-TPH, como en cualquier paciente inmunodeprimido, puede provocar fiebre, rash cutáneo, diarrea, además de síntomas secundarios a hepatitis, encefalitis, mielosupresión e implante tardío o fallo del implante (Ogata M. et al., 2013). Además, parece que el VHH6 puede precipitar algunas complicaciones del TPH, como la EICR, aumentando por tanto la mortalidad relacionada con el TPH (Ciceri F. et al., 2016). Por otra parte las enfermedades clínicas debidas directamente al VHH7 son menos frecuentes y son más frecuentes en pacientes pediátricos (Fule-Robles J. et al., 2014).

Por ello, con esa clínica poco específica o concreta, ambos virus se buscaron menos de lo que podría esperarse. Aún así, fueron objeto de estudio en un quinto de los TPH y su incidencia resultó importante: 22% en VHH6 y 26% en VHH7.

Cuando estos Herpesvirus se buscaron en un protocolo seriado tasa de replicación del VHH6 subió casi el doble, hasta 39,1% y la del VHH7 subió más del doble y llegó al 54,6%.

Las cargas virales fueron más bajas que las encontradas anteriormente, debido también a no ser seguidas en la infección activa. Ambos virus aparecen algo más tarde que el VEB, sobre los dos meses postrasplante. Y quizás porque esa búsqueda continua y en ausencia de una clínica compatible, la tasa de replicación (la carga viral) de cada virus fue muy baja.

Y también resultó una sorpresa comprobar que, a diferencia de lo que se postulaba anteriormente sobre la relación con el CMV, en el VHH6 la incidencia se duplicaba en los pacientes donde no se encontraba el CMV.

Para ratificar este dato y por su alta incidencia, sería interesante incluir la detección de estos virus en los protocolos clínicos –viroológicos y realizar un estudio más amplio.

Infección por SARS-CoV-2

El comienzo del año 2020 trajo consigo un virus que provocó un colapso mundial. Nadie auguraba, por aquel entonces, que el organismo causante de una neumonía que afectaba a cinco individuos en Wuhan (China) desencadenase una pandemia (James W. et al., 2022; Trilla A. et al., 2020).

La infección por SARS-CoV-2 en los alo-TPH se ha considerado, de manera consensuada como un mal pronóstico, con alta mortalidad que depende en gran medida de las comorbilidades, la enfermedad hematológica activa, trasplante reciente (menos de 6 meses) y la gravedad de la infección.

Busca A. y colaboradores encontraron que los factores asociados a un mayor riesgo de mortalidad fueron la edad de 50 años o más, la presencia de 3 o más comorbilidades, la enfermedad hematológica activa en el momento de la infección por COVID-19, el desarrollo de

COVID-19 en los 12 meses siguientes al TPH y las infecciones graves/críticas. Aunque también verificaron que el tipo de TPH, la intensidad del régimen preparatorio, la presencia de EICR antes de la infección por COVID-19 no se asociaron, en general, con un aumento de la mortalidad (Busca A. et al., 2023).

Algunos trabajos han establecido la incidencia del SARS-CoV 2 en TPH en un 22-42% (Busca A. et al., 2023; Ljungman P. et al., 2022; Sharma A. et al., 2021).

En un estudio multicéntrico realizado en España entre el 20 de febrero y el 13 de julio de 2020 en España, impulsado desde la ONT y donde se incluyeron 778 receptores de TPH y TOS (trasplantados de órgano sólido) encontraron una tasa de incidencia, del orden del 15%. Además encontraban una incidencia del 3% en pacientes en el post-TPH inmediato (antes de 1 mes, incluyendo pacientes receptores TOS). La tasa de mortalidad global fue del 27%, donde en el 93% de los casos era atribuible a COVID-19. No se encontraron diferencias por sexo o tipo de inmunosupresión, aunque si la mayoría de los trasplantados estudiados tenían más de 60 años. Cabe destacar que estos datos son antes de la aplicación de las vacunas (Coll E. et al, 2020).

Con el propósito de tener una idea clara de la repercusión del SARS-Cov2 en los TPH del HUCA, se distinguieron dos grupos: aquellos que llevaban menos de 6 meses de trasplante o que realizaron el trasplante en plena pandemia y donde se suponía que el virus podía tener mayor repercusión, y TPH con más de 6 meses de trasplante. Además se añadió un grupo control de pacientes no TPH atendidos en el Servicio de Hematología durante ese periodo.

En el análisis de los datos sorprende que la incidencia registrada durante los tres años del estudio sólo llegó al 16% en los TPH recientes, menor que cualquier estudio reseñado, incluido el español. Y esa incidencia era menor que los TPH más antiguos, que llegaba al 18% y al grupo control, que alcanzaba el 17%. Y ambos grupos también se mantenían por debajo de las cifras publicadas por otros estudios mencionados anteriormente (Busca A. et al, 2023; Coll E. et al., 2020; Sharma A. et al., 2021; Ljungman P. et al., 2022;).

Quizás el dato más preocupante que apuntaba el estudio de Coll E y colaboradores, era que esa incidencia aumentaba con la edad, pero no tanto en el grupo de mayores de 65 años, sino en el de 50 a 65 años. En este grupo alcanzaba el 27%, datos dentro de lo esperado, pero altos para el conjunto de nuestros pacientes.

Estas diferencias en cuanto a tasas de detección pueden ser por diversos motivos: el uso basal de inmunosupresión, comorbilidades subyacentes y el contacto frecuente con profesionales sanitarios. Tampoco hay que olvidar que estos pacientes podían tener más probabilidades de ser diagnosticados cuando presentan síntomas, ya sea por una sintomatología clara que los individuos inmunocompetentes, o por un seguimiento más

estrecho en el centro de trasplantes. Estas variables no fueron analizadas en profundidad. Y también puede ser que los pacientes, a partir de un momento determinado, relajasen sus medidas de protección.

Y esto puede ser así, porque cuando se analiza el momento en que se adquiere la infección se puede ver como antes de noviembre de 2021, la incidencia periódica apenas superaba el 8%. No es hasta esa fecha, con la pauta de vacunación completada y la llegada de la variante Ómicron cuando la incidencia alcanza valores mensuales de hasta 22% en los TPH recientes. Busca y colaboradores también apuntaron esta subida de incidencia con el tiempo, encontrando un 20% de infectados entre febrero-diciembre del 2020 y del 42% entre enero-marzo 2022 (Busca A. et al., 2023).

Los datos de esta tesis recogen que el virus no circuló entre ninguno de los grupos hasta octubre del 2020 y que el pico de máxima detección aparece en los tres grupos en el año 2022 y osciló entre el 7 y el 23%. En los trasplantados recientes no hubo apenas incidencia por SARS-CoV-2 y no se registró la presencia de segundos episodios.

Por otra parte, es importante señalar que no hubo reinfecciones en los TPH recientes y fueron muy pocas en los TPH más antiguos (4%). Y por otra parte, los episodios de infección, por regla general eran cortos, menos de 15 días. Sólo en 9 TPH antiguos estos episodios fueron más prolongados. Este dato podría explicarse por la rapidez en el diagnóstico y la rápida y eficiente atención clínica.

Reconocemos las limitaciones de nuestro estudio inherentes al diseño retrospectivo. No podemos excluir un posible sesgo de selección en el registro de los pacientes. Nuestro estudio presenta una heterogeneidad significativa en cuanto a las diferentes variantes (salvaje, delta y ómicron), cada una de ellas con diferentes características, además de no tener en cuenta datos sobre vacunación. En este sentido, es de suma relevancia comprobar como la vacunación tras un TPH disminuyó la gravedad de la enfermedad COVID-19 en este grupo vulnerable de pacientes. Pero, en cualquier caso, los datos parecen indicar que los TPH en el HUCA tuvieron un diagnóstico y un control correcto que minimizó la infección de SARS-Cov2.

Precisamente, uno de los grandes problemas del diagnóstico de las infecciones virales por métodos de detección genómica es mantener intacto el ADN o el ARN (principalmente este último). Aunque las muestras siempre se trabajan en condiciones de máxima seguridad y con reactivos que no dañan la estructura del genoma, la continua manipulación de la muestra para llevar a cabo el diagnóstico y/o caracterizar los virus presentes, puede conducir a una degradación del mismo y esto podría provocar una disminución de la sensibilidad de las técnicas utilizadas, incluidas las técnicas de amplificación. Diversos estudios han demostrado

que los inhibidores de ribonucleasas presentan un amplio espectro de actividades inhibitorias contra las ARNasas, protegiendo eficazmente el ARN durante los procedimientos de laboratorio. Su utilización podría ser una solución para minimizar los problemas de conservación del ARN.

Precisamente antes de la llegada del SARS-CoV-2 y porque los virus ARN son muy frecuentes y dañinos, se había realizado un estudio para evaluar la integridad del ARN viral de muestras clínicas en el laboratorio de Virología del HUCA. En ese trabajo, se evaluó la integridad del ARN viral tras su almacenaje a 4°C, después de un periodo de tiempo de trabajo estándar (7-10 días), y se analizó la eficacia y el rendimiento de un inhibidor de ARNasas para evitar su degradación. Según los datos obtenidos, no resultó imprescindible, en el periodo de tiempo en el que se trabajaron las muestras procesar la muestra con este inhibidor. En algún caso disminuyó ligeramente el rendimiento, pero tanto en las muestras con y sin inhibidor. Es importante señalar que ninguna muestra resultó indetectable después de 10 días (Dickson, K.A. et al., 2005)

Así pues, en plena explosión de la pandemia, con el estrés generado para obtener un diagnóstico rápido y fiable, no fue necesario ningún procesamiento extra para mantener intacta la sensibilidad y especificidad diagnóstica.

En resumen, este trabajo corrobora que el CMV y el VEB son virus frecuentes y que pueden causar trastornos importantes en los TPH y por tanto, deben seguir estudiándose dentro de un protocolo clínico-virológico que podría prolongarse (de una forma más o menos continua), más allá de los cuatro meses de mayor riesgo de infección viral. Además, virus como VHH6, VHH7 o Adenovirus podrían formar parte de ese protocolo. Características del TPH podría sugerir la inclusión de otros virus latentes. En cualquier caso, siempre estos protocolos son dinámicos y tienen que estar pendientes de los avances que se vayan produciendo en el campo del control y seguimiento de la infección viral, como la aparición de nuevos antivirales que se pueden utilizar en tratamiento o como profilaxis.

También parece lógico pensar que el seguimiento se debe realizar con un marcador sensible y específico. Y en este caso, la carga viral expresada en leucocitos parece el marcador más adecuado.

Finalmente, en este trabajo se pudo comprobar que el SARS-Cov2 no afectó más a este tipo de pacientes que lo hiciera con otros grupos poblacionales y que estuvieron controlados en todo momento, lo que evitó un incremento de la incidencia y mayor número de complicaciones.

“Y si se arranca a volar, gritadle a voces...”

Te juzgarán por tus errores

6.CONCLUSIONES

1. La viremia por Citomegalovirus presentó una incidencia alta que disminuyó con los años de estudio. Se presentó al mes del trasplante y su precocidad se relacionó con la persistencia de la replicación, que era más frecuente en los TPH de mayor edad.
2. El CMV apareció antes en los receptores seronegativos que recibieron progenitores hematopoyéticos de un donante negativo, pero con una replicación muy baja. Y se objetivó una replicación más activa en los TPH que desarrollaron una enfermedad Injerto contra receptor. También fue más precoz en los pacientes que precisaron tratamiento antiviral.
3. La carga viral expresada en copias por leucocitos representó mejor relación entre la replicación del CMV y la situación del paciente, que expresada por mililitros de sangre completa.
4. El virus de Epstein-Barr alcanzó una incidencia similar al CMV, pero comenzó su replicación en el segundo mes postrasplante, también con viremias persistentes, que fueron menos frecuentes que en el CMV.
5. La viremia por VEB continua, que alcanzaba una carga viral más alta que la viremia esporádica, fue más precoz y duró más tiempo si también estaba replicando el CMV de manera persistente.
6. Los virus latentes no CMV ni VEB, aparecieron en el segundo mes postrasplante y con cargas virales discretas.
7. El Adenovirus fue el virus con mayor incidencia entre los virus latentes en el seguimiento oportunista, sobretodo en TPH menores de 15 años. Sin embargo, en el seguimiento protocolizado, los virus más frecuentes fueron el VHH6 y el VHH7, con unos porcentajes que podrían sugerir su inclusión en el protocolo clínico-virológico, sobre todo por su relación con el CMV.
8. La tasa de infección por SARS-CoV-2 no fue alta, ocurrió por igual en TPH recientes que antiguos y otros pacientes del Servicio de Hematología y fue más elevada en la última ola, cuando circulaba la variante ómicron. No fueron frecuentes las reinfecciones ni las infecciones prolongadas.
9. Para estudios de detección genómica (ARN) que se realicen en un periodo de trabajo habitual en un laboratorio de Microbiología (10 días) no es necesario añadir preservantes.

“La realidad no me abandona...”

Primer movimiento, el sueño

7.BIBLIOGRAFIA

- Abdul-Ali D, Kraft CS, Ingersoll J, Frempong M, Caliendo AM. Cytomegalovirus DNA stability in EDTA anti-coagulated whole blood and plasma samples. *J Clin Virol*, 2011; 52(3):222-4.
- Abudayyeh A, Hamdi A, Lin H, Abdelrahim M, Rondon G, Andersson BS, Afrough A, Martinez CS, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP, Marin D, Gaber AO, Salahudeen A, Oran B, Chemaly RF, Olson A, Jones R, Popat U, Champlin RE, Shpall EJ, Winkelmayer WC, Rezvani K.. Symptomatic BK virus infection is associated with kidney function decline and poor survival in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Am J Transplant*, 2016; 16: 1492–1502.
- Affranchino, P N, Roizen M, Staciuk R, Pizzi S, Viale D, Nuñez A, Venuta M E, Paganini H, Figueroa Turienzo C M. Adenovirus disease in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Med. Infant.* 2010; 17(3): 271-275.
- Akahoshi Y, Kimura SI, Inamoto Y, Seo S, Muranushi H, Shimizu H, et al. Effect of cytomegalovirus reactivation with or without acute graft-versus-host disease on the risk of nonrelapse mortality. *Clin Infect Dis*, 2020.
- Anderson-Smits C, Baker ER, Hirji I. Coinfection rates and clinical outcome data for cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in post-transplant patients: A systematic review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2020; 22(6).
- Bocian J, Januszkiewicz-Lewandowska D. EpsteinBarr virus infection life cycle, methods of diagnosis, associated diseases. *Postepy Hig Med Dosw*. 2011; 65: 286-298.
- Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood*. (2003);101:407-414.
- Boeckh M, Kim HW, Flowers ME, Meyers JD, Bowden RA. Long term acyclovir for prevention of varicella zoster virus disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation, a randomized double-blind placebo-controlled study. *Blood*. 2006; 107(5):1800-1805.
- Boeckh, M., Ljungman, P. How I treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients? *Blood*. 2009; 113(23) : 5711-9.
- Boeckh M, Nichols WG, Chemaly RF, Papanicolaou GA, Wingard JR, Xie H, Syrjala KL, Flowers ME, Stevens-Ayers T, Jerome KR, Leisenring W. Valganciclovir for the prevention of complications of late cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a randomized trial. *Ann Intern Med*, 2015; 162: 1–10.
- Bueno F, Solano C, Vázquez L, Giménez E, de la Cámara R, Albert E, Rovira M. et al Spanish Group of Hematopoietic Transplantation, Cell Therapy (GETH). Assessment of the association between cytomegalovirus DNAemia and subsequent acute graft-versus-host disease in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: A multicenter study from the Spanish hematopoietic transplantation and cell therapy group. *Transpl Infect Dis*. 2021; 23(4).
- Busca A, Salmanton-García J, Marchesi F, Farina F, Seval GC, Van Doesum J. et al. Outcome of COVID-19 in allogeneic stem cell transplant recipients: Results from the EPICOVIDEHA registry. *Front Immunol*, 2023; Feb 24;14.
- Busca A, Gabrielli G, Sidoti F, Costa C, Giaccone L, Dogliotti I. et al. SARS-CoV-2 infection in a stem cell transplant recipient grafted from a SARS-CoV-2-positive donor. *Bone Marrow Transplantation*. 2022. 57: 1604–1606.
- Camargo JF, Kimble E, Rosa R, Shimose LA, Bueno MX, Jeyakumar N. et al . Impact of Cytomegalovirus Viral Load on Probability of Spontaneous Clearance and Response to Preemptive Therapy in Allogeneic Stem Cell Transplantation Recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018; ;24(4):806-814.
- Castana Juan José, Cisneros José Miguel, Torre-Cisneros Julián. Efectos de la infección viral en el paciente trasplantado. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007; 25(8):535-48.
- Cesaro S, Crocchiolo R, Tridello G, Knelange N, Van Lint MT, Koc Y. et al. Comparable survival using a CMV-matched or a mismatched donor for CMV+ patients undergoing T-replete haplo-HSCT with PT-

- Cy for acute leukemia: a study of behalf of the infectious diseases and acute leukemia working parties of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* 2018;53(4):422-430.
- Chemaly RF, Ullmann AJ, Stoelben S, Richard MP, Bornhauser M, Groth C, Einsele H, Silverman M, Mullane KM, Brown J, Nowak H, Kolling K, Stoberneck HP, Lischka P, Zimmermann H, Rubsamen-Schaeff H, Champlin RE, Ehninger G. Letermovir for cytomegalovirus prophylaxis in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2014; 370:1781–1789.
- Chiereghin, A., Piccirilli, G., Belotti, T., Prete, A., Bertuzzi, C., Gibertoni, D., et al. Clinical Utility of Measuring Epstein-Barr Virus-Specific Cell Mediated Immunity After HSCT in Addition to Virological Monitoring: Results From a Prospective Study. *Med. Microbiol. Immunol.* 2019; 208: 825–834.
- Chi Young Ok, Thomas G. Papathomas, L. Jeffrey Medeiros, Ken H. Young. VEB-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Blood.* 2013; 122 (3): 328–340.
- Cho BS, Yahng SA, Kim JH et al. Impact of cytomegalovirus gastrointestinal disease on the clinical outcomes in patients with gastrointestinal graft-versus-host disease in the era of preemptive therapy. *Ann Hematol.* 2013; 92(4):497-504.
- Christensen JB, Byrd SA, Walker AK, Strahler JR, Andrews PC, Imperiale MJ. Presence of the adenovirus IVa2 protein at a single vertex of the mature virion. *J. Virol.* 2008; 82:9086–9093.
- Ciceri F GR. Human Herpesvirus 6 Infection following haploidentical transplantation: immune recovery and outcome. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation,* 2016; 22(12):2250-5.
- Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med.* 2000; 343(7):481-92.
- Coll E, Fernández-Ruiz M, Sánchez-Álvarez JE, Martínez-Fernández JR, Crespo M, Gayoso J. et al Spanish Group for the Study of COVID-19 in Transplant Recipients. COVID-19 in transplant recipients: The Spanish experience. *Am J Transplant.* 2021; 21(5):1825-1837.
- Corma V. M, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK. Et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *European communicable disease bulletin.* 2020; 25.
- Coo SY. The HLA system Genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J.,* 2007; 48(1):11-23.
- Cooper RJ, Hallett R, Tullo AB, Klapper PE. The epidemiology of adenovirus infections in Greater Manchester, UK 1982-96. *Epidemiol Infect.* 2000; 125(2):333-45.
- Corre E, Carmagnat M, Busson M et al. Long-term immune deficiency after allogeneic stem cell transplantation: Bcell deficiency is associated with late infections. *Haematologica,* 2010; 95:1025-1029.
- Crocchiolo R, Bramanti S, Vai A, Sarina B, Mineri R, Casari E. et al. Infections after T-replete haploidentical transplantation and high-dose cyclophosphamide as graft-versus-host disease prophylaxis. *Transpl Infect Dis.* 2015; 17:242–9.
- Cutler C, Kim HT, Bindra B, Sarantopoulos S, Ho VT, Chen YB. Et al. Rituximab prophylaxis prevents corticosteroid-requiring chronic GVHD after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: results of a phase 2 trial. *Blood.* 2013;122(8):1510-1517.
- Dehn J, Spellman S, Hurley CK, Shaw BE, Barker JN, Burns LJ. Et al. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR. *Blood.* 2019; 134(12):924-934.
- De Oña M, Melón S, Rodríguez JL, Sanmartín JC, Bernardo MJ. Association between human herpesvirus type 6 and type 7, and cytomegalovirus disease in heart transplant recipients. *Transplant Proc.* 2002;34(1):75-76.
- Depper JM, Zvaifler NJ. Epstein-barr virus. *Arthritis & Rheumatology.* 1981;24(6): 755-761.
- De SK, Hart JC, Breuer J. Herpes simplex virus and varicella zoster virus: recent advances in therapy. *Curr Opin Infect Dis.* 2015;28:589–95.

- Dickson, KA, Haigis, MC, Raines, R.T. Ribonuclease inhibitor: Structure and function. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 2005; 80, 349–74.
- Diop NS, Enok PR, Buteau C, Duval M, Lacroix J, Laporte L. et al. Association between Antiviral Prophylaxis and Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus DNAemia in Pediatric Recipients of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(6):610.
- Dixie H, Talaya A, Giménez E, Martínez A, Hernández-Boluda JC, Hernani R. et al. Features of Cytomegalovirus DNAemia Blips in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Implications for Optimization of Preemptive Antiviral Therapy Strategies. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2020;26:972-977.
- Dropulic LK, Jones RJ. Polyomavirus BK infection in blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*, 2008; 41(1):11-18.
- Echavarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin Microbiol Rev.* 2008. 21(4):704-15
- Egli A, Humar A, Kumar D. State of art monitoring of cytomegalovirus- specific cell-mediated immunity after organ transplantation. A primer for the clinician. *Clin Infect Dis.* 2012;55(12):1678–89.
- Eid A, Brown RA, Patel R, Razonable RR. Parvovirus B19 infection after transplantation: a review of 98 cases. *Clin Infect Dis.* 2006 ;43:40-8.
- Einsele, H., Ljungman, P, and Boeckh M. How I Treat CMV Reactivation After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Blood*. 2020; 135: 1619– 1629.
- Elfeky R, Lazareva A, Qasim W, Veys P. Immune reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation using different stem cell sources. *Expert Rev Clin Immunol.* 2019 Jul;15(7):735-751.
- Erard V, Guthrie KA, Varley C, Heugel J, Wald A, Flowers ME. Et al. One-year acyclovir prophylaxis for preventing varicella-zoster virus disease after hematopoietic cell transplantation: no evidence of rebound varicella-zoster virus disease after drug discontinuation. *Blood*. 2007. 110(8):3071-7.
- Fan J, Jing M, Yang M, Xu L, Liang H, Huang Y. Et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *Int J Infect Dis.* 2016; 46:89-93.
- Fita A. El Trasplante de Células Hematopoyéticas Pediátrico en la Región de Murcia. El Inicio de una Singladura [Tesis Doctoral]. Universidad de Murcia: Escuela Internacional de Doctorado. <http://hdl.handle.net/10201/59279>; 2018.
- Fryer JF, Heath AB, Minor PD; Collaborative Study Group. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals.* 2016 Jul;44(4):242-51.
- Fule JD, Cheuk DK, Ha SY, Chiang AK, Chan GC. Human herpesvirus types 6 and 7 infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Ann Transplant.* 2014; 19:269-276.
- Galarraga MC, Gomez E, De Oña M, Rodríguez A, Lares A, Boga JA, Melon S. Influence of ganciclovir prophylaxis on cytomegalovirus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7 viremia in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005; 37(5):2124-6.
- García-Peris M, Jiménez MI, Mañes Y, Pariente M, González D, Calvo F. Primoinfección por el virus de Epstein-Barr en niños sanos. *Anales de Pediatría.* 2019; 90(6): 376–385.
- García-Suárez J, De la Cruz J, Cedillo A, Llamas P, Duarte R, Jiménez-Yuste V. et al. Impact of hematologic malignancy and type of cancer therapy on COVID-19 severity and mortality: lessons from a large population-based registry study. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):133.
- Gilis L, Morisset S, Billaud G, Ducastelle-Le-pretre S, Labussiere-Wallet H, Nicolini FE. High burden of BK virus-associated hemorrhagic cystitis in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49:664–670.
- Giménez E, Muñoz-Cobo B, Solano C, Amat P, Navarro D. Early kinetics of plasma cytomegalovirus DNA load in allogeneic stem cell transplant recipients in the era of highly sensitive real-time PCR assays: does it have any clinical value? *J Clin Microbiol.* 2014;52(2):654-6.

- Giménez E, Solano C, Piñana JL, Amat P, Vinuesa V, Navarro D. Re-examining the relationship between active cytomegalovirus (CMV) infection and acute graft-versus-host disease in allogeneic stem cell transplant recipients in the era of real-time PCR CMV assays. *Transpl Int.* 2016;29:126-12
- Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989 ;321(17):1174-8.
- Gotoh M, Yoshizawa S, Katagiri S, Suguro T, Asano M, Kitahara T. et al. Akahane, D., Okabe, S., Tauchi, T., Ito, Y., Ohyashiki, K. Human herpesvirus 6 reactivation on the 30th day after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation can predict grade 2–4 acute graft-versus-host disease. *Transpl Infect Dis.* 2014; 16: 440-449.
- Gracia-Ahufinger I, Tormo N, Espigado I, Solano C, Urbano-Ispizua A, Clari MA. Et al. Differences in cytomegalovirus plasma viral loads measured in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients using two commercial real-time PCR assays. *J Clin Virol.* 2010;48(2):142-146.
- Green ML, Leisenring W, Stachel D, Pergam SA, Sandmaier BM, Wald A. et al. Efficacy of a viral load-based, risk-adapted, preemptive treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl,* 2012;18:1687–99.
- Green ML, Leisenring WM, Xie H, Walter RB, Mielcarek M, Sandmaier BM. et al. CMV reactivation after allogeneic HCT and relapse risk: evidence for early protection in acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;122:1316–24.
- 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 Mar;3(3):e119-27.
- Griffiths PD, Zuckerman AJ, Banatvala Jangu E, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. Cytomegalovirus. Principles and practice of Clinical Virology, 2009 ;161-97.
- Hayden RT, Gu Z, Liu W, Lovins R, Kasow K, Woodard P. et al. Risk factors for hemorrhagic cystitis in paediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2015;17:234-41.
- Hayden, Randall T, Wolk, Donna M, Carroll, Karen C, Tang, Yi-Wei.. Diagnostic Microbiology of the Immunocompromised Host Human Herpesviruses 6A ,6B, and 7. 2016; 157–176.
- Halenius A, Hengel H. Human cytomegalovirus and autoimmune disease. *Biomed Res Int.* 2014.
- Hiwarkar P, Gaspar HB, Gilmour K, Jagani M, Chiesa R, Bennett-Rees N. et al. Impact of viral reactivations in the era of pre-emptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(6):803-8.
- Huntley D, Talaya A, Giménez E, Martínez A, Hernández-Boluda JC, Hernani R. et al. Features of Cytomegalovirus DNAemia Blips in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Implications for Optimization of Preemptive Antiviral Therapy Strategies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020 May;26(5):972-977.
- Ison MG. Adenovirus infections in transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 331-339.
- Jaime Fagundo, Juan Carlos, Roque García, Wilfredo, & Castellanos Hernández, Leónides. (2021). El citomegalovirus en los receptores de trasplante hematopoyético. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia,* 37(1), e1279.
- James W. Saville, Alison M. Berezuk, Shanti S. Srivastava, and Sriram Subramaniam. Three-Dimensional Visualization of Viral Structure, Entry, and Replication Underlying the Spread of SARS-CoV-2. *Chemical Reviews,* 2022; 122 (17), 14066-14084.
- Jha T, Halder AK, Adhikari N. Epstein–Barr Virus and Treatment of Its Infection; 2011.
- Kessinger A, Smith DM, Strandjord SE et al. Allogeneic transplantation of blood-derived, T cell-depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant,* 1989 ;4(6):643-6105.

- Ki CS, Kim IS, Kim JW, et al. Incidence and clinical significance of human parvovirus B19 infection in kidney transplant recipients. *Clin Transplant* 2005; 19:751–5.
- Klein J, Sato A. The HLA System. *N Engl J Med*, 2000; 343:702-709.
- Kloos RQ, Boelens JJ, de Jong TP, Versluys B, Bierings M. Hemorrhagic cystitis in a cohort of pediatric transplantations: incidence, treatment, outcome, and risk factors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:1263-6.
- Kosulin K et al, Diagnostic Parameters of Adenoviremia in Pediatric Stem Cell Transplant Recipients. *Front Microbiol*, 2019; 10: 414.
- Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54(12):1793-7
- Leung A Y, Suen C K, Lie A K, Liang RH, Yuen KY, K wong YL. Quantification of polyoma BK viremia in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood*, 2001; 98(6): 1971-1978.
- Lindemans CA, Leen AM, Boelens JJ. How I treat adenovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood* 2010; 116: 5476-5485.
- Lisboa LF, Asberg A, Kumar D et al. The clinical utility of whole blood versus plasma cytomegalovirus viral load assays for monitoring therapeutic response. *Transplantation*. 2011 Jan 27;91(2):231-6.
- Liu H, Jin L, Koh SB, Atanasov I, Schein S, Wu L, Zhou ZH. Atomic structure of human adenovirus by cryo-EM reveals interactions among protein networks. *Science*, 2010;**329**:1038–1043.
- Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. Review, *Bone Marrow Transplantation* (2008) 42, S70-S72.
- Ljungman P, de la Camara R, Mikulska M, Tridello G, Aguado B, Zahrani MA, et al. COVID-19 and stem cell transplantation; results from an EBMT and GETH multicenter prospective survey. *Leukemia*. 2021;35:2885–94.
- Ljungman P, Hakki M and Boeckh M. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2011; 25(1): 151–169.
- Ljungman P, Mikulska M, de la Camara R, Basak GW, Chabannon C, Corbacioglu S, et al. The challenge of COVID-19 and hematopoietic cell transplantation ; EBMT recommendations for management of hematopoietic cell transplant recipients, their donors, and patients undergoing CAR T-cell therapy. *Bone Marrow Transplant*, 2020;55:2071–6.
- Locatelli F, Bertaina A, Bertaina V and Merli P. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: management of infection. *Expert Review of Hematology*: Vol 9, No 1, 2016
- Lodding IP, Mocroft A, da Cunha Bang C, Gustafsson F, Iversen M, Kirkby N, Perch M, Rasmussen A, Sengelov H, Sorensen SS, Lundgren JD. Impact of CMV PCR Blips in Recipients of Solid Organ and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplant Direct*, 2018; 16;4(6):355.
- Luo C, Bueno M, Kant J, Randhawa P. Biologic diversity of polyomavirus BK genomic sequences: Implications for molecular diagnostic laboratories. *J Med Virol* 2008; 80: 1850-7.
- Luo, X. H., Chang, Y. J., & Huang, X. J. (2014). Improving cytomegalovirus-specific T cell reconstitution after haploidentical stem cell transplantation *Journal of Immunology Research*, 2014
- Lynch, J.P., 3rd and A.E. Karon, Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med*, 2016; 37(4): 586-602.
- Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A. Background to hematopoietic cell transplantation, including post-transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplant*, 2009; 44(8):457–62.
- Maffini E, Festuccia M, Brunello L, Boccadoro M, Giaccone L, Bruno B. Neurologic Complications after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. marzo de 2017;23(3):388-97
- Marr KA. Delayed opportunistic infections in hematopoietic stem cell transplantation patients: a surmountable challenge. *Hematology Am. Soc Hematol Educ Program*;2012:265-70.

- Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, Maertens J, Dadwal SS, Duarte RF, Haider S, Ullmann AJ, Katayama Y, Brown J, Mullane KM, Boeckh M, Blumberg EA, Einsele H, Snyderman DR, Kanda Y, DiNubile MJ, Teal VL, Wan H, Murata Y, Kartsonis NA, Leavitt RY, Badshah C. Letemovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2017 Dec 21;377(25):2433-2444.
- Martínez, María José, Moreno, Claudia, Levican, Jorge, Peña, Mónica, Gaggero, Aldo, & Chnaiderman, Jonás. (2016). Detección de polyomavirus BK y JC en extractos leucocitarios de sangre periférica de pacientes con infección por VIH del área norte de Santiago. *Revista chilena de infectología*, 33(3), 298-302.
- McCurdy SR, Zhang M, St. Martin A et al. Effect of donor characteristics on haploidentical transplantation with posttransplantation cyclophosphamide. *Blood Advances* (Feb) 2018, 2(3).
- Matthes-Martin, S., et al., European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL-4. *Transpl Infect Dis*, 2012. 14(6): p. 555-63.
- Metzgar D, Gibbins C, Hudson NR, Jones MS. Evaluation of multiplex type-specific real-time PCR assays using the LightCycler and joint biological agent identification and diagnostic system platforms for detection and quantitation of adult human respiratory adenoviruses. *J Clin Microbiol*, 2010 ; 48(4) :1397-403.
- Moins-Teisserenc H, Busson M, Scieux C et al. Patterns of cytomegalovirus reactivation are associated with distinct evolutive profiles of Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Infectious Diseases*, 2008 ; 198 :818 -26.
- Morayta-Ramírez A, Bonilla-Reyna MA, Martínez-Bustamante ME, et al. Infección por citomegalovirus en el paciente sometido a trasplante de progenitores hematopoyéticos: Reporte de caso y revisión de la literatura. *Rev Latin Infect Pediatr*. 2018;31(2):76-79.
- Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, Atif SM, Hariprasad G, Hasan GM, Hassan MI. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies : Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020 ; 1 ;1866(10) :165878.
- Ogata M, Satou T, Kadota J, Saito N, Yoshida T, Okumura H, Ueki T, Nagafuji K, Kako S, Uoshima N, Tsudo M, Itamura H, Fukuda T. Human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation and HHV-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation : a multicenter, prospective study. *Clin Infect Dis*, 2013 ; 57 : 671- 681.
- Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, Varanasi PR, Holler E, Greinix H, Weissinger E. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*, 2016 ; 17 ;7 :507.
- Ory Manchón Fernando de, Sanz Moreno Juan Carlos, Castañeda López Rosario, Ramírez Fernández Rosa, León Rega Pilar, Pachón del Amo Isabel. Seroepidemiología frente a citomegalovirus en la Comunidad de Madrid. *Rev. Esp. Salud Publica* [Internet]. 2001.
- Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, Duarte RF, Dufour C, Kuball J, Farge-Bancel D, Gennery A, Kröger N, Lanza F, Nagler A, Sureda A, Mohty M. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014 : more than 40,000 trans- plants annually. *Trasplante de médula ósea*, 2016 ;51(2016) :786–92.
- Pérez Z. Efecto de la melatonina en células infectadas con el virus Herpes Simplex Tipo 1. [Tesis Doctoral]. Universidad de Oviedo. 2021.
- Piatti, G. Pre-Transplant Screening for Latent Adenovirus in Donors and Recipients. *Open Microbiol J*. 2016 ; 10 : 4-11.
- Plata LM, Oviedo JF, Rincón-Orozco B. Revisión sistemática: estrategias virales para la inducción de cáncer “virus de Epstein-Barr: latencia y mecanismos asociados a la oncogénesis viral”. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 2018; 50(3): 257-268.
- Pozo F, Tenorio A, De la Mata M, De Ory F, Torre-Cisneros J. Persistent human herpesvirus 8 viremia before Kaposi's sarcoma development in a liver transplant recipient. *Transplantation*. 2000 ; 70 :395-7.

- Quintela A, Escuret V, Roux S, Bonnafous P, Gilis L, Barraco F. et al. HHV-6 infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation : from chromosomal integration to viral co-infections and T-cell re-constitution patterns. *J Infect.* 2016;72:214– 222.
- Raju TN. The Nobel chronicles. 1980 : George Davis Snell (1903-96) ; Jean Baptiste Dausset (1916) ; Baruj Benacerraf (1920). *Lancet.* 1999; 354(9191):1738.
- Reddy VS, Natchiar SK, Stewart PL, Nemerow GR. Crystal structure of human adenovirus at 3.5 Å resolution. *Science.* 2010 ;329 :1071–1075.
- Robinson CM, Seto D, Jones MS, Dyer DW, Chodosh J. Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infect Genet Evol.* 2011. 11(6): p. 1208-1217.
- Rogers J, Singh N, Carrigan DR. Importancia clínica de la infección por herpesvirus humano 6 en receptores de trasplantes hepáticos: papel en la patogenia de las infecciones fúngicas, complicaciones neurológicas e impacto en los resultados. *Transplantation.* 2000; 69:2566-73.
- Rouce RH, Louis Cu, Heslop He. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease after hematopoietic stem cell transplant. *Curr Opin Hematol.* 2014 ; 21 : 476-481.
- Ruiz-Bravo A, Jiménez-Valera M. SARS-CoV-2 y pandemia de síndrome respiratorio agudo (COVID-19). *Ars Pharm [Internet].* 2020.[citado 2023 Mayo 21]; 61(2):63-79. Epub 20-Jul-2020. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i2.15177>.
- Russell WC. Adenoviruses: update on structure and function. *J. Gen. Virol.* 2009 ;90 :1–20.
- Sáenz-Morales OA, Rubio AM, Yomayusa N, Gamba N, Garay-Fernández M. Coagulopatía en la infección por el virus SARS-CoV-2 (COVID-19): de los mecanismos fisiopatológicos al diagnóstico y tratamiento. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo.* 2022;22(1):44–54.
- Saha B, Wong CM, Parks RJ, The adenovirus genome contributes to the structural stability of the virion. *Viruses.* 2014. 6(9): 3563-3583.
- Sanbonmatsu S, Pérez M, Navarro JM. Infección por citomegalovirus humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32(supl 1): 15-22.
- Sánchez-Céspedes J, Marrugal-Lorenzo JA, Martín-Gandul C, Rodríguez-Torres N, Montero-Mateos E, Serna-Gallego A et al. T-cells immune response controls the high incidence of adenovirus infection in adult allogeneic hematopoietic transplantation recipients. *Hematologica.* 2021; 106(1), 275-278.
- Santos-Fuentes JC, Verano-Asiain V, Olgúin-Hernández RG, Ruvalcaba-Ledezma JC, Cortés-Ascencio SY, Reynoso-Vázquez J. et al. Sintomatología y factores de riesgo presentes en la enfermedad por SARS-CoV-2. *Journal of Negative and No Positive Results.* 2021; 6(11), 1373-1386.
- Sellar RS, Vargas FA, Henry JY, Verfuert S, Charrot S, Beaton B. et al. CMV promotes recipient T-cell immunity following reduced-intensity T-cell-depleted HSCT, significantly modulating chimerism status. *Blood.* 2015; 125(4):731-9.
- Sellar RS, Vargas FA, Henry JY. CMV promotes recipient T-cell immunity following reduced-intensity T-cell-depleted HSCT, significantly modulating chimerism status. *Blood.* 2015;125:731–9.
- Schmidt-Hieber M, Schwarck S, Stroux A, Ganepola S, Reinke P, Thiel E. et al. Immune reconstitution and cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation: the important impact of in vivo T cell depletion. *Int J Hematol.* 2010;91(5):877-85.
- Sharma A, Bhatt NS, St Martin A, Abid MB, Bloomquist J, Chemaly RF, et al. Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 in haematopoietic stem-cell transplantation recipients: an observational cohort study. *Lancet Haematol.* 2021;8:e185–93.
- Shimmura H, Tanabe K, Ishikawa N, Tokumoto T, Toda F, Toma H. Discontinuation of immunosuppressive antimetabolite for parvovirus B19-associated anemia in kidney transplant patients. *Transplant Proc.* 2000; 32:1967-70
- Sia IG, Patel R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(1):83-1.

- Singh N. Interactions between viruses in transplant recipients. *Clin Infect Dis*, 2005 ;40(3):430-6.
- Sive JI, Thomson KJ, Morris EC, Ward KN, Peggs KS. Adenoviremia has limited clinical impact in the majority of patients following alemtuzumab-based allogeneic stem cell transplantation in adults. *Clin Infect Dis*. 2012;55(10):1362-1370.
- Smedbraten YV, Sagedal S, Leivestad T, Mjoen G, Osnes K, Rollag H. et al. The impact of early cytomegalovirus infection after kidney transplantation on long-term graft and patient survival. *Clin Transplant*. 2014 ;28(1):120–6.
- Snydman DR : Editorial commentary: The complexity of latent cytomegalovirus infection in stem cell donors. *Clin Infect Dis*. 2014;59: 482-483.
- Solano C, Giménez E, Piñana JL, Albert E, Vinuesa V, Hernández-Boluda JC, Amat P, Navarro D. Impact of cytomegalovirus DNAemia on overall and non-relapse mortality in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2017;19(4).
- Song T, Chen G, Zhang X, Xu Y, Chen J, Wang Y. et al. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients with co-activation of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2014;94(40):3135-9.
- Steer CB, Szer J, Sasadeusz J, Matthews JP, Beresford JA, Grigg A. Varicella-zoster infection after allogeneic bone marrow transplantation: incidence, risk factors and prevention with low-dose aciclovir and ganciclovir. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25(6):657-64.
- Styczynski J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation. *Infect Dis Ther*.2018. 7: 1–16.
- Styczynski J, Gil L, Tridello G, Ljungman P, Donnelly JP, van der Velden W. et al. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in Epstein Barr Virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant in children and adults: A study from the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis*, 2013 ; 57: 794-802.
- Styczynski J, Van der Velden W, Fox CP, Engelhard D, De la Camara R, Cordonnier C, et al. Management of Epstein-Barr Virus Infections and Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders in Patients After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) Guidelines. *Haematologica*. 2016 ; 101 : 803–811.
- Suzuki J, A shizawa M, Okuda S, et al. V aricella zoster virus meningoencephalitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Infect Dis*. 2012; 14(4):7-12.
- Sweet C. The pathogenicity of cytomegalovirus. *FEMS Microbiology Reviews*. 1999; 23 : 457- 82.
- Tan SK, Waggoner JJ, Pinsky BA. Cytomegalovirus load at treatment initiation is predictive of time to resolution of viremia and duration of therapy in hematopoietic cell transplant recipients. *J Clin Virol*. 2015; 69:179–83.
- Taniguchi K, Yoshihara S, Tamaki H, Fujimoto T, Ikegame K, Kaida K. et al. Incidence and treatment strategy for disseminated adenovirus disease after haploidentical stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2012;91(8):1305-12.
- Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, Clift RA, Fefer A, Flournoy N et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1977; 49: 511-533.
- Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med*. 1957;257:491–6.
- Torre-Cisneros J, et al. Recomendaciones GESITRA-SEIMC y RESITRA sobre prevención y tratamiento de la infección por citomegalovirus en pacientes trasplantados. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(7):424-37
- 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.

- Trilla A. One world, one health: The novel coronavirus COVID-19 epidemic. *Med Clin (Barc)*. 2020;154(5):175-177.
- Uhlin M, Wikell H, Sundin M, Blennow O, Maeurer M, Ringden O. et al. Risk factors for Epstein-Barr virus- related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014; 99: 346-352.
- Ujike M, Taguchi F. Incorporation of Spike and Membrane Glycoproteins into Coronavirus Virions. *Viruses*, 2015; 1700–1725.
- Ullmann AJ, Schmidt-Hieber M, Bertz H, Heinz WJ, Kiehl M, Krüger W et al (German Working Group for Blood and Marrow Transplantation). Infectious diseases in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: prevention and prophylaxis strategy guidelines 2016. *Ann Hematol*.2016;95(9):1435-1455.
- Vallejo Ruiz M, Soria Saldise E, Mansilla Puerta C, Zabalza San Martín A, Ramírez N. Pasado y presente de la monitorización de la respuesta funcional inmunológica desarrollada frente a Epstein-Barr y Adenovirus en el trasplante de progenitores hematopoyéticos. *Anales Sis San Navarra*.2018. 41(1): 83-90.
- Wang M.-Y.; Zhao, R.; Gao, L.-J.; Gao, X.-F.; Wang, D.-P.; Cao, J.-M. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 2020 ; 10, 587269
- Wei N, Wang Y, Wang J, Wu L, Wang Z. Characteristics of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with chronic active Epstein-Barr virus disease: favorable responses to rituximab. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(6):1449-1451.
- White MK, Gordon J, Khalili K. The rapidly expanding family of human polyomaviruses: recent developments in understanding their life cycle and role in human pathology. *PLoS Pathogens*.2013.
- Wu L, Hutt-Fletche LM. Point mutations in EBV gH that abrogate or differentially affect B cell and epithelial cell fusion. *Virology*. 2007 ; 363(1)148-155.
- Yao H, Song Y, Chen Y, Wu N, Xu J, Sun C. et al. Molecular Architecture of the SARS-CoV-2. *Virus*. 2020; 183: 730–738.
- Yamanishi K, Mori Y, Pellett PE. Human herpesviruses 6 and 7. 2013; 2058-2079.
- Zhang Y.Z., Holmes E.C. A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2. *Cell*. 2020; 181 :223–227.