

Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal

Utilidad de la monitorización
de la inmunidad específica
a CMV: pre y postrasplante
Revisión sistemática

CMV-specific T-cell immunity
in kidney transplantation.
Monitoring the CMV-specific
T-cell response: pre and post-
transplant. *Executive summary*

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
DE TECNOLOGÍAS Y PRESTACIONES DEL SISTEMA NACIONAL DE SALUD



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE SALUD

Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal

Utilidad de la monitorización
de la inmunidad específica a
CMV: pre y postrasplante

Revisión sistemática

CMV-specific T-cell immunity
in kidney transplantation.
Monitoring the CMV-specific
T-cell response: pre and post-
transplant. *Executive summary*

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA

Martínez Férrez, Isabel

Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal: utilidad de la monitorización de la inmunidad específica a CMV: pre y postrasplante. Revisión sistemática / Isabel M. Martínez Férrez, Rocío Rodríguez López, Soledad Benot-López. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, 2017.

84 p; 24 cm. (Colección: Informes, estudios e investigación. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Serie: Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias)

ISBN: 978-84-946228-5-4

1. Trasplante renal 2. Infecciones por Citomegalovirus I. Rodríguez López, Rocío II. Benot López, Soledad III. Sevilla. Andalucía. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias X. España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad XI. España. Ministerio de Economía y Competitividad.

Autoras: Isabel M. Martínez-Férrez, Rocío Rodríguez-López y Soledad Benot-López.

Este documento ha sido financiado por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, en el marco del plan anual de trabajo de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS, aprobado en el Pleno del Consejo Interterritorial de 13 de abril de 2016

Edita: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía
Consejería de Salud

JUNTA DE ANDALUCÍA

Avda. de la Innovación, s/n. Edificio ARENA 1, s/n. Planta baja.
41020 Sevilla
España – Spain

ISBN: 978-84-946228-5-4

NIPO: en tramitación

Para citar este informe:

Martínez-Férrez IM, Rodríguez-López R y Benot-López S. Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal. Utilidad de la monitorización de la inmunidad específica a CMV: pre y postrasplante. Revisión sistemática. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS; 2017.

Este documento puede ser reproducido en todo o en parte, por cualquier medio, siempre que se cite explícitamente su procedencia

Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal

Utilidad de la monitorización
de la inmunidad específica a
CMV: pre y postrasplante

Revisión sistemática

CMV-specific T-cell immunity
in kidney transplantation.
Monitoring the CMV-specific
T-cell response: pre and post-
transplant. *Executive summary*

INFORMES DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS
AETSA



MINISTERIO
DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES
E IGUALDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
DE TECNOLOGÍAS Y PRESTACIONES DEL SISTEMA NACIONAL DE SALUD



JUNTA DE ANDALUCÍA
CONSEJERÍA DE SALUD

Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Índice de autores

Isabel M. Martínez-Férez. *Doctora en Biología. Técnico de Investigación en AETSA.*

Rocío Rodríguez-López. *Licenciada en Biblioteconomía y Documentación. Master en Información y Comunicación Científica.*

Soledad Benot-López. *Doctora en Medicina y Cirugía. Especialista en Bioquímica clínica. Coordinadora de proyectos en AETSA.*

Revisión del Informe

Dra. Antonia Álvarez Márquez. *Asesora técnica de la Coordinación de trasplantes de Andalucía.*

Dra. Sara Cantisán. *Grupo de Enfermedades Infecciosas. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC) / Hospital Reina Sofía. Córdoba.*

Dr. Salvador Gil-Vernet. *Director de Trasplament. Hospital Universitari de Bellvitge. l'Hospitalet de Llobregat.*

Dr. Francisco Manuel González Roncero. *Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.*

La Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía y los autores agradecen a los revisores de este texto el esfuerzo realizado, su dedicación y sus aportaciones.

Contribución de autores

- Planificación y revisión final: Isabel M. Martínez-Férez y Soledad Benot-López.
- Elaboración del documento: Isabel M. Martínez-Férez.
- Documentación: Rocío Rodríguez-López.

Índice

| | |
|--|----|
| Índice de tablas y figuras..... | 9 |
| Abreviaturas | 11 |
| Glosario | 13 |
| Resumen ejecutivo | 19 |
| Executive summary | 23 |
| Justificación..... | 27 |
| Introducción | 29 |
| 1. Problema de salud | 29 |
| 2. Descripción y características de la tecnología | 38 |
| Objetivo | 41 |
| Metodología | 43 |
| 1. Tipo de informe | 43 |
| 2. Búsqueda bibliográfica: bases de datos y estrategia..... | 43 |
| 3. Selección de artículos relevantes | 44 |
| 4. Evaluación de la calidad de los estudios y del riesgo de sesgos | 45 |
| 5. Extracción y síntesis de los resultados..... | 46 |
| Resultados..... | 47 |
| 1. Resultados de la búsqueda bibliográfica | 47 |
| 2. Descripción de los estudios y evaluación del riesgo de sesgos | 50 |
| 3. Resultados clínicos de los estudios | 57 |
| Discusión..... | 63 |
| Conclusiones..... | 69 |
| Referencias..... | 71 |
| Anexos..... | 79 |
| Anexo 1. Agencias de Evaluación consultadas | 79 |
| Anexo 2. Estrategias de búsqueda..... | 80 |
| Anexo 3. Resultados en las bases referenciales | 84 |

Índice de tablas y figuras

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Relación de trasplantes renales (balance de actividad de la ONT, 2015)..... | 30 |
| Tabla 2. Posibles efectos indirectos de la infección por CMV en trasplante (Kotton <i>et al.</i> , 2013) | 34 |
| Tabla 3. Características de las pruebas para determinar la respuesta celular inmune específica a CMV (Calarota <i>et al.</i> , 2015) | 40 |
| Tabla 4. Estudios de monitorización de la inmunidad celular a CMV pretrasplante a texto completo | 48 |
| Tabla 5. Estudios de monitorización de la inmunidad celular a CMV postrasplante a texto completo..... | 49 |
| Tabla 6. Descripción de los estudios de monitorización pretrasplante .. | 53 |
| Tabla 7. Características del estudio postrasplante incluido en la revisión, Eid <i>et al.</i> , 2010..... | 56 |
| Tabla 8. Frecuencias de infección por CMV encontradas en las poblaciones de cada estudio..... | 57 |
| Tabla 9. Linfocitos T y epítomos analizados en la respuesta inmune celular en los estudios incluidos | 58 |
| Tabla 10. Resultados del área bajo la curva y puntos de corte para cada prueba..... | 58 |
| Tabla 11. Parámetros de exactitud diagnóstica de las diferentes pruebas de determinación de la respuesta inmune celular pretrasplante para identificar el riesgo de infección por CMV..... | 59 |
| Tabla 12. Cocientes de probabilidad de las pruebas utilizadas en cada estudio | 60 |
| Tabla 13. Resultados Eid <i>et al.</i> , 2010 | 62 |
| Figura 1. Diagrama de flujo de selección de referencias de bases referenciales biomédicas | 47 |
| Figura 2. Representación del riesgo de sesgo y aplicabilidad de los estudios de valoración pretrasplante de la respuesta inmune celular | 55 |

Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico.

ARN: ácido ribonucleico.

AUC: área bajo la curva (*Area Under the Curve*).

CD4+: linfocitos T con marcador CD4 positivo.

CD8+: linfocitos T con marcador CD8 positivo.

CMV: Citomegalovirus.

CPH: Complejo Principal de Histocompatibilidad.

D+: donador de trasplante con serología positiva (con anticuerpos) para un determinado microorganismo.

D-: donador de trasplante con serología negativa (sin anticuerpos) para un determinado microorganismo.

HLA: antígeno leucocitario humano.

ICS: tinción intracelular de citocinas (*Intracellular Cytokine Staining*).

IL: Interleucina.

INF- γ : interferon-gamma.

CP+: coeficiente de probabilidad positivo (*Positive Likelihood Ratio*).

CP-: coeficiente de probabilidad negativo (*Negative Likelihood Ratio*).

ONT: Organización Nacional de Trasplantes.

PBMC: células mononucleares en sangre periférica (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*).

PCR: reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*).

R+: receptor de trasplante con serología positiva (con anticuerpos) para un determinado microorganismo.

R-: receptor de trasplante con serología negativa (sin anticuerpos) para un determinado microorganismo.

SNS: Sistema Nacional de Salud.

TOS: Trasplante de Órgano Sólido.

Glosario

Definiciones de términos y glosario (Ljungman, Griffiths y Paya, 2002; Montejo, 2011).

Antígeno: sustancia o molécula ajena al organismo que induce una respuesta inmunitaria mediante la producción de anticuerpos específicos y la activación de linfocitos específicos. Según su origen puede ser exógeno o endógeno.

CMV: citomegalovirus o herpesvirus tipo 5, es un virus de ADN de doble cadena de la familia de Herpesviridae. Se transmite de manera oral-respiratoria y también a través de la sangre, la placenta y la leche materna. Es un virus muy frecuente y diseminado en la población mundial. Tiene la capacidad de mantenerse en estado latente en su huésped adquiriendo el ADN viral forma circular y expresando solamente algunos genes virales asociados a la latencia. Los genomas virales latentes mantienen su capacidad de replicación y pueden producir enfermedad en cuando se reactiva el virus, estos periodos de reactivación intermitente están generalmente asociados a estados de inmunosupresión del individuo.

Carga viral: es la cuantificación de la infección producida por un virus mediante la estimación de la cantidad de partículas virales en los fluidos corporales, como por ejemplo ARN o ADN viral por mililitros de sangre. La carga viral se requiere para la monitorización de la profilaxis y del tratamiento anticipado o curativo con medicamentos antivirales que se recomienda en los casos de trasplante. Dado que el CMV es el agente patógeno más importante, que afecta los casos de trasplante por su correlación directa con el rechazo del injerto u órgano trasplantado, se recomienda su realización semanal, al menos mientras el paciente permanezca ingresado.

Citoquinas o citocinas: proteínas de bajo peso molecular producidas durante las respuestas inmunes natural y específica, que funcionan como mensajeros del sistema inmune, se unen a receptores específicos en células diana y esta unión desencadena una serie de reacciones en el interior celular provocando la activación y expresión de genes. Intervienen en la maduración y amplificación de la respuesta inmune.

Enfermedad por CMV: se presenta cuando el paciente muestra síntomas o signos (síndrome viral o afectación visceral).

Síndrome CMV: en pacientes con trasplante de órganos sólidos se define por la aparición de fiebre $> 38^{\circ}\text{C}$, durante al menos 2 días en un periodo de 4 días, asociada a la presencia de leucopenia, trombocitopenia o elevación de transaminasas, junto con la detección de CMV en sangre.

Afectación visceral: se manifiesta por síntomas y signos en los órganos afectados. Las afectaciones viscerales más comunes son: la neumonía, la hepatitis, la enfermedad digestiva, la encefalitis, la retinitis, la nefritis, la cistitis, la miocarditis y la pancreatitis.

Epítipo o determinante antigénico: es la región de una macromolécula o antígeno que es reconocida por un anticuerpo y que se une a él para formar el complejo antígeno-anticuerpo.

Factor de riesgo: cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión.

Factor pronóstico: características de la enfermedad que se correlacionan con el curso de la enfermedad y que se utilizan para predecir los resultados probables.

HLA: antígenos leucocitarios humanos. Son proteínas que ayudan al sistema inmunitario del cuerpo a diferenciar entre sus propias células y sustancias extrañas y dañinas. Se utiliza para buscar la compatibilidad de tejido donado para receptores de órgano y estimar el riesgo de una persona a desarrollar o tener trastornos autoinmunitarios.

Infección con CMV: consiste en el aislamiento del virus CMV o la detección de proteínas virales o de ácido nucleico en cualquier fluido corporal o tejido.

Infección primaria: detección del CMV en un paciente inicialmente seronegativo.

Infección recurrente: detección de infección en un paciente que previamente había tenido infección y que no se había detectado el CMV en un intervalo de al menos 4 semanas. Esta infección recurrente puede ser:

Reactivación: por reactivación del virus endógeno latente.

Reinfección: por la infección de una cepa de virus diferente a la que causó al paciente la primera infección.

Interferón- γ : citoquina producida por los linfocitos T (linfocitos CD4+ de tipo Th1, linfocitos CD8+ y las células NK); cuya función principal es la activación de los macrófagos.

Linfocitos CD8+: reciben también el nombre de linfocitos T citotóxicos (Tc), que presentan el marcador CD (*cluster designation*) 8. Las células CD8+ identifican y destruyen a las células infectadas por virus y las células tumorales. En su superficie presentan receptores (TCR) que reconocen específicamente a proteínas HLA tipo I del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH).

Linfocitos CD4+: reciben también el nombre de linfocitos T presentadores de antígeno o colaboradores (Th) y presentan el marcador CD (*cluster designation*) 4. En su superficie presentan receptores (TCR) que reconocen específicamente a proteínas HLA tipo II del CPH.

Macrófagos: células que intervienen en la respuesta inmune, están localizadas en los tejidos y su función principal es la de fagocitar células extrañas al organismo, como bacterias o restos de tejidos.

PCR: técnica de biología molecular, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular.

Profilaxis universal: consiste en la administración de un antiviral, para prevenir el desarrollo de la infección y/o enfermedad por CMV, a aquellos pacientes en riesgo en ausencia de sospecha clínica y datos de infección.

Proteína pp65: proteína del tegumento del CMV utilizada para la detección precoz de la infección mediante anticuerpos monoclonales específicos.

Respuesta inmune innata: es una respuesta inmediata de defensa del organismo ante la presencia de un antígeno o cuerpo extraño. Se trata de una respuesta inespecífica, no requiere un aprendizaje o memoria e intervienen células dendríticas, monocitos, neutrófilos, macrófagos y células *Natural Killer (NK)*. Entre las moléculas que intervienen en este tipo de respuesta se encuentran las citocinas: principalmente las interleucinas IL-2, IL-6, IL-7 y las quimiocinas (IL-8).

Respuesta inmune adaptativa: es una tercera línea de defensa, tras las barreras naturales y la respuesta inmune innata, y se caracteriza por reconocer de forma específica a los antígenos y tener memoria. En ella participan dos tipos de linfocitos, los linfocitos T y los B.

Respuesta inmune humoral: respuesta inmune mediada principalmente por los linfocitos B. Los linfocitos B se activan diferenciándose en células plasmáticas que son las responsables de la síntesis de anticuerpos. En la activación de los linfocitos intervienen las inmunoglobulinas presentes en su membrana y los linfocitos T colaboradores.

Respuesta inmune celular: respuesta inmune que actúa frente infecciones víricas y células tumorales. Está mediada por los linfocitos T que maduran en el timo y adquieren una serie de moléculas que intervienen de forma esencial en la respuesta inmune. Estos linfocitos T presentan receptores denominados TCR que reconocen específicamente tanto a péptidos antigénicos (epítomos) como a la molécula HLA del CPH que lo presenta. Hay varios tipos de linfocitos T, entre ellos se encuentran los linfocitos T colaboradores (Th), los linfocitos T citotóxicos (Tc) y los linfocitos T reguladores (Tr).

Serología: análisis para detectar anticuerpos específicos contra un organismo en sangre o suero.

Técnicas de detección de CMV en sangre: las técnicas más utilizadas son:

Viremia: aislamiento de CMV mediante cultivo de la sangre.

Antigenemia: detección directa de la proteína pp65 de CMV en leucocitos de sangre periférica, fundamentalmente de neutrófilos.

DNAemia: detección de ADN viral en muestras de plasma, sangre completa o leucocitos. Se puede detectar por diferentes técnicas como: PCR, captura del híbrido, análisis de ADN en rama...

RNAemia: detección de ARN viral en sangre periférica.

Serología: serología para CMV determina la presencia de anticuerpos contra el virus citomegalovirus (CMV) en la sangre. Las personas que nunca han sido infectadas con el CMV no presentan anticuerpos detectables (seronegativas), y la presencia de anticuerpos (personas seropositivas) indica una infección previa o actual con citomegalovirus.

Tratamiento o terapia anticipada: tratamiento antiviral precoz para pacientes que presentan replicación asintomática de CMV (detectada por monitorización regular en sangre de ADN o antigenemia viral).

Utilidad clínica: muestra el balance entre los beneficios y riesgos asociados a la prueba. Indica si la prueba dará lugar a una mejora en los resultados en salud del paciente o a un mejor manejo del mismo.

Validez clínica: es la capacidad de una prueba para identificar de forma precisa y fiable a los pacientes o para predecir los resultados clínicos de interés. Normalmente, se presenta en términos de sensibilidad y especificidad clínica.

Resumen ejecutivo

Título: Inmunidad celular específica a CMV en trasplante renal. Utilidad de la monitorización de la inmunidad específica a CMV: pre y postrasplante. Revisión sistemática.

Autoras: Isabel M. Martínez-Férez, Rocío Rodríguez-López y Soledad Benot-López.

Antecedentes y justificación

La infección por citomegalovirus (CMV) es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en pacientes con trasplantes de órganos sólidos. La valoración del riesgo de infección por CMV es vital para la decisión del manejo postrasplante del paciente, ya que determina si se recomienda un tratamiento profiláctico o terapia anticipada. Este riesgo se establece principalmente con base en la serología del donante y del receptor del órgano, actualmente se han desarrollado técnicas para determinar la respuesta inmune celular específica a CMV del receptor con la finalidad de ayudar a una identificación más precisa de los pacientes en riesgo de infección.

Objetivo

Evaluar la validez y utilidad del análisis de la respuesta inmune celular específica a CMV en pacientes con trasplante renal, en términos de resultados en salud de los pacientes (reducción de la morbilidad/enfermedad por CMV) y/o impacto en la decisión terapéutica en dos indicaciones diferentes:

1. Pretrasplante como complemento a la serología en la clasificación del riesgo de infección de los pacientes antes del trasplante renal.
2. Postrasplante en la monitorización de los pacientes de alto riesgo (D+/R-) tras el tratamiento profiláctico.

Metodología

Se ha llevado a cabo una revisión sistemática de la literatura, para la que se ha realizado una búsqueda bibliográfica en las principales bases de datos biomédicas referenciales de ámbito internacional. Además, se han consultado las principales Agencias y Unidades de Evaluación de Tecnologías Sanitarias nacionales e internacionales. Se ha realizado una

lectura crítica de los artículos seleccionados, con el fin de identificar los problemas metodológicos que pudieran influir en su validez, y una síntesis cualitativa de los resultados.

Resultados

Pretrasplante:

Se han identificado 3 estudios prospectivos que incluían un total de 164 pacientes, mayoritariamente de riesgo intermedio según serología (R+), y que han valorado la capacidad de la respuesta inmune celular de diagnosticar el riesgo de infección. Los estudios han utilizado diferentes técnicas para determinar dicha respuesta y diferentes epítomos para la estimulación de los linfocitos. Han establecido los valores de corte más adecuados y han estimado los parámetros diagnósticos (sensibilidad, especificidad y valores pronósticos) para los puntos de corte seleccionados. Los estudios eran de buena calidad metodológica. Se ha observado que la estimulación de la respuesta inmune varía según el antígeno usado. Las pruebas presentaban una especificidad entre el (79 % – 85,7 %), pero mostraban una baja sensibilidad (44 % – 50 %) y sus coeficientes de probabilidad indicaban que no aportaban evidencia diagnóstica del riesgo de infección.

Postrasplante:

En esta indicación se ha identificado un único estudio prospectivo que incluía 44 pacientes con trasplante renal, 11 de ellos de alto riesgo D+/R- y 33 de riesgo bajo o intermedio; todos tratados con profilaxis durante 3 meses y seguidos durante 12 meses. Las variables de resultado recogidas han sido la frecuencia de infección o enfermedad por CMV y los porcentajes de CD4+ y CD8. La calidad de la evidencia aportada por el estudio era baja. Los pacientes de alto riesgo presentaban una incidencia de infección y enfermedad por CMV significativamente mayor que los R+ aunque no encontraron asociación entre la infección o enfermedad de CMV y los recuentos de células CD4+ y CD8+ específicas de CMV. Si bien, estos resultados podrían verse comprometidos por el escaso número de pacientes analizados.

Conclusiones

Pretrasplante:

- Las pruebas que establecen la respuesta inmune celular específica a CMV mediante análisis de INF- γ se encuentran en fase de investigación. Se está valorando los epítomos más adecuados y los puntos de con mayor capacidad de discriminación en las dos técnicas analizadas (*ELISpot-assay* e ICS).

- Las pruebas *ELISpot-assay* e ICS han mostrado baja sensibilidad y alta especificidad, aunque los coeficientes de probabilidad positivo y negativo indicaban que las pruebas no aportaban información diagnóstica significativa sobre el riesgo de infección por CMV.
- No existe evidencia sobre la utilidad clínica de la monitorización en esta indicación de las CD4+ y CD8+ específicas de CMV.

Postrasplante:

- El mayor factor de riesgo de infección y/o enfermedad por CMV parece ser el estado serológico del donante y el receptor del injerto (D+/R-).
- No se ha detectado asociación entre los niveles de células CD4+ y CD8+ específicas de CMV (ICS) y la incidencia de infección o enfermedad en trasplante renal; aunque la evidencia procede de un único estudio con limitaciones metodológicas.
- No se dispone de evidencia sobre la utilidad clínica postrasplante de la monitorización de la respuesta inmune celular específica a CMV (CD4+ y CD8+) en pacientes D+/R-. No se ha encontrado estudios que valoren si su utilización ha reducido la incidencia o tasa de infección pos CMV.

Executive summary

Title: CMV-specific T-cell immunity in kidney transplantation. Monitoring the CMV-specific T-cell response: pre and post-transplant.

Authors: Isabel M. Martínez-Férez, Rocío Rodríguez-López y Soledad Benot-López.

Background and justification

Human cytomegalovirus (CMV) infection is one of the major causes of morbidity and mortality in renal transplant. The assessment of the risk of CMV infection is crucial for post-transplant management decision, as it determines whether prophylactic or preemptive therapy strategy should be recommended. Traditionally, the risk is established according to the donor and recipient serology. Currently, new techniques are available to measure the CMV-specific cellular immune response of the transplant recipient, which could help a more accurate assessment of patient infection risk.

Objective

To assess the clinical validity and utility of monitoring CMV-specific cellular immune response in renal transplant patients. Health outcomes (reduction of morbidity / disease by CMV) and / or the impact on the therapeutic decision were considered in two different indications:

1. Pre-transplant: as a complement to the serology in the classification of the risk of infection of the patients before the renal transplant.
2. Post-transplant in the monitoring of high risk patients (D + / R-) after prophylactic treatment.

Methodology

A systematic review of the literature was carried out. A literature search was conducted on the main biomedical databases until 11th of March of 2016. In addition, the principal national and international agencies and units of Health Technology Assessment were consulted. A critical appraisal of selected studies was carried out to estimate the quality of their evidence. A qualitative synthesis of the data was performed.

Two independent reviewers performed the selection of included studies, data extraction and risk of bias assessment. The reviewers resolved disagreements by discussion and consensus.

Results

Pre-transplant

Three prospective studies involving a total of 164 patients, mostly of intermediate risk according to serology (R +), have been identified. All of them have assessed the ability of the cellular immune response to diagnose the risk of infection. The studies have used different techniques to determine this response and different CMV-specific epitopes for the stimulation of T-cell. Each one of them has established the most appropriate cutoff values and has estimated the diagnostic parameters (sensitivity, specificity and prognostic values) for the selected cutoff points. The studies have shown the stimulation of the immune response varies according to the antigen used. The quality of the evidence provided by the studies was good. The assays to analyze the T-cell response to CMV-specific antigens had a good specificity (79 % – 85.7 %) but showed a low sensitivity (44 % – 50 %) and their likelihood ratio indicated that they did not provide diagnostic evidence of the risk of infection.

Post-transplant

In this indication, a single prospective study was identified. It included 44 patients with renal transplants, 11 of them with high risk of CMV infection (D + / R-) and 33 with low or intermediate risk, all patients were treated with prophylaxis for 3 months and followed for 12 months. The clinical outcomes were CMV infection and CMV disease. Measurement of CMV-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes was performed. The quality of the evidence provided by the study was low. In the study, high-risk patients had a significantly higher incidence of CMV infection and disease than R + patients, although no association between CMV infection/disease and CMV-specific CD4 + and CD8 + cell counts was found. Nevertheless, these results could be compromised by the small number of patients analyzed.

Conclusions

Pre-transplant

- CMV-specific cellular immune response assays using INF- γ analysis are under investigation. The most appropriate epitopes and the higher capacity points of discrimination in the two tested techniques (ELISpot-assay and ICS) are being evaluated
- ELISpot-assay and ICS tests have shown low sensitivity and high specificity; although positive and negative likelihood ratios indicated the tests did not provide meaningful diagnostic information on the risk of CMV infection.

- The clinical utility of CMV-specific CD4 + and CD8 + monitoring remain unclear.

Post-transplant in D+/R- patients

- The major risk factor for CMV infection and / or disease appears to be the serological status of the donor and graft recipient.
- No association between CMV-specific CD4 + and CD8 + cell (ICS) levels and the infection or disease in renal transplantation was found; although the evidence proceeded from a single study with methodological limitations.
- There is no evidence on the clinical utility of monitoring CMV-specific cellular immune response (CD4 + and CD8 +) in this indication.

Justificación

España es uno de los países con mayor número de trasplantes al año, a lo largo del año 2015 se han realizado más de 4000 trasplantes. La infección por citomegalovirus (CMV) es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en pacientes con trasplantes de órganos sólidos, y su importancia deriva de la alta prevalencia del virus en la población mundial y de su capacidad de permanecer en estado latente, pudiendo reactivar su replicación en las condiciones de inmunodeficiencia que presentan este tipo de pacientes.

La valoración del riesgo de infección por CMV es vital para la decisión del manejo postrasplante del paciente, ya que va a determinar si se recomienda un tratamiento profiláctico o terapia anticipada. De forma convencional, la valoración del riesgo de infección se ha realizado con base en el estado serológico del donante y el receptor del órgano. A pesar de esta valoración del riesgo y de la reducción de las infecciones gracias a los tratamientos preventivos mencionados, la infección por CMV sigue teniendo un impacto importante en la salud de los pacientes trasplantados debido a la severidad de los efectos indirectos que causan. De ahí, la continua búsqueda de técnicas que ayuden a una identificación lo más precisa posible de aquellos pacientes con mayor riesgo de infección. Una de estas técnicas es la valoración de la respuesta inmune celular específica a CMV de cada paciente.

Por consiguiente, considerando el impacto que supone la infección por CMV en la salud de los pacientes con trasplantes, que el trasplante de riñón es el trasplante más frecuente en España, y que actualmente se dispone de una tecnología (determinación de la respuesta inmune celular específica a CMV) que podría ayudar a una identificación más precisa de los pacientes en riesgo de infección, es importante evaluar críticamente la evidencia científica sobre la utilidad clínica de esta tecnología para su posible utilización en el proceso de toma de decisión con el fin de mejorar la salud de estos pacientes

Este informe de evaluación ha sido realizado a petición de la Comisión de Prestaciones, Aseguramiento y Financiación, dependiente del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, a propuesta del Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad.

Introducción

1. Problema de salud

1.1 Trasplante renal

El trasplante renal es el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) y está asociado por una parte, a una mayor supervivencia y calidad de vida del paciente y por otra parte, a un menor coste en comparación con el tratamiento sustitutivo con diálisis (Moreso y Hernández, 2013).

El trasplante renal consiste en una intervención quirúrgica en la que se reemplaza un riñón dañado por un órgano sano procedente de un donante. El órgano puede proceder de un donante vivo o de un donante fallecido, dentro de este último tipo la donación en asistolia está siendo fomentada al considerarse una estrategia indispensable para garantizar la disponibilidad de órganos para trasplante. La donación en asistolia tiene lugar tras el fallecimiento del donante por un cese irreversible de las funciones cardiorrespiratorias (ausencia de latido cardíaco y de respiración espontánea durante más de cinco minutos), mientras que la donación más frecuente es la donación tras muerte encefálica. La diferencia entre estos dos tipos de donación es el tiempo disponible para la toma de la decisión de realizar la donación. Mientras que en la muerte encefálica la sangre sigue circulando y manteniendo en funcionamiento el resto de los órganos en la donación por asistolia la decisión de donación debe tomarse lo más rápido posible porque es importante reducir al máximo el tiempo de isquemia fría, tiempo que comienza cuando el órgano es enfriado con una solución de perfusión fría después de la cirugía de la obtención del órgano, y termina después que el tejido alcanza la temperatura fisiológica durante los procedimientos de implante (Organización Nacional de Trasplantes, 2012 y 2015).

La Organización Nacional de Trasplantes (ONT), en su balance de actividad en donación y trasplante del año 2015, ha mostrado que España sigue siendo líder mundial en donaciones y trasplantes desde hace 24 años y ha registrado el mayor aumento en el número de donantes de su historia, lo que le ha permitido alcanzar los 39,7 donantes por millón de población. También se ha registrado un incremento histórico en el número total de trasplantes realizados (+9,4 %), lo que se ha traducido en un total de 4769 pacientes

trasplantados en 2015, con máximos de actividad en trasplante renal (2905), hepático (1162) y pulmonar (294). Dentro del balance de actividad de la ONT del 2015, la relación de trasplantes renales en las distintas Comunidades Autónomas (CCAA) en comparación con los años anteriores ha sido la siguiente (Tabla 1):

| CCAA | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Andalucía | 457 | 412 | 453 | 453 |
| Aragón | 68 | 85 | 78 | 78 |
| Asturias | 50 | 48 | 51 | 52 |
| Baleares | 52 | 39 | 49 | 52 |
| Canarias | 91 | 101 | 108 | 123 |
| Cantabria | 36 | 61 | 46 | 55 |
| Castilla - La Mancha | 55 | 94 | 82 | 90 |
| Castilla y León | 117 | 108 | 117 | 111 |
| Cataluña | 559 | 540 | 604 | 647 |
| C. Valenciana | 232 | 237 | 246 | 281 |
| Extremadura | 34 | 30 | 44 | 53 |
| Galicia | 138 | 132 | 141 | 168 |
| La Rioja | 5 | 16 | 7 | 16 |
| Madrid | 432 | 406 | 431 | 450 |
| Murcia | 76 | 61 | 54 | 68 |
| Navarra | 32 | 26 | 40 | 49 |
| País Vasco | 117 | 156 | 127 | 159 |
| Total del Estado | 2551 | 2552 | 2678 | 2905 |
| Trasplantes de donante vivo | 235 | 382 | 423 | 388 |
| Trasplantes Infantiles | 62 | 67 | 58 | 71 |

Estos datos muestran que el trasplante renal ha sido el más frecuente, al representar el 61 % del total de trasplantes realizados en España en 2015 (ONT, 2015).

A pesar del alto número de intervenciones realizadas, el trasplante no es un tratamiento rutinario en la práctica clínica y la principal barrera para su realización es el propio sistema inmune del paciente receptor del órgano.

El sistema inmune humano ha desarrollado mecanismos efectivos que impiden la entrada de agentes extraños al propio organismo. Estos mecanismos son causante de una de los grandes problemas de los trasplantes al no reconocer el órgano como propio y desencadenar una serie de procesos destinados a destruirlo, lo que conlleva el rechazo del órgano por parte del huésped. Esta respuesta inmune contra el órgano

donado está asociada al Complejo Principal de Histocompatibilidad o de reconocimiento de tejido (CPH).

Este Complejo Principal de Histocompatibilidad o de reconocimiento de tejido (CPH) está formado por un conjunto de genes que codifican proteínas que se encuentran en la superficie celular y que intervienen en los procesos de reconocimiento de antígenos jugando, por consiguiente, un papel importante en la respuesta inmunitaria.

En la especie humana los genes del complejo de histocompatibilidad se encuentran localizados en el cromosoma 6 en una región denominada HLA. Los genes de esta región HLA se clasifican en tres tipos:

- Clase I: los genes de esta clase se denominan HLA A, B y C, están localizados en la región telomérica y son muy polimórficos. Sus productos son responsables de presentar los péptidos antígenos a los Linfocitos T citotóxicos (CD8+) y del rechazo de trasplante.
- Clase II: Se encuentran los genes HLA-DP, HLA-DQ y HLA-D y también presentan un alto grado de polimorfismo. Las proteínas codificadas por estos genes son las encargadas de presentar los péptidos antígenos a los Linfocitos T CD4+.
- Clase III: En esta clase se encuentran los genes que codifican las proteínas del complemento.

1.2 Terapias inmunosupresoras

La estrategia terapéutica dirigida a reducir el rechazo y pérdida del injerto se basa principalmente en tratamientos inmunosupresores. La finalidad de estos tratamientos inmunosupresores es prevenir y tratar el rechazo agudo y evitar la lesión crónica del injerto, minimizando los efectos adversos de los inmunosupresores. Las pautas actuales de inmunosupresión están orientadas a bloquear la activación, proliferación y función de los linfocitos T (Bestard *et al.*, 2012).

Los tratamientos inmunosupresores pueden dividirse en dos grupos: tratamientos de inducción y tratamientos de mantenimiento.

Los tratamientos de inducción se inician antes del trasplante, o bien durante la intervención quirúrgica y suelen combinar diferentes fármacos. Básicamente, se utilizan dos regímenes de inducción, el convencional en altas dosis y otro que combina la terapia convencional en bajas dosis con anticuerpos dirigidos contra antígenos de las células T.

La terapia convencional es una triple-terapia que incluye en altas dosis:

- Inhibidores de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimus).
- Corticoesteroides.
- Antimetabolitos o agentes antiproliferativos (micofenolato de mofetilo, ácido micofenólico o azatioprina).

Por otra parte, el régimen de inducción con anticuerpos estaría formado por la triple-terapia convencional en dosis reducidas, en combinación con uno de los siguientes fármacos: basiliximab, alemtuzumab o rATG (Chandraker, 2016).

Los tratamientos de mantenimiento de la inmunosupresión se administran tras el trasplante para evitar el rechazo del órgano y se va reduciendo la dosis a lo largo del tiempo con el fin de evitar los efectos adversos que conllevan. Es necesario intentar establecer un equilibrio entre el estado de inmunosupresión para evitar el rechazo y la respuesta inmune del paciente para evitar infecciones oportunistas. Estos tratamientos de mantenimiento incluyen básicamente esteroides, inhibidores de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimus) y azatioprina o micofenolato de mofetilo (Hardinger y Brennan, 2016).

Los principales efectos adversos producidos por el tratamiento inmunosupresor son:

- Las infecciones oportunistas.
- La aparición de neoplasias.
- La aparición de factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, colesterol y el aumento de triglicéridos.
- Diabetes mellitus.

1.3 La infección por Citomegalovirus (CMV)

Como se ha mencionado anteriormente, el desarrollo de terapias inmunosupresoras cada vez más potentes y más eficaces ha reducido la incidencia del rechazo agudo del órgano o tejido trasplantado. Sin embargo, estas terapias provocan una mayor susceptibilidad a infecciones por patógenos oportunistas y a neoplasias inducidas por virus (Fishman, 2014). Una de estas infecciones postrasplante es la producida por el citomegalovirus (CMV).

El CMV es un herpesvirus ampliamente distribuido en la naturaleza y como los demás virus de la familia herpesviridae presenta la capacidad de permanecer latentes en el individuo y reactivarse de manera intermitente. El virus presenta una estructura compleja formada por un *core* con molécula de ADN bicatenario lineal, una cápside icosaédrica, el tegumento

y la envoltura. El tegumento contiene proteínas específicas codificadas del virus que unen la cápsida a la envoltura, dos de estas proteínas la pp150 y la pp65 son muy inmunogénicas (Tomtishen, 2012). Por último, se encuentra la envoltura que es la parte más externa y es de naturaleza lipídica, en ella se localizan glicoproteínas en forma de espículas, algunas de las cuales intervienen en la unión del virus a la célula huésped. Estas glicoproteínas contienen diversos epítomos que se unen a anticuerpos neutralizantes.

El CMV es muy frecuente y la exposición al virus viene indicada por la presencia de anticuerpos IgG específicos anti-CMV en el plasma. Se ha encontrado que el 40 - 100 % de la población son seropositivos para CMV, (Krech *et al.*, 1973). La patogenia es similar a los otros virus de la familia, aunque no presenta un cuadro clínico definido y se le considera ubicuo. El CMV permanece en forma latente en los leucocitos mononucleares y en órganos como riñón y corazón; se reactiva principalmente en condiciones de inmunosupresión y es muy frecuente en enfermos con SIDA. La inmunidad celular es esencial para resolver y controlar la infección; aunque el genoma del CMV codifica varias proteínas que ayudan al virus a infectar a las células evitando el sistema inmune del huésped al afectar la expresión del CPH. Entre estas proteínas se han descrito homólogos de las proteínas HLA de clase I cuya función podría ser la de desestabilizar la respuesta inmune celular favoreciendo la replicación del virus y evitando la acción lítica de las células *killer* (Jenkins, Rowe y Rinaldo, 2003).

Tras el trasplante, pueden ocurrir infecciones por CMV por reactivación de una infección latente preexistente en el órgano del receptor o por una infección primaria producida por un virus procedente del donante del órgano (Jenkins *et al.*, 2003). La infección por citomegalovirus es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad en trasplantes de órganos sólidos (TOS) (Torre-Cisneros *et al.*, 2011). Aproximadamente el 75 % de los pacientes trasplantados muestran alguna evidencia de infección activa por CMV durante el primer año tras el trasplante (Pereyra y Rubin, 2004). En aquellos casos de alto riesgo (D+/R-) con tratamiento profiláctico durante 3 meses tras TOS entre el 15 - 38 % presentan infección de aparición tardía, es decir, infección que se presenta al finalizar el periodo de profilaxis (Eid y Razonable, 2010; Kotton *et al.*, 2013).

En el caso concreto del trasplante renal, se ha observado que la incidencia global de infección y enfermedad por CMV durante los 100 días siguientes al trasplante (sin profilaxis) era del 63 % y del 23,4 %, respectivamente. La incidencia de enfermedad por CMV observada era casi tres veces mayor en pacientes D+/R- que en pacientes D±/R+ - 54 % vs 19 % respectivamente—. Además, parece ser que tanto

el desarrollo de la enfermedad por CMV como la infección asintomática durante los 100 primeros días tras el trasplante aumentaría el riesgo de mortalidad y de pérdida de injerto (Sagedal *et al.*, 2004).

La infección por CMV conlleva el riesgo de provocar una serie de efectos indirectos, que pueden ser generales o específicos del órgano trasplantado (Tabla 2) (Kotton, *et al.*, 2013).

| Tabla 2. Posibles efectos indirectos de la infección por CMV en trasplante (Kotton <i>et al.</i>, 2013) |
|--|
| Efectos indirectos específicos del trasplante |
| Riñón: nefropatía crónica del injerto y/o pérdida del injerto tras el trasplante. |
| Hígado: rápida recurrencia de hepatitis C tras el trasplante. Trombosis de la arteria hepática |
| Corazón: vasculopatía del injerto postrasplante |
| Pulmón: bronquiolitis obliterante postrasplante |
| Efectos indirectos específicos del trasplante |
| Infecciones de origen bacteriano, fúngico y vírico. |
| Trastornos linfoproliferativos postrasplante |
| Problemas cardiovasculares |
| Desarrollo de diabetes postrasplante |
| Inmunosenescencia |
| Rechazo agudo del injerto |
| Mortalidad |

1.3.1. Factores de riesgo de infección por CMV

Los factores que influyen en la aparición de infecciones por CMV postrasplante, se pueden englobar en tres categorías (Salavert, Granada, Díaz y Zaragoza, 2011):

- El trasplante: el órgano trasplantado, la modalidad y técnica quirúrgica del trasplante y el protocolo de inmunosupresión utilizado.
- La relación entre el estado serológico del donante y del receptor del trasplante (estado D/R) y la carga viral que reciba el receptor en el órgano trasplantado.
- Los tratamientos de prevención utilizados para evitar el desarrollo de enfermedad viral: profilaxis universal, profilaxis selectiva adaptada al riesgo, profilaxis prolongada, profilaxis diferida en su inicio o terapia anticipada.

De los factores mencionados, el estado serológico del donante y del receptor se considera el principal factor de riesgo para la infección por CMV en todos los tipos de trasplante. En cuanto al tipo de órgano trasplantado, se ha observado que en los trasplantes de intestino, páncreas y pulmón la aparición de infección y/o enfermedad por CMV es más frecuente, y

normalmente más severa, que en los trasplantes de hígado, corazón y riñón. El riesgo de infección también aumentaría en los casos de trasplante múltiple (renal-pancreático, cardiopulmonar) (Torre-Cisneros *et al.*, 2011).

1.3.2. Métodos para el diagnóstico de infección por CMV

El diagnóstico de la infección por CMV es complicado y difícil en pacientes trasplantados debido a que los efectos del tratamiento inmunodepresor administrado pueden enmascarar los signos y síntomas de infección tanto aguda (inflamación) como crónica (infiltración celular) (Fishman, 2014).

Los métodos utilizados en el diagnóstico de la infección por CMV son principalmente cuatro:

- Cultivo.
- Histopatología.
- Serología. Detección de anticuerpos (IgM) específicos de CMV.
- Ensayo de antigenemia pp65.
- PCR cuantitativa.

El cultivo no se utiliza frecuentemente debido a la lenta replicación del virus en cultivo, lo que requiere largo tiempo de incubación retrasando el resultado y por consiguiente la decisión terapéutica. Y la histopatología se utiliza principalmente en el diagnóstico de la afectación visceral.

La serología es utilizada principalmente antes del trasplante para valorar el riesgo de infección del paciente y ayudar a la decisión terapéutica postrasplante más adecuada en cada caso. Si bien, esta técnica no parece tener mucha utilidad en el pronóstico de enfermedad por CMV tras el trasplante en pacientes de alto riesgo D+/R-, (Humar *et al.*, 2005).

La monitorización postrasplante de la reactivación del CMV se realiza normalmente mediante: antigenemia y/o PCR cuantitativa.

El ensayo de antigenemia es un ensayo que se puede llevar a cabo rápidamente tras la extracción de la muestra de sangre y que conlleva poco tiempo de realización (6 horas), por consiguiente, es un método rápido para la detección del CMV en sangre periférica (Azevedo *et al.*, 2015). La antigenemia consiste en la detección del antígeno pp65 en los leucocitos de sangre periférica mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando anticuerpos monoclonales. Es una técnica que permite detectar la replicación activa del virus y cuantificar el número de células afectadas, obteniendo como resultado de la misma al razón entre el número de células polimorfonucleares infectadas y el número total de células polimorfonucleares cuantificadas (Farfan *et al.*, 2011; Azevedo *et al.*, 2015).

Este ensayo presenta algunas limitaciones, como la estabilidad de la muestra y la falta de sensibilidad en pacientes con neutropenia (< 1000 células/ml).

Por su parte, los análisis mediante PCR cuantitativa son muy sensibles y permiten determinar el número de copias de moléculas virales por ml de plasma. Este tipo de ensayo ofrece algunas ventajas sobre la antigenemia, una mayor estandarización del ensayo, una mayor estabilidad de la muestra (las moléculas de ADN viral se mantienen estables en sangre y plasma durante varios días, incluso sin refrigerar la muestra), requiere menos volumen de sangre y puede realizarse en pacientes con leucopenia (Caliendo, 2016).

En ambos casos, sobrepasar un determinado nivel de copias de ADN o de células detectadas por inmunofluorescencia es considerado activación del virus o infección.

1.4. Estrategias terapéuticas de prevención de infección por CMV postrasplante

Las infecciones oportunistas como la de CMV ocurren principalmente durante los 6 primeros meses posteriores al trasplante. Para evitarlas, para este periodo de tiempo se han desarrollado estrategias terapéuticas centradas en la prevención de infección por CMV con la finalidad de reducir la incidencia de infección y/o enfermedad por CMV y de sus efectos indirectos asociados.

Actualmente, se emplean principalmente dos estrategias para la prevención de CMV:

1. profilaxis universal.
2. terapia anticipada.

La aplicación clínica de estas dos estrategias varía entre centros: y su utilización viene determinadas principalmente por factores como el estado serológico del donante y el receptor y por los tratamientos de inmunosupresión utilizados en la intervención.

1.4.1. Profilaxis universal

La estrategia profiláctica consiste en la administración de agentes antivirales a todos los pacientes trasplantados con mayor riesgo de infección por CMV, como son los pacientes con trasplante de pulmón e intestino, pacientes con serología D+/R- y con TOS que han recibido tratamiento con anticuerpos antilinfocíticos (Lumbreras *et al.*, 2014). El tratamiento profiláctico se inicia de manera inmediata o a los pocos días del trasplante y se continúa por un

periodo de 3 – 6 meses. Este periodo se debe a que en los 6 meses posteriores al trasplante se presentan la mayor parte de infecciones oportunistas y la activación de infecciones latentes (Fishman, 2014).

En pacientes D+/R- con trasplante de riñón, se recomienda un periodo mínimo de profilaxis de 3-6 meses, y siempre que sea posible 6 meses, aunque esta decisión puede depender del grado de inmunosupresión del paciente y el uso de anticuerpos antilinfocíticos en el tratamiento de inducción (Lumbreras *et al.*, 2014; Kotton *et al.*, 2013).

Sin embargo, se ha observado la aparición de infección y/o enfermedad por CMV una vez concluida la profilaxis, lo que se ha denominado infección de aparición tardía o *late-onset disease*. Esta infección tardía por CMV es poco común en pacientes R+ apareciendo con una frecuencia inferior al 5 %, por el contrario, la incidencia en paciente de alto riesgo D+/R- puede llegar al 30 % – 40 % (Manuel, 2013).

El tratamiento profiláctico recomendado en pacientes con trasplante de riñón es valganciclovir oral o ganciclovir intravenosos como primera línea de tratamiento, pudiendo también utilizarse valaciclovir en altas dosis (Lumbreras *et al.*, 2014; Kotton *et al.*, 2013). En pacientes con una tasa de filtración glomerular > 60 ml/min, en el tratamiento profiláctico la dosis de valganciclovir oral utilizada es de 900 mg una vez al día, la de ganciclovir intravenosa es de 5 mg/kg una vez al día y la de valaciclovir oral es de 2 g cuatro veces al día; estas dosis deben ajustarse a la función renal (Azevedo *et al.*, 2015; Kotton *et al.*, 2013).

1.4.2. Terapia anticipada

La terapia anticipada implica el seguimiento periódico del paciente trasplantado mediante la monitorización de la carga viral de CMV (principalmente por PCR cuantitativa) con el fin de iniciar una terapia antiviral una vez detectada la viremia y evitar el desarrollo de la enfermedad (Manuel, 2013).

Se recomienda que los laboratorios que van a llevar a cabo la monitorización de la carga viral desarrollen y validen sus protocolos. La carga viral debería ser valorada cada semana durante 3 – 4 meses tras el trasplante y durante todo el seguimiento debe utilizarse el mismo tipo de muestra (plasma, sangre) y técnica de análisis (Kotton *et al.*, 2013).

El tratamiento para casos de viremia es el mismo que el de profilaxis, valganciclovir oral o ganciclovir intravenosos como primera línea de tratamiento, pudiendo también utilizarse valaciclovir en altas dosis aunque en este caso las dosis administradas son mayores; 900 mg cada 12 h, la de ganciclovir intravenosa es de 5 mg/kg cada 12 h (Kotton *et al.*, 2013).

2. Descripción y características de la tecnología

Adicionalmente a las pruebas de diagnóstico, en los últimos años, se están desarrollando técnicas que, además de detectar el virus, permiten valorar o monitorizar la respuesta inmune celular del paciente lo que podría ayudar a la identificación de aquellos con mayor riesgo de infección.

Las técnicas utilizadas en la monitorización de la respuesta inmune de pacientes con TOS o TPH tras el trasplante pueden ser de monitorización de inmunidad no-específica y de inmunidad específica a patógeno (Fernández-Ruiz, Kumar y Humar, 2014; Calarota, Aberle, Puchhammer-Stöckl y Baldanti, 2015).

Entre las técnicas de monitorización de la inmunidad no-específica se encuentran:

1. Niveles de inmunoglobulinas en suero.
2. Determinación en suero de componentes del sistema complementario.
3. Análisis de la cinética de sub-poblaciones de linfocitos en sangre periférica.
4. Niveles de CD30 soluble.
5. Concentración intracelular de niveles de ATP en células T CD4+ estimuladas por un mitógeno no específico (ensayo *Immuknow*).

En general estas pruebas no-específicas de patógeno están en fase de investigación y su aplicación a la práctica clínica no está definida (Fernández-Ruiz, Kumar y Humar, 2014). En este contexto se ha observado que el ensayo *Immuknow* parece verse afectado por factores como el tiempo de almacenamiento de la sangre y el recuento de glóbulos blancos en sangre periférica, por lo que los resultados del ensayo deben interpretarse con precaución (Calarota *et al.*, 2015).

En el caso del CMV, su alta inmunogenicidad produce una fuerte respuesta del sistema inmune, lo que permitiría su monitorización valorando la respuesta inmune específica a CMV.

Las técnicas analíticas disponibles para esta monitorización específica, cuantifican y caracterizan las células T específicas a CMV a partir de muestras de sangre, entre estas técnicas se encuentran (Calarota *et al.*, 2015):

- Quantiferon_CMV,
- *ELISpot-assay*,
- Tinción intracelular de citoquinas (ICS),
- Marcaje de multímeros del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH).

Las tres primeras técnicas establecen la respuesta inmune celular mediante la cuantificación de una variable subrogada, el interferón- γ (INF- γ) y consisten en ensayos en los que se mide la cantidad de interferón- γ producido por los linfocitos T tras su estimulación con antígenos específicos; por lo que proporciona una determinación o medida de la funcionalidad de la respuesta celular inmune específica de CMV.

El ensayo *ELISpot-assay* y la tinción intracelular de citoquinas (ICS) cuantifican los linfocitos T que están produciendo citoquinas; por el contrario, el QuantiFERON-CMV cuantifica las citoquinas secretadas y que se encuentran libres en el sobrenadante de la muestra por lo que no podemos saber el número de linfocitos T activados.

La última de las cuatro técnicas mencionadas –el marcaje del complejo CPH– es una técnica válida para la buena caracterización de los linfocitos T específicos de antígeno y además, es independiente de estimulación, sin embargo es sofisticada, es restrictiva a determinados HLA y parece poco factible su incorporación a la rutina de la práctica clínica (Sester, Leboeuf, Schmidt y Hirsch, 2016).

En la siguiente tabla se resumen las características de estos métodos, recogiéndose las ventajas y desventajas de cada uno de ellos (Tabla 3).

| Tabla 3. Características de las pruebas para determinar la respuesta celular inmune específica a CMV (Calarota et al., 2015) | | | | |
|--|--|--|---|--|
| | ICS | Marcaje de multímeros CPH | ELISPpot-assay | Quantiferon-CMV |
| Muestra | Sangre o PBMC | PBMC | PBMC | Sangre |
| Duración | 8 – 24 h | 2 – 3 h | 48 h | 24 h |
| Antígeno | Péptidos, proteínas; lisados celulares | Péptidos | Péptidos, proteínas, lisados celulares | 22 péptidos de HCMV |
| Resultado del ensayo | % células T/ μ l sangre | % células T específicas del epítipo | Puntos (células productoras de citoquinas)/PBMC | IFN- γ IU/ml |
| Funcionalidad | Si | No | Si | Si |
| Fenotipo | Si | Si | No | No |
| Ventajas | <ul style="list-style-type: none"> - Detecta fenotipo y parámetros funcionales. - Analiza CD4+ y CD8+ simultáneamente - No depende CPH - No está restringido a epítipo | <ul style="list-style-type: none"> - No depende de estimulación <i>in vitro</i> - Alta sensibilidad - Rápida - Necesita poca muestra de sangre | <ul style="list-style-type: none"> - Informa del estado funcional de las células T - Alta sensibilidad - Alto rendimiento - No depende CPH - No está restringido a epítipo | <ul style="list-style-type: none"> - Ensayo estandarizado - Presenta valores de corte - Fácil realización - Dispone de control positivo y negativo |
| Desventajas | <ul style="list-style-type: none"> - Muy laboriosa - Compleja - Depende de estimulación <i>in vitro</i> | <ul style="list-style-type: none"> - Requiere conocimiento de HLA y epítipo - Restringido a un único epítipo - No aporta información sobre funcionalidad de las células T | <ul style="list-style-type: none"> - No distingue entre CD8+ y CD4+ - No da respuesta fenotipo - Restringida a la citoquina seleccionada - Depende de estimulación <i>in vitro</i> | <ul style="list-style-type: none"> - Limitado a CD8+ - No cuantifica células T - Limitado a varios tipos HLA-1 - Depende de estimulación <i>in vitro</i> |

CPH: Complejo Principal de Histocompatibilidad; ICS: Tinción intracelular de citoquinas; PBMC: células mononucleares en sangre periférica; HCMV: citomegalovirus humano.

Objetivo

El objetivo del informe es evaluar la validez y utilidad del análisis de la respuesta inmune celular específica a CMV en pacientes con trasplante renal, en términos de resultados en salud de los pacientes (reducción de la morbilidad/enfermedad por CMV) y/o impacto en la decisión terapéutica. Para ello, se valorará la validez y utilidad del análisis en dos indicaciones diferentes:

- 1.- Pretrasplante como complemento a la serología en la clasificación del riesgo de infección de los pacientes antes del trasplante renal.
- 2.- Postrasplante en la monitorización de los pacientes de alto riesgo (D+/R-) tras el tratamiento profiláctico.

Este informe trata de dar respuesta a las siguientes preguntas de investigación:

- 1. *¿En pacientes candidatos a trasplante renal, la determinación de la respuesta inmune celular específica a CMV discrimina aquellos pacientes con mayor riesgo de infección por CMV y reduce por consiguiente la incidencia de infección?***
- 2. *¿En pacientes de alto riesgo D+/R- con tratamiento profiláctico tras el trasplante renal, la monitorización de la respuesta inmune celular específica a CMV discrimina a pacientes con mayor riesgo de infección de aparición tardía y reduce por consiguiente la incidencia de infección?***

Metodología

1. Tipo de informe

En la elaboración de este informe se ha realizado una revisión sistemática de la literatura sobre la utilidad clínica de la monitorización de la respuesta inmune específica a CMV en pacientes con trasplante renal, antes de trasplante para la estimación del riesgo de infección y tras el trasplante para la valoración de la estrategia de tratamiento profiláctico más adecuada.

Para llevar a cabo dicha elaboración, se han seguido las recomendaciones recogidas por la declaración PRISMA para publicar revisiones sistemáticas y metanálisis (Urrútia y Bonfill, 2010) y las recomendaciones metodológicas descritas en la Guía para la elaboración y adaptación de informes rápidos de evaluación de tecnologías sanitarias, elaborada dentro del marco de desarrollo de actividades de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud (Puñal Ruiboo *et al.*, 2016).

2. Búsqueda bibliográfica: bases de datos y estrategia

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica enfocada a identificar estudios de síntesis, como revisiones sistemáticas e informes de evaluación (HTA), hasta 11 de marzo de 2016 en la base de datos del CRD (*Centre for Reviews and Dissemination*), de la *Cochrane Library*, del *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE), de la *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health* (CADTH), del POP Database (EUnetHTA), de ECRI, y de la *International Network of Agencies for Health Technology Assessment* (INATHA).

Se han consultado las páginas web de la Red española de Agencias Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del Sistema Nacional de salud (AUnETS) y de otras agencias europeas de evaluación (las agencias nacionales e internacionales consultadas se describen en el Anexo 1).

Además, se realizaron búsquedas tanto de revisiones sistemáticas como de estudios primarios en las bases de referencias MEDLINE (mediante OVID), EMBASE, SCI-EXPANDED (*Science citation index expanded*) y PreMedline (mediante PubMed), hasta el 10 de marzo de 2016.

Finalmente, estas búsquedas se complementaron con la revisión secundaria de la bibliografía de los artículos obtenidos en las estrategias antes descritas.

Las estrategias diseñadas para las diferentes bases de datos se muestran en el Anexo 2.

3. Selección de artículos relevantes

Los artículos con información relevante para los objetivos de este informe se seleccionaron siguiendo los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

Los criterios de inclusión se establecieron con base en:

- Población: pacientes adultos con trasplante renal.
- Intervención: determinación de la inmunidad celular específica a CMV en dos indicaciones:
 - En pretrasplante: respuesta celular CMV-específica complementando a serología,
 - En postrasplante: respuesta celular CMV-específica en pacientes de alto riesgo (D+/R-) con tratamiento profiláctico.
- Comparador:
 - En pretrasplante: con o sin comparador
 - En postrasplante: con o sin comparador
- Resultados: las variables de resultado que se han considerado han sido de dos tipos; por un lado, variables de carácter clínico y por otro lado, variables correspondientes a parámetros estadísticos de validez y utilidad clínica. En concreto estas variables en cada indicación han sido:
 - Variables clínicas de interés:
 - En pretrasplante: viremia, infección asintomática por CMV, enfermedad por CMV, cambio en la estrategia de prevención (profilaxis o terapia anticipada);
 - En postrasplante: viremia, infección asintomática por CMV, enfermedad por CMV, modificación en la profilaxis, infección por CMV de aparición tardía, mortalidad, rechazo del órgano, mal funcionamiento del órgano.
 - Parámetros validez y utilidad clínica:
 - En pretrasplante: sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, coeficientes de probabilidad (CP), análisis de supervivencia entre respondedores y no respondedores a CMV (tiempo libre de infección), ORD...

- En postrasplante: tasa o incidencia de infección, RR, OR. análisis de supervivencia entre respondedores y no respondedores a CMV (tiempo libre de infección)...
- Diseño:
 - Estudios de síntesis (revisiones sistemáticas e informes de evaluación),
 - Estudios prospectivos que aporten información relevante del tema.

Criterios de exclusión de los artículos:

- Tipo de estudio: se excluirán aquellos que no sean estudios de síntesis o prospectivos.
- Estudios prospectivos a propósito de un caso o con menos de 10 pacientes de la población de interés.
- Población (infantil y pacientes adultos con trasplante distinto al indicado).
- Idioma (diferente a inglés, español, italiano, portugués y francés),
- Indicaciones no incluidas en el PICO: tratamientos de inducción, tratamientos de rechazo, CMV recurrente.
- Publicaciones como cartas, editoriales, comunicación a congresos.
- Estudios con datos agregados de distintos tipos de trasplante.

4. Evaluación de la calidad de los estudios y del riesgo de sesgos

En esta revisión se valoró la aplicabilidad de la metodología GRADE para la valoración de la evidencia científica y su traslado a recomendaciones, sin embargo, las características que los estudios identificados no han permitido su utilización (homogeneidad, presencia de valores de síntesis cuantitativa por variables...).

En la indicación pretrasplante, los estudios incluidos han sido estudios observacionales prospectivos, en los que no se ha valorado una intervención terapéutica sino que se han tratado de estudios de validez diagnóstica y clínica para determinar el riesgo de infección a CMV. Estos estudios han presentado diferentes poblaciones, diferentes métodos de determinación de la respuesta inmune celular específica a CMV (prueba de estudio), diferentes métodos para la determinación de la infección por CMV (que en todos los casos ha sido la prueba de referencia) y han utilizado diferentes puntos de corte de las pruebas analizadas.

Se ha realizado una lectura crítica de los artículos seleccionados, con el fin de identificar los problemas metodológicos que pudieran influir en la validez interna y externa de los estudios. Para ello, la calidad de los estudios se ha valorado siguiendo los estándares establecidos por la guía Quadas-1 (pruebas diagnósticas) en los estudios de validez clínica que analizaban la eficacia diagnóstica (sensibilidad, especificidad...) del riesgo de infección. La valoración del riesgo de sesgos se ha realizado siguiendo los criterios de las herramientas Quadas-2 para pruebas diagnósticas. La representación del control de sesgos se ha realizado mediante el programa RevMan versión 5.3 de la Cochrane.

En la indicación de la prueba postrasplante, el estudio identificado consistía en una serie de casos prospectiva, y para valorar la calidad de la evidencia se ha utilizado la ficha de lectura crítica desarrollada por Osteba para este tipo de estudio (disponible en <http://www.lecturacritica.com/es/acceder-a-las-fichas.php>).

5. Extracción y síntesis de los resultados

Se ha realizado la extracción de los principales resultados descritos en cada estudio y se han resumido en tablas de evidencia siguiendo un modelo desarrollado *a priori*. Los resultados se han presentado por variables para facilitar su lectura e interpretación.

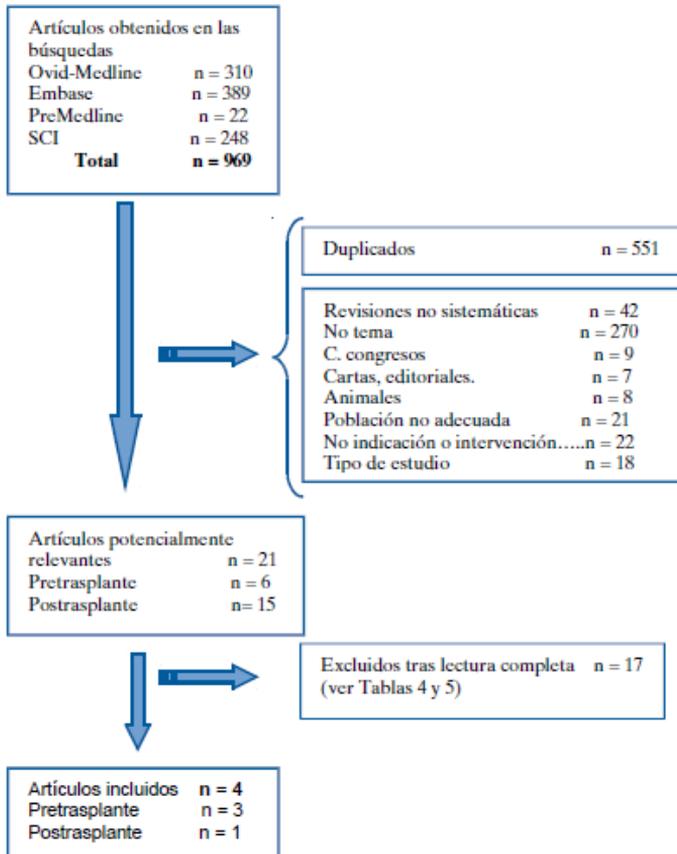
La heterogeneidad de las intervenciones no ha permitido la agregación de resultados por lo que se ha realizado una síntesis cualitativa de los datos de los estudios incluidos.

Resultados

1. Resultados de la búsqueda bibliográfica

La búsqueda bibliográfica realizada permitió identificar un total de 1025 referencias (Anexo 3.) De este total, 969 referencias fueron identificadas en las bases de datos biomédicas y 56 se correspondían a estudios secundarios (revisiones sistemáticas e informes de evaluación de tecnologías sanitarias) localizados en las páginas web de agencias de evaluación, del CRD y de la *Cochrane Library*.

Figura 1. Diagrama de flujo de selección de referencias de bases referenciales biomédicas



Los 56 estudios secundarios fueron excluidos al no evaluar la monitorización de la inmunidad celular específica a CMV y tratarse principalmente de estrategias terapéuticas o de diagnóstico mediante medidas de carga viral.

De las 969 referencias, 528 fueron descartadas por tratarse de duplicados encontrados en las diferentes bases de datos quedando para su valoración un total de 441 referencias.

Tras la lectura del título y el resumen de las referencias, se excluyeron aquellas que no cumplían los criterios de inclusión establecidos. Se seleccionaron un total de 21 referencias para su lectura a texto completo. De las 21 referencias, 6 eran estudios sobre la monitorización de la respuesta inmune específica antes del trasplante y 15 estudios de monitorización postrasplante.

El esquema con el flujo de selección de referencias se describe en la Figura 1.

Para la indicación de monitorización de la inmunidad celular a CMV pretrasplante se seleccionaron 6 estudios para su lectura a texto completo, de los cuales se excluyeron 3. Los motivos de la exclusión se describen en la Tabla 4.

| Estudio | Tipo de estudio | Finalidad estudio | Excluido / incluido Motivo exclusión |
|--|------------------------------|----------------------------------|--|
| Bestard <i>et al.</i>, 2013 | Retrospectivo | Validez clínica | Excluido Tipo de estudio (retrospectivo) |
| Cantisán <i>et al.</i>, 2013 | Prospectivo Multicéntrico | Validez clínica | Excluido Datos agregados de trasplante de riñón y pulmón |
| Luciá <i>et al.</i>, 2014 | Retrospectivo | Validez clínica | Excluido Tipo de estudio (retrospectivo) |
| López-Oliva <i>et al.</i>, 2014 | Prospectivo | Validez diagnóstica | Incluido |
| Kim <i>et al.</i>, 2015 | Prospectivo | Validez diagnóstica | Incluido |
| Rittà <i>et al.</i>, 2015 | Prospectivo | Validez diagnóstica / clínica | Incluido |

En cuanto a la segunda de las indicaciones de interés, la monitorización de la respuesta inmune celular durante el periodo postrasplante se seleccionaron para su lectura a texto completo un total de 15 estudios de los que finalmente solo uno ha sido incluido en este informe. Los motivos de exclusión de los estudios postrasplante se describen en la Tabla 5.

Tabla 5. Estudios de monitorización de la inmunidad celular a CMV postrasplante a texto completo

| Estudio | Tipo de estudio | Finalidad estudio | Excluido / incluido Motivo exclusión |
|--|--|-------------------|---|
| Sester <i>et al.</i> , 2001 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferente serología y los datos agregados |
| Sester, Sester, Gärtner, Girndt, Meyerhans, Köhler, 2002 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con menos de 10 pacientes de interés (alto riesgo) |
| Gerna <i>et al.</i> , 2006 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes órganos trasplantados y los datos agregados |
| Mattes <i>et al.</i> , 2008 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes serologías y un solo paciente de alto riesgo |
| Kumar <i>et al.</i> , 2009 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes órganos trasplantados y los datos agregados |
| Eid <i>et al.</i> , 2010 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Incluido |
| Lochmanova <i>et al.</i> , 2010 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferente serología (sólo 2 pacientes D+/R-) y presentación de los datos de forma agregada |
| Sun <i>et al.</i> , 2010 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población seropositiva |
| Lee <i>et al.</i> , 2011 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes serologías y un solo paciente de alto riesgo |
| Manuel <i>et al.</i> , 2013 | Longitudinal prospectivo multicéntrico | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes órganos trasplantados y los datos agregados |
| Mees <i>et al.</i> , 2014 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferente serología y los datos agregados |
| Costa <i>et al.</i> , 2014 | Prospectivo-trasversal | Validez clínica* | Excluido. Población con diferente serología y los datos agregados. En los análisis de los datos de los pacientes D+/R- agregan los pacientes prospectivos y los recogidos en el estudio trasversal |
| Fernández-Ruiz, <i>et al.</i> , 2014 | | | Excluido. Población seropositiva y seronegativa agregada |
| Martín-Gandul <i>et al.</i> , 2015 | Longitudinal prospectivo | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes trasplantes y datos agregados en la valoración de la respuesta inmune a lo largo del seguimiento. La población de riñón valorada de forma independiente era recurrente tras la profilaxis, sin identificar el n.º de pacientes afectados y sin especificar la respuesta inmune celular de esos pacientes |
| San-Juan <i>et al.</i> , 2015 | Longitudinal prospectivo multicéntrico | Validez clínica* | Excluido. Población con diferentes órganos trasplantados y los datos agregados |

*Asociación entre infección y activación linfocitos CD4+ y CD8+.

2. Descripción de los estudios y evaluación del riesgo de sesgos

2.1 Estudios de monitorización pretrasplante

Se han identificado 3 estudios prospectivos que analizaban la monitorización de la respuesta inmune celular específica a CMV, para la valoración pretrasplante del riesgo a infección por CMV (Kim *et al.*, 2015; Rittà *et al.*, 2015 y López-Oliva *et al.*, 2014).

El estudio de Kim *et al.*, 2015 incluía en su población pacientes con trasplante de riñón, páncreas y riñón-páncreas. A pesar de esto, se ha incluido porque más del 90 % de los pacientes estudiados (63 de 69) eran trasplantados de riñón. Por lo que se ha considerado que la información era mayoritariamente representativa de trasplante de riñón.

En total se ha incluido una población de 164 pacientes mayoritariamente de riesgo intermedio según serología (R+) aunque el estudio de Rittà *et al.*, 2015 incluía 9 pacientes de alto riesgo (R-). Todos los estudios han analizado las mismas variables de resultado: viremia o reactivación del virus e infección por CMV, y las técnicas utilizadas para la determinación de la respuesta inmune específica a CMV ha sido ICS en un estudio y *ELISpot-assay* en los otros dos. En todos los casos, las técnicas cuantificaban el INF- γ presente en el interior de las células CD8+/CD4+. Los estudios han realizado la determinación de la respuesta inmune específica a CMV antes del trasplante y han observado a los pacientes hasta la aparición de la infección. En todos ellos diferenciaban entre infección asintomática (denominada infección, replicación o reactivación del virus) e infección sintomática o enfermedad.

En cuanto al diseño de los estudios, se trataban de estudios prospectivos con la finalidad de valorar la capacidad diagnóstica de la respuesta inmune celular en el riesgo de infección por CMV. Por lo tanto, eran estudios en una fase previa de análisis de las características de la prueba, enfocados a determinar si las pruebas tenían o no capacidad de diagnosticar el riesgo de infección. Los estudios han comparado dos grupos de pacientes, los que desarrollaban infección y los que no, y mediante análisis de curvas ROC han establecido los valores de corte más adecuados para discriminar entre infección y no infección de cada ensayo. Además, han estimado los parámetros diagnósticos (sensibilidad, especificidad y valores pronósticos) para los puntos de corte seleccionados. Solo uno de ellos, Rittà *et al.*, 2015 ha comparado los grupos con y sin respuesta inmune celular específica a CMV

(respondedores y no respondedores) a lo largo del seguimiento con la finalidad de identificar diferencias en el tiempo libre de infección entre ellos y aportar información de la utilidad clínica de la prueba.

López-Oliva *et al.*, 2014

Estudio longitudinal prospectivo que seleccionó de un total de 82 pacientes a un grupo homogéneo de 15 con trasplante renal todos ellos con serología IgG positiva (R+) y con tratamiento de inducción con basiliximab a los que no se les administró tratamiento profiláctico. De los 15 pacientes 13 fueron D+/R+ y 2 fueron D-/R+. Los pacientes fueron reclutados en el Hospital Universitario de la Paz de Madrid (abril 2010-noviembre 2011). El seguimiento de los pacientes fue de 1 año tras el trasplante y durante el mismo se realizaron pruebas de antigenemia pp65 a los pacientes siguiendo el siguiente protocolo: una vez a la semana durante el primer mes, cada dos semanas durante el segundo y el tercer mes y una vez al mes a partir del cuarto mes de seguimiento. Se consideró que la prueba de antigenemia positiva a partir de 5 células positivas/ 2×10^5 leucocitos.

Analizaron la respuesta específica de los linfocitos T a los epítomos IE-1 y pp65 y mediante citometría de flujo cuantificaron los linfocitos CD8+ y CD4+ de los pacientes antes del trasplante. La variable estudiada fue la infección postrasplante. Se han representado las curvas ROC para cada epítomo y para cada tipo de linfocito T (CD8+ y CD4+) y se ha estimado el área bajo la curva de cada situación como medida de la capacidad diagnóstica de la prueba para discriminar el riesgo de infección.

Han estimado los parámetros diagnósticos de sensibilidad y especificidad aunque no informan de la precisión de estos parámetros al no aportar los IC 95 % de los mismos.

Kim *et al.*, 2015

El estudio se realizó en un hospital terciario con 2700 camas y el reclutamiento de pacientes se realizó en cuatro meses (marzo-junio 2016). De un total 111 pacientes admitidos a trasplante renal solo se incluyeron en el estudio a 69 pacientes los restantes pacientes no cumplieron los criterios de inclusión (40 pacientes no firmaron el consentimiento y 2 eran pacientes pediátricos < 16 años). Los pacientes incluidos eran seropositivos (R+). El estudio era prospectivo y analizó la respuesta inmune celular específica a epítomos de las proteínas pp65 y IE-1 del CMV.

El seguimiento de los pacientes fue de 6 meses tras el trasplante de riñón, y en él las pruebas de antigenemia (pp65) a los pacientes se realizaron siguiendo el siguiente protocolo: una vez a la semana durante el primer mes,

una prueba cada dos semanas hasta el tercer mes de seguimiento y una prueba mensual hasta el sexto mes de seguimiento.

En el estudio, se han estimado las curvas ROC para cada epítipo con el fin de determinar el punto de corte del análisis más adecuado y con mayor capacidad discriminadora entre infección y no infección. Además, se han calculado los parámetros diagnósticos de sensibilidad y especificidad de la prueba para los puntos de corte establecidos.

Rittà *et al.*, 2015

El estudio era prospectivo e incluyó 80 pacientes tanto seropositivos como seronegativos –aunque la mayor parte de ellos > 96 % eran R+-. Los pacientes fueron reclutados en el Hospital Universitario de Turín (enero 2010-noviembre 2012).

El seguimiento de los pacientes fue de 1 año tras el trasplante y durante el mismo se monitorizó mediante PCR cuantitativa a tiempo real el número de copias de ADN vírico en sangre, expresando los resultados como número de copias víricas/ ml de sangre. Las medidas de PCR se realizaron: una vez a la semana durante el primer mes, una vez cada dos semanas durante el segundo y el tercer mes, y una vez al mes a partir del cuarto mes de seguimiento.

Se analizó la respuesta inmune celular específica mediante *ELISpot assay* que incluía mezclados epítipos de las proteínas pp65 y IE-1 del CMV, y el punto de corte utilizado en el ensayo fue 20 SFU / 2×10^5 PBMC. De manera que valores del ensayo < 20 SFU / 2×10^5 PBMC determinaban falta de respuesta inmune celular y valores \geq SFU / 2×10^5 PBMC indicaban una fuerte respuesta inmune celular.

A los pacientes de alto riesgo (D+/R-) se les administró profilaxis anti-CMV durante 3 meses tras el trasplante y a los de riesgo intermedio (R+) se les administró tratamiento antiviral con ganciclovir o valganciclovir si CMV-DNAemia era $\geq 10^4$ copias /ml.

El estudio ha presentado la curva ROC del ensayo y estimado los parámetros de sensibilidad y especificidad para el punto de corte analizado. Además, ha analizado mediante análisis de supervivencia (curvas de Kaplan-Meier) el tiempo libre de infección de los dos grupos, respondedores y no respondedores, establecidos por el ensayo y comparado las curvas mediante el test de Log-Rank.

Las características de los estudios incluidos en esta indicación se han recogido en la Tabla 6.

| Tabla 6. Descripción de los estudios de monitorización pretrasplante. | | | |
|--|---|---|---|
| | López-Oliva et al., 2014 | Kim et al., 2015 | Rità et al., 2015 |
| n | 15 | 69 (63 riñón) | 80 |
| Periodo de reclutamiento | abril 2010-noviembre 2011 | marzo 2014-junio 2014 | enero 2010-noviembre 2012 |
| Clasificación serológica | Todos R+ | Todos R+ 63 D+/R+ 5 D?/R+ 1 D-/R+ | 60 D+/R+ 11 D-/R+ 7 D+/R- 2 D-/R- |
| Tratamiento inducción inmunosupresión | Anticuerpos antilinfocitos (2) Anti-IL2R (12) Sin tratamiento (1) | Anti-IL2R (57) Anticuerpos antitimocitos (6) Rituximab (22) | Basiliximab (79) Tymoglobulina (1) |
| Tratamiento inmunosupresión | Esteroides/tracolimus/MMF | - | Ciclosporina A, |
| Ensayo | Tinción intracelular de citoquinas (ICS) | <i>ELISpot-assay (T-track CMV, Regensburg, Germany)</i> | <i>ELISpot-assay (ELISpot Interferon-g Basis Kit; Autoimmun Diagnostika, strassberg, Germany)</i> |
| Cuantificación del Interferón-γ | Intracelular | Intracelular | Intracelular |
| Epítotos | pp65 e IE-1 | pp65 e IE-1 | pp65 + IE-1 |
| Profilaxis | No | Valganciclovir / 3 meses | Valganciclovir / 3 meses |
| Terapia anticipada | Valganciclovir | Ganciclovir (5 mg/kg dos veces al día) | Valganciclovir o ganciclovir (900 mg diarios ajustados por función renal) |
| Tiempo seguimiento | 1 año | 6 meses | 1 año |
| Variables clínicas estudiadas | Infección: Replicación virus Enfermedad | Infección: Replicación virus Enfermedad | Infección: DNAemia |
| Métodos de análisis de las variables clínicas | pp65-antigenemia | pp65-antigenemia: 0-1mes: 1 a la semana 1 – 3 meses: 1 cada dos semanas 3 – 6: 1 al mes | PCR-cuantitativa a tiempo real |
| Límites de infección | > 5 células positivas /2 x 10 ⁵ leucocitos: indicativo para terapia anticipada | > 50 células positivas / 200000 células: indicativo para terapia anticipada | 2000 copias /ml |
| Medidas de resultados | Área bajo la curva (AUC), sensibilidad, especificidad | Área bajo la curva (AUC), sensibilidad, especificidad, VPP, VPN | Área bajo la curva (AUC), sensibilidad, especificidad Supervivencia libre de infección |

La calidad de los estudios se ha valorado mediante la lista de comprobación Quadas-1 y el control de sesgos mediante el Quadas-2, ya que los estudios han considerado la respuesta inmune celular específica como prueba diagnóstica del riesgo de infección por CMV.

Siguiendo los criterios del Quadas-1 los tres estudios han presentado las siguientes características:

- Los estudios han valorado los pacientes de manera prospectiva evitando el diseño de caso-control que no es adecuado al introducir una sobreestimación del rendimiento de la prueba.
- El reclutamiento de pacientes se ha realizado de forma consecutiva ajustándose a la situación en la que se pretende utilizar la prueba.
- Los tres han usado una única prueba de referencia o *gold standard* que estos casos ha sido el seguimiento de los pacientes hasta la aparición de infección, y los métodos para la identificación de dicha infección han sido adecuados, descritos explícitamente y con capacidad discriminatoria entre infección y no infección.
- En ningún caso procede la valoración de los criterios sobre problemas de verificación parcial (se realiza la misma prueba de referencia a los pacientes con y sin respuesta inmune celular); ni de retraso en el tiempo entre las dos pruebas, al no tratarse de la comparación entre dos pruebas diagnósticas sino que se compara directamente con la presencia o no de la infección.
- La evaluación del cegamiento entre los resultados ha mostrado que existe claramente cegamiento de la valoración de la prueba de la respuesta inmune celular (prueba índice) con respecto a la prueba de referencia (al no conocer que paciente desarrollará la infección), y no es aplicable el cegamiento en el momento que aparece la infección, ya que el protocolo de seguimiento de los pacientes ha sido el mismo en todos ellos y la valoración de la prueba de referencia no se ve afectada por la prueba índice o de estudio.
- Ningún estudio ha tenido pérdidas de pacientes, lo que contribuye a su calidad.

En resumen, los tres estudios han mostrado tener una calidad metodológica buena, lo que favorece el control de sesgos. El control de sesgos valorado mediante el Quadas-2 se representa en la Figura 2.

A pesar del control de sesgos, los estudios han presentado algunas limitaciones que deben ser tenidas en consideración ya que pueden afectar a la magnitud y precisión de los resultados. Los estudios presentaban un número escaso de pacientes lo que afectaría el poder estadístico necesario para detectar diferencias significativas. Así, Kim *et al.*, 2015 estimaron que el poder estadístico de su estudio era solamente del 40 % por lo que planeaban incluir más pacientes para lograr un poder del 80 %.

Figura 2. Representación del riesgo de sesgo y aplicabilidad de los estudios de valoración pretrasplante de la respuesta inmune celular

| | Risk of Bias | | | | Applicability Concerns | | |
|--------------------|-------------------|------------|--------------------|-----------------|------------------------|------------|--------------------|
| | Patient Selection | Index Test | Reference Standard | Flow and Timing | Patient Selection | Index Test | Reference Standard |
| Kim et al., 2015 | + | + | + | + | + | + | + |
| López-Oliva, 2014 | + | + | + | + | + | + | + |
| Rittà et al., 2015 | + | + | + | + | + | + | + |

● High ? Unclear + Low

El estudio de López-Oliva *et al.*, 2014 solo contaba con 15 pacientes y los parámetros de sensibilidad y especificidad no iban acompañados de los correspondientes IC 95 % lo que no ha permitido conocer la precisión de los valores. En los casos donde estos intervalos de confianza eran aportados, Kim *et al.*, 2015 y Rittà *et al.*, 2015, la amplitud de los mismos indicaba falta de precisión.

2.2 Estudios de monitorización postrasplante

En esta indicación se ha identificado un único estudio, Eid *et al.*, 2010, que cumpliera los criterios de inclusión establecidos. Es un estudio prospectivo con pacientes con trasplante renal de alto riesgo D+/-R- tratados con profilaxis, que aportaba datos sobre determinación de los linfocitos T, CD4+ y CD8+ específicos de CMV e infección tras el trasplante.

El estudio incluía 44 pacientes con trasplante de riñón con profilaxis durante 3 meses y seguidos durante 12 meses. Las variables de resultado recogidas han sido la frecuencia de infección o enfermedad por CMV y los porcentajes de CD4+ y CD8+ entre los pacientes de alto riesgo (D+/-R-) y los de bajo riesgo (D+/-R+). Ajustándonos a nuestra pregunta de investigación, el estudio es considerado una serie de casos de 11 pacientes (D+/-R-). Las características del estudio se han recogido en la Tabla 7.

La calidad de la evidencia aportada por el estudio es baja. Por una parte, el propio diseño del estudio no permite el control de los posibles sesgos y por otra parte, el estudio presentaba limitaciones en su realización entre las que destaca el escaso número de pacientes que no garantiza la robustez necesaria para poder detectar diferencias estadísticamente significativas, y afecta a la precisión de los resultados (intervalos de confianza 95 % amplios).

Tabla 7. Características del estudio postrasplante incluido en la revisión, Eid et al., 2010

| Estudio | Población | Intervención/ Seguimiento | Medidas De Resultado | Calidad de la Evidencia/limitaciones |
|--|--|---|--|---|
| <p>Diseño: Cohorte longitudinal prospectivo</p> <p>Objetivos: Caracterizar la reconstitución de la inmunidad celular específica a CMV tras el trasplante de riñón y determinar la asociación entre los porcentajes absolutos de células CD4+ and CD8+ T específicas a CMV y la infección y enfermedad por CMV.</p> <p>Periodo de realización: agosto 2005- agosto 2006</p> | <p>Pacientes = 44</p> <p>50 % hombres y 85 % de raza blanca</p> <p>Características participantes: Adultos (> 18 años) con trasplante de riñón</p> <p>D+/R+: n = 17 (39 %)</p> <p>D-/R+: n = 16 (36 %)</p> <p>D+/R-: n = 11 (25 %)</p> <p>Terapia de inducción: timoglobulina o anticuerpos antiinterleucina2</p> <p>Terapia inmunosupresora de mantenimiento: tacrolimus, mofetil micofenolato y prednisona.</p> <p>Todos con profilaxis con valganciclovir 90 días (900 mg/día).</p> | <p>Intervención: Cuantificación de CD4+ y CD8+ específicas de CMV por determinación de INF-γ mediante citometría de flujo.</p> <p>Antígenos utilizados: pepmix CMV pp65 y pepmix CMV IE-1.</p> <p>Seguimiento: 12 meses</p> | <p>Variable clínica principal de resultado: infección por CMV (definida como DNAemia medida por PCR cuantitativa)</p> <p>Variable clínica secundaria de resultado: enfermedad por CMV (definida como DNAemia en presencia de manifestaciones clínicas)</p> <p>Análisis estadísticos utilizados:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Análisis descriptivo de la población 2. Cálculo de la Incidencia de infección y enfermedad a 1 año por grupo de riesgo según serología. 3. Representación a lo largo del tiempo de los porcentajes de CD4+ y CD8+ estimuladas por diferentes antígenos a lo largo del año de seguimiento en los pacientes R+ y R-. 4. Análisis multivariante ajustados por edad de los posibles factores predictores de DNAemia. | <p>Calidad de la evidencia: BAJA</p> <p>Limitaciones: El escaso número de pacientes de cada serología supone una limitación de la capacidad estadística para detectar diferencias significativas si las hubiera. En la población D+/R+ se detectaron muy pocos eventos de infección (1/17) que dificulta la robustez de los análisis estadísticos. Población de alto riesgo D+/R- muy pequeña solo 11 pacientes aunque con 7 eventos de infección y 5 con enfermedad por CMV.</p> |

3. Resultados clínicos de los estudios

3.1 Estudios de monitorización pretrasplante

Los tres estudios incluidos aportaban información sobre la frecuencia de infección encontrada en sus poblaciones de estudio (Tabla 8).

| Estudio | n | Infección n (%) | No infección n (%) |
|----------------------------------|----|-----------------|--------------------|
| López-Oliva <i>et al.</i> , 2014 | 15 | 7 (47 %) | 8 (53 %) |
| Kim <i>et al.</i> , 2015 | 69 | 27 (39 %) | 42 (61 %) |
| Rittà <i>et al.</i> , 2015 | 80 | 31 (39 %) | 49 (61 %) |

En el estudio de López-Oliva *et al.*, 2014, observaron que de los 15 pacientes R+ estudiados, siete de ellos presentaron infección por CMV tras el trasplante de riñón y ocho restantes no desarrollaron infección. El 54 % (7 de 13) los pacientes con donante positivo (D+) presentaron infección por CMV tras el trasplante; sin embargo, los dos pacientes D- no presentaron infección. Pero no aporta información de las infecciones por grupo de respuesta y no respuesta inmune.

Los estudios de Kim *et al.*, 2015 y Rittà *et al.*, 2015 explicitaban la incidencia de infección en cada uno de los grupos, con y sin inmunorespuesta celular (respondedores y no respondedores), establecidos por la prueba utilizada (*ELISpot-assay*). Kim *et al.*, 2015 observaron que en el grupo de respondedores a los antígenos de CMV la incidencia de infección a los 6 meses era menor que la del grupo no respondedor; un 31 % frente al 57 %, respectivamente. Rittà *et al.*, 2015 encontraron que en los primeros 3 meses el 33 % de los respondedores mostraron infección por CMV frente al 26 % de los no respondedores, no encontrando diferencias significativas entre ellos ($p = 0,6196$). Al año de seguimiento la incidencia de infección en los respondedores no varió y aumentó hasta un 58 % en los no respondedores, aunque la diferencia siguió siendo no significativa.

Los estudios en la valoración de la respuesta inmune específica a CMV han utilizado diferentes antígenos (epítomos) para la estimulación de los linfocitos y han encontrado que los pacientes no respondían de igual manera a dichos antígenos, por lo que han mostrado que la estimulación de la respuesta inmune varía del antígeno usado; además, los resultados para los mismos antígenos en los estudios son contradictorios.

Los linfocitos T analizados así como los epítomos utilizados para la inducción de la respuesta inmune en cada estudio se han recogido en la Tabla 9.

Tabla 9. Linfocitos T y epítomos analizados en la respuesta inmune celular en los estudios incluidos

| Estudio | Linfocitos T | pp65 | IE-1 | pp65+IE-1 |
|----------------------------------|--------------|------|------|-----------|
| López-Oliva <i>et al.</i> , 2014 | CD8+ | - | + | nd |
| | CD4+ | - | - | nd |
| Kim <i>et al.</i> , 2015 | CD8+ y CD4+ | + | - | nd |
| Rittà <i>et al.</i> , 2015 | CD8+ y CD4+ | nd | nd | + |

-: no respuesta inmune (no respondedor).
 +: respuesta inmune (respondedor).
 nd: no determinado.

En López-Oliva *et al.*, 2014 han indicado que solo la respuesta específica pretrasplante de los linfocitos CD8+ al antígeno IE-1 era un factor de protección a infección por CMV en pacientes con riesgo intermedio de infección (R+) y sin tratamiento profiláctico universal. Ni la respuesta de CD8+ al antígeno pp65 ni la respuesta de los CD4+ al antígeno IE-1 y pp65, aportaba información sobre el riesgo de infección. Por el contrario, el estudio de Kim *et al.*, 2015 encontró que era la respuesta al antígeno pp65 –y no al IE-1– la que aportaba información sobre el riesgo de infección, aunque no diferenciaba si la respuesta era de las células CD8+ y/o CD4+. Por su parte Rittà *et al.*, 2015 analizaba la respuesta conjunta de las células CD8+ y CD4+ frente a los dos antígenos juntos.

Los tres estudios han determinado la respuesta inmune mediante el recuento de células productoras de INF- γ y mediante curvas ROC eligieron los puntos de corte con mayor capacidad de discriminación entre infección y no infección. Los puntos de corte establecidos en cada estudio para cada una de las pruebas y epítomos utilizados se han resumido en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados del área bajo la curva y puntos de corte para cada prueba

| Estudio | n | prueba | AUC (p o IC 95 %) | Valor corte |
|----------------------------------|----|------------------------------|---|----------------------|
| López-Oliva <i>et al.</i> , 2014 | 15 | ICS (IE-1) | 0,929 $p = 0,01$ IC 95 % 0,78 – 1,0 | 0,055 % 0,22 % |
| Kim <i>et al.</i> , 2015 | 69 | ELISpot-assay (pp65) | n/d | 10 SFU/2x105 PBMC |
| Rittà <i>et al.</i> , 2015 | 80 | ELISpot-assay (pp65+IE-1) | 0,6582 $p = 0,1303$ | 20 SFU/2x105 PBMC |

SFU: spot forming unit; PBMC: peripheral blood mononuclear cells.

Los dos estudios, Kim *et al.*, 2015 y Rittà *et al.*, 2015, que han usado *ELISpot-assay* para medir la respuesta inmune (CD4+ y CD8+ específica a CMV) han encontrado distintos valores de corte, 10 vs. 20 SFU/2x10⁵ PBMC respectivamente.

Los tres estudios han estimado los parámetros de exactitud diagnóstica de sensibilidad y especificidad para los puntos de corte establecidos y Kim *et al.*, 2015 además han presentado los valores predictivos positivo y negativos encontrados (Tabla 11).

Tabla 11. Parámetros de exactitud diagnóstica de las diferentes pruebas de determinación de la respuesta inmune celular pretrasplante para identificar el riesgo de infección por CMV

| Estudio | n | prueba | Sensibilidad (IC 95 %) | Especificidad (IC 95 %) | VPP | VPN |
|----------------------------------|----|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------|------|
| López-Oliva <i>et al.</i> , 2014 | 15 | ICS (IE-1) | 85,7 % 50 %* | 100 % 85,7 %* | - | - |
| Kim <i>et al.</i> , 2015 | 69 | <i>ELISpot-assay</i> (pp65) | 44 % (IC 95 % 25 – 65 %) | 79 % (IC 95 % 63 – 89 %) | 57 % | 69 % |
| Rittà <i>et al.</i> , 2015 | 80 | <i>ELISpot-assay</i> (pp65+IE-1) | 48,2 % (IC 95 % 28,7 – 68,1 %) | 81,8 % (IC 95 % 48,2 – 97,7) | - | - |

*Para un valor de corte 0,22 %.

López-Oliva *et al.*, 2014 encontraron que el valor de corte con mayor sensibilidad y especificidad era 0,055 %, por debajo de ese valor de CD8+ a IE-1 existía mayor riesgo de infección. Pero estimaba que para valores inferiores a un punto de corte de 0,22 %, la sensibilidad y especificidad eran 50 % y 85,7 % respectivamente. Valores más próximos a los encontrados en los otros dos estudios. Los tres estudios muestran una alta especificidad pero una sensibilidad baja lo que implicaría un alto número de falsos negativos.

Los autores de los tres estudios han aportado los parámetros de sensibilidad y especificidad para concluir que la respuesta inmune permitía discriminar entre los pacientes de mayor y menor riesgo de infección. El estudio de Kim *et al.*, 2015 además, incluía los valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN) que son desde el punto de vista clínico de fácil interpretación, aunque tienen una limitación y es que su cálculo se realiza a partir de los datos de las tablas de contingencia y por consiguiente depende de la proporción de pacientes enfermos de la muestra de estudio (prevalencia). Para evitar esta limitación en la valoración de las pruebas diagnósticas se utilizan los coeficientes de probabilidad positivo y negativo (CP + y CP-). Estos coeficientes, que indican la capacidad de la prueba para diagnosticar la presencia o ausencia de la enfermedad, se calculan a partir de la sensibilidad y especificidad de la prueba pero son independientes de la

prevalencia y no dependen de la muestra de estudio. En este caso, a partir de los datos aportados por los distintos estudios se ha estimado los cocientes de probabilidad positivo y negativo (CP+ y CP-) de las pruebas para dilucidar su utilidad diagnóstica.

Los valores CP+ y CP- calculados para cada estudio han indicado que la prueba *ELISpot-assay* utilizada en los estudios de Kim *et al.*, 2015 y Rittà *et al.*, 2015 no proporcionaba información en el diagnóstico del riesgo de infección. Por el contrario, la determinación de la respuesta inmune mediante ICS (López-Oliva *et al.*, 2014) presenta valores de CP+ y CP- muy diferentes según el punto de corte utilizado, este resultado junto con el tamaño tan pequeño de la muestra sugieren precaución con los resultados y con su posible extrapolación (Tabla 12).

El estudio de Rittà *et al.*, 2015 ha valorado la supervivencia libre de evento (infección) a 1 año en el grupo respondedor y en el no respondedor, observando que no existe diferencias significativas entre ellos ($p = 0,7584$), este resultado es congruente con la falta de utilidad diagnóstica de la prueba. En el grupo respondedor los casos de infección ocurrieron en los tres primeros meses de seguimiento tras el trasplante, mientras que en el grupo de no respondedores los casos de infección aparecieron a lo largo del año de seguimiento. En este estudio además, estudiaron la correlación entre la serología pretrasplante (CMV-IgG) y los valores de la prueba *ELISpot-assay*, encontrando que dicho valor era significativamente mayor en los R+ que en los R-. Estos valores medios fueron 77,34 y 1,67 SFU/2x10⁵ PBMC, respectivamente ($p = 0,0082$).

Tabla 12. Cocientes de probabilidad de las pruebas utilizadas en cada estudio*

| Estudio | n | LR+ | LR- |
|----------------------------------|----|-------------------------------|---------------------------|
| López-Oliva <i>et al.</i> , 2014 | 15 | 0,86 / 0 3,49 [†] | 0,14 0,58 [†] |
| Kim <i>et al.</i> , 2015 | 69 | 2,0 | 0,70 |
| Rittà <i>et al.</i> , 2015 | 80 | 2,65 | 0,63 |

* Cálculos realizados por las autoras de este informe:

CP+ = $sen/1-esp$; CP- = $1-sen/esp$

En general (según el *Evidence-Based Medicine Working Group*):

CP+ > 10 o CP- < 0,1: test excelente que proporciona evidencia diagnóstica concluyente.

CP+ entre 5-10 y CP- entre 0,1- 0,2: test bueno que proporciona fuerte evidencia diagnóstica.

CP+ entre 2-5 y CP- entre 0,2- 0,5: test malo.

CP+ entre 1-2 y CP- entre 0,5- 1: test inútil.

† para un valor de corte 0,22 %.

3.2 Estudios de monitorización postrasplante

Los resultados del único estudio incluido en este informe que valora la respuesta inmune celular específica a CMV (CD4+ y CD8+) en pacientes de alto riesgo (D+/R-) con tratamiento profiláctico y su relación con la infección por CMV se resumen en la tabla 13.

En el estudio además se analizaron diferentes características de los pacientes como sexo, raza, hipertensión, compatibilidad HLA... con la finalidad de intentar identificar si alguna de dichas características podía estar asociada a la aparición de infección. De las características estudiadas solamente el estado serológico y la diabetes aparecieron como factores de riesgo de infección. Así el riesgo de DNAemia que suponían el estado D+/R- y la diabetes fue de HR = 13,0 IC 95 % 1,6 – 106,4 $p = 0,02$ y de HR = 5,6, IC 95 % 1,1 - 27,9 $p = 0,03$; respectivamente.

En resumen, el estudio encontró que los pacientes de alto riesgo presentaban una incidencia de infección y enfermedad por CMV significativamente mayor que los R+ aunque no encontraron asociación entre la infección o enfermedad de CMV y los recuentos de células CD4+ y CD8+ específicas de CMV. Si bien, estos resultados podrían verse comprometidos por el escaso número de pacientes analizados.

Tabla 13. Resultados Eid et al., 2010

| Variable resultado | Pacientes R + | Pacientes D +/R- | Comentarios |
|--|---|--|---|
| Incidencia infección (%) | 7 % en D +/R+ 0 % en D-/R+ | 64 % | Diferencias significativas en la incidencia de infección entre pacientes con distinta serología. Pacientes D +/R- mayor incidencia de infección $p < 0,001$ |
| Incidencia de enfermedad (%) | 0 % | 46 % | $p < 0,001$ |
| Recuento de CD4 (%) (media \pm SD) | 1-3 meses (profilaxis): lisado— $1,11 \pm 1,0$ % pp65— $0,18 \pm 0,23$ % > 6 meses: no recuperan los niveles pretrasplante | No detectan CD4+ pretrasplante y no se comenzaron a detectar hasta los 4 – 5 meses aunque no se especifica el recuento (con lisado) | Los D +/R- presentaron siempre recuentos de CD4+ inferiores a los presentados por los pacientes R + |
| Recuento CD8+ (%) (media \pm SD) | 1-3 meses (profilaxis): pp65— $0,43 \pm 0,58$ % IE-1— $0,11 \pm 0,18$ % 6 meses: IE-1— $3,57 \pm 7,82$ % 12 meses: pp65— $3,65 \pm 2,85$ % | No detectan CD8+ pretrasplante y se empezaron a detectar a las 2 semanas del trasplante alcanzando los niveles más altos a los 4-6 meses aunque no se especifica el recuento (con pp65 y IE-1) | Los D +/R- presentaron siempre recuentos de CD8+ inferiores a los presentados por los pacientes R +. NO se encontraron diferencias significativas en los recuentos (los IC 95 % de los recuentos en R+ y D +/R- se solapaban) entre los pacientes R+ y los de alto riesgo D +/R- |
| Asociación entre CD8+ y CD4+ con DNAemia | | No se encontró asociación entre los porcentajes de CD4+ y CD8+ estimuladas con cualquiera de los antígenos con la DNAemia ni con enfermedad a lo largo del tiempo de seguimiento. | NO se encontraron diferencias significativas en los recuentos (los IC 95 % de los recuentos en R+ y D +/R- se solapaban) entre los pacientes R+ y los de alto riesgo D +/R- |

Discusión

Consideraciones generales

A pesar de la gran cantidad de literatura sobre el tema, la evidencia sobre la utilidad de la monitorización de la inmunidad celular en trasplante renal es escasa, una de las causas es que muchos de los estudios disponibles agrupan trasplantes de diferentes órganos sólidos dando los datos agregados. Esta agregación puede entenderse por la necesidad de tener un tamaño de población suficiente que garantice la potencia estadística necesaria en los análisis, pero no permite obtener resultados concluyentes cuando se tiene interés en un trasplante concreto ya que el órgano trasplantado es un factor de riesgo de la infección por CMV. Los pacientes con trasplante de páncreas, intestino y pulmón presentan mayor riesgo de infección que pacientes trasplantados con otros órganos sólidos (Torre-Cisneros *et al.*, 2011), por lo que parten con un diferente riesgo de infección según el órgano. Por otra parte, la recuperación de la inmunidad celular específica a CMV, medida como recuento de linfocitos CD4+ y CD8+, no tiene lugar de igual manera en todos los trasplantes, así estudios que analizaban la respuesta inmune celular a largo plazo en pacientes con trasplante renal, observaron que la frecuencia media de los linfocitos CD4+ y CD8+ específicos de CMV en estos pacientes (1,48 %; rango 0,06 – 17,26 %) era similar a la de los controles (1,82 %; 0,26 – 21,00 %). Mientras que en pacientes con trasplante de pulmón, los niveles de células T específicas de CMV eran significativamente inferiores a los controles (0,50 %; < 0,05 – 4,98 %) y se correlacionaban de forma significativa con la frecuencia de episodios de infección ($r = -0,57$, $p = 0,005$) (Sester *et al.*, 2005). Recientemente, un estudio realizado en España, San-Juan *et al.*, 2015, mostró que en pacientes con trasplante de órgano sólido tratados con profilaxis la adquisición de la inmunidad celular específica era diferente y de manera estadísticamente significativa entre los órganos trasplantados. Estos resultados hacen que los datos agregados de distintos tipos de trasplante deban ser confirmados mediante estudios prospectivos de cada órgano en cuestión.

Otra consideración importante a tener en cuenta a la hora de valorar la monitorización de la respuesta inmune como factor de riesgo de infección es el hecho de que la variable cuantificada y considerada como medida de respuesta inmune específica a CMV es la producción de INF- γ (células CD4+ y CD8+ productoras de interferón-gamma). Esta medida se trata de una variable subrogada, esto supone una limitación que puede dificultar la

interpretación de los resultados, ya que en la respuesta inmune podrían estar implicadas otras citoquinas distintas al INF- γ como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleukina-10 (IL-10)... (Vu *et al.*, 2014). Por otra parte, se ha observado que en población hispana con trasplante renal distintos polimorfismos del INF- γ estaban asociados a distintos riesgo de infección por CMV (Vu *et al.*, 2014); lo que implicaría otro factor a tener en cuenta dentro de la utilización de esta variable y que podría dificultar la interpretación de los resultados.

Además, no hay que olvidar la participación de otros componentes del sistema inmune que juegan un papel fundamental en el control de la infección primaria por CMV como las células *Natural Killer*, y que algunas interacciones entre los genes KIR y los HLA podrían estar asociadas al control de la infección primaria por CMV en pacientes de alto riesgo D+/R- con trasplante de órgano sólido (van Duin *et al.*, 2014).

En la valoración de la respuesta inmune específica a CMV se han utilizado epítomos del virus que han mostrado alta capacidad antigénica, en concreto los utilizados en los estudios incluidos en este informe han sido el pp65 y el IE-1. Sin embargo, la capacidad de estos epítomos para la estimulación de los linfocitos y el recuento de las CD4+ y CD8+ parece presentar distintos grados de inmunogenicidad, observándose que los pacientes no mostraban la misma respuesta inmune a los dos antígenos e incluso distintos estudios han mostrado resultados contradictorios. Así, el estudio de López-Oliva *et al.*, 2014 encontró que la respuesta de las CD8+ a IE-1 podría ser útil para identificar pacientes seropositivos con riesgo de infección postrasplante renal, por su parte, Kim *et al.*, 2015 no encontraron asociación entre el ensayo específico con IE-1 y la infección por CMV, y sí que pp65 parecía predecir la infección por CMV tras el trasplante. Aunque esta contradicción ocurre entre estudios que han utilizado diferentes técnicas para cuantificar la respuesta de la CD4+ y CD8+, (ICS y *ELISpot-assay*, respectivamente), y podría considerarse una consecuencia de la técnica de análisis; esta misma contradicción se ha encontrado en estudios que han utilizado el mismo método de análisis (*ELISpot-assay*), Bestard *et al.*, 2013 (*ELISpot assay*) encontraron que la monitorización pretrasplante específica al antígeno IE-1 de CMV podría mejorar la identificación de los pacientes trasplantados de riñón con mayor riesgo de infección, no encontrando asociación entre la respuesta inmune específica a CMV y la incidencia de infección cuando se utilizaba el antígeno pp65 o un lisado de CMV, resultados contrarios a los encontrados por Kim *et al.*, 2015. Estos datos ponen de manifestación las dudas e incertidumbre que todavía hay en el método más adecuado para la determinación de la respuesta inmune celular específica a CMV. De hecho, los epítomos utilizados podrían

suponer una limitación ya que, las respuestas de las células CD8 + al virus a menudo se dirigen a múltiples epítomos entre los que se encuentran además del pp65 y del IE-1, el PP50, la glicoproteína B (gB) y el IE-2 entre otros (Kumar *et al.*, 2009).

La respuesta a estos antígenos utilizados en la estimulación de las CD4+ y CD8+ está influenciada por el tipo de HLA (Cantisán *et al.*, 2015), y determinados HLA parecen comportarse como factores de riesgo o protección a la infección por CMV tras trasplante. Así, se ha observado que la presencia de HLA-B44 podría hacer al receptor de un trasplante renal susceptible a infección por CMV mientras que la presencia de HLA-B8 podría tener un efecto protector (Futohi, Saber, Nemati, Einollahi y Rostami, 2015).

En el caso del trasplante renal, además del seroestatus se ha observado que existen otros factores, como presentar una tasa de filtración glomerular inferior a 45 ml/min, que están asociados al riesgo de infección por CMV de aparición tardía (Jamal, Husain, Li, Famure y Kim, 2014).

Todos estos aspectos ponen de manifiesto la complejidad del tema y la dificultad de la interpretación de los resultados.

Consideraciones en la indicación de pretrasplante

Los estudios disponibles que abordan el análisis de la activación de la inmunidad celular específica antes del trasplante no presentan el diseño más adecuado para estudiar la respuesta inmune como un factor de protección/riesgo. Son estudios que se centran en valorar si la respuesta inmune específica (medida como CD4+ y CD8+) tiene capacidad para diagnosticar el riesgo de infección. El estudiar la respuesta inmune celular como factor de riesgo implicaría otro tipo de diseño de estudios de los que aún no se disponen. Se necesitarían estudios de cohortes con grupos de comparación similares y con la suficiente potencia estadística para realizar análisis multivariante que permitiera valorar si a igualdad de otros factores la respuesta inmune específica a CMV (definida como activación de CD4+ y CD8+ tras estimulación con antígenos de CMV), por sí sola, se puede considerar un factor de protección frente a la infección.

Los estudios identificados presentaban parámetros de capacidad diagnóstica: sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos; y aunque los estudios mostraban que los valores de estos parámetros eran similares, todos ellos proponían diferentes puntos de corte para su estimación, incluso aquellos estudios que utilizaban el mismo método de análisis (*ELISpot-assay*). Esta discrepancia en los puntos de corte pone de manifiesto la falta de estandarización de las pruebas y por consiguiente, la necesidad de estudios que determinen las condiciones

óptimas de realización que discriminen entre pacientes respondedores y no respondedores a la estimulación de la respuesta inmune específica a CMV (principalmente los epítotos a usar y puntos de corte).

La prueba era considerada positiva (paciente respondedor) cuando tras estimulación con los antígenos se detectaba un determinado número de células CD4+ y CD8+ (por encima del punto de corte) y negativa si no se detectaba dicho número (por debajo del punto de corte). En todos los estudios se ha observado una sensibilidad muy baja entre 44 – 50 % y con unos IC 95 % muy amplios que ponían de manifiesto la imprecisión de la estimación. Esta baja sensibilidad supondría un porcentaje considerable de falsos negativos, es decir, un alto número de pacientes clasificados como respondedores) por lo tanto según la prueba con bajo riesgo de infección por CMV pero que realmente sería de alto riesgo de infección. La baja sensibilidad identifica mal a los pacientes de alto riesgo. La idea de realizar esta valoración pretrasplante es la de adecuar el tratamiento preventivo más adecuado, profilaxis a los de mayor riesgo y terapia anticipada a los de menor riesgo; esta baja sensibilidad supondría no tratar con profilaxis pacientes con alto riesgo.

Por otra parte, los valores predictivos que tienen una interpretación clínica más fácil, inducen a pensar en su utilidad diagnóstica para clasificar a pacientes en riesgo; sin embargo, cuando se calculan los CP+ y CP-, que son independientes de la prevalencia, los valores obtenidos indican falta de capacidad diagnóstica de la prueba. Estos resultados son congruentes con los resultados de Rittá *et al.*, 2015 de valoración la supervivencia libre de evento (infección) a 1 año en el grupo respondedor y en el no respondedor, donde no encontraron diferencias significativas entre los dos grupos ($p = 0,7584$).

No se ha identificado ningún estudio en el que el tratamiento tras el trasplante, profilaxis o terapia anticipada, haya sido asignado considerando la respuesta inmune celular; todos los estudios utilizaban la serología como indicador del riesgo en la decisión sobre el tratamiento a seguir tras el trasplante.

Actualmente, se está llevando a cabo en el Hospital Universitario de Bellvitge un estudio prospectivo aleatorizado registrado en *EU Clinical Trials Register* (RESPECT, EudraCT Number 2013-004445-17) que pretende valorar la predicción de la infección por CMV en pacientes trasplantados renales mediante la evaluación de la respuesta inmune antes del trasplante. Su objetivo principal es averiguar, en pacientes D+/R+ sin terapia profiláctica, la incidencia de infección por CMV tras el trasplante renal en pacientes sin respuesta celular CMV-específica y en pacientes que si muestren una respuesta celular detectable. La técnica utilizada en este

estudio para medir la respuesta antes del trasplante es *ELISpot-assay* IFN-gamma que determinará las células T memoria/efectoras frente al antígeno IE-1 de CMV. Este estudio podrá aportar información relevante sobre la capacidad predictora de la respuesta inmune, ya que trata de estimar si existe diferencias significativas entre las tasa de infección de respondedores y no respondedores.

Consideraciones en la indicación de postrasplante

Se ha encontrado muy poca evidencia sobre esta indicación, el único estudio identificado con seguimiento a 1 año de pacientes de alto riesgo tanto D+/R- como R+ y con profilaxis durante 90 días, encontró que el tiempo medio de aparición de infección en general fue de 155 días \pm 33 días y no encontró asociación entre infección por CMV y los porcentajes de CD4+ y CD8+ específicas de CMV durante el seguimiento, ni en pacientes D+/R- ni en R+. El único factor de riesgo identificado fue la serología. Estos resultados en principio indicarían la escasa utilidad clínica de la prueba, sin embargo, las limitaciones del estudio no permite generalizar los resultados y son necesarios más estudios prospectivos y con mayor número de pacientes para establecer la utilidad clínica real de la prueba en esta indicación.

Por otra parte, es importante reflexionar sobre la finalidad de la prueba en esta indicación y sus implicaciones. La prueba pretende identificar dentro de aquellos pacientes de alto riesgo tratados con profilaxis los que tienen mayor riesgo de infección de aparición tardía, que podrían beneficiarse por lo tanto de una prolongación de la profilaxis. Sin embargo, existe una evidencia muy limitada sobre los beneficios de una profilaxis prolongada y hay que considerar los efectos negativos de la misma, como es la posibilidad de desarrollar resistencia a los antivirales, la toxicidad del tratamiento y el coste (Kumar *et al.*, 2009).

Conclusiones

La literatura sobre la monitorización de la respuesta celular inmune específica a CMV es abundante pero la tecnología se encuentra aún en fase de investigación. En trasplante renal:

Pretrasplante

- Las pruebas que establecen la respuesta inmune celular específica a CMV mediante análisis de INF- γ se encuentran en fase de investigación. Se está valorando los epítomos o antígenos más adecuados para la estimulación de los linfocitos T; así como de los puntos de corte del ensayo con mayor capacidad de discriminación del riesgo de infección. No se dispone de valores estandarizados que permitan discriminar entre respondedores y no respondedores a la estimulación por antígenos específicos de CMV en ninguna de las dos técnicas analizadas (*ELISpot-assay* e ICS).
- Las pruebas *ELISpot-assay* e ICS han mostrado baja sensibilidad y alta especificidad, aunque los coeficientes de probabilidad positivo y negativo indicaban que las pruebas no aportaban información diagnóstica significativa sobre el riesgo de infección por CMV.
- No existe evidencia sobre la utilidad clínica de la monitorización en esta indicación de las CD4+ y CD8+ específicas de CMV, al no disponer de estudios que valoraran prospectivamente si la terapia preventiva basada en la respuesta inmune celular específica del paciente reduce la tasa de infección por CMV. No se conoce el impacto en la decisión terapéutica.

Postrasplante:

- El mayor factor de riesgo de infección y/o enfermedad por CMV parece ser el estado serológico del donante y el receptor del injerto (D+/R-).
- No se ha detectado asociación entre los niveles de células CD4+ y CD8+ específicas de CMV (ICS) y la incidencia de infección o enfermedad en trasplante renal; aunque la evidencia procede de un único estudio con limitaciones metodológicas.
- No se dispone de evidencia sobre la utilidad clínica postrasplante de la monitorización de la respuesta inmune celular específica a CMV (CD4+ y CD8+) en pacientes D+/R-. No se ha encontrado estudios que valoren si su utilización ha reducido la incidencia o tasa de infección por CMV.

Referencias

Azevedo L.S., Camera Pierrotti, L., Abdala, E., Figueiredo Costa, S., Varejao Strabelli, T.M., Vidal Campos, S.,... de Sousa Marques, H.H. (2015). Cytomegalovirus infection in transplant recipients. *CLINICS*, 70, 515-523.

Bestard, O., Campistol, J.M., Morales, J.M., Sánchez-Fructuoso, A., Cabello, M., Cabello, V., Pallardó, L.M., Grinyó, J.M. (2012). Avances en la inmunosupresión para el trasplante renal. Nuevas estrategias para preservar la función renal y reducir el riesgo cardiovascular. *Nefrología*, 32, 374-84.

Bestard, O., Lúcia, M., Crespo, E., Van Liempt, B., Palacio, D., Melilli, E.,... Cruzado, J.M. (2013). Pretansplant Immediately Early-1-specific T cell responses provide protection for CMV infection after kidney transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13, 1793-1805.

Calarota, S. A., Aberle, J. H., Puchhammer-Stöckl, E., Baldanti, F. (2015). Approaches for monitoring of non virus-specific and virus-specific T-cell response in solid organ transplantation and their clinical applications. *Journal of Clinical Virology*, 70, 109-119.

Caliendo, A.M. Overview of diagnostic tests for cytomegalovirus infection. Hirsch, M. S., Thorner, A. R. Eds. UpToDate, [Internet: consultada 10 septiembre 2016]. Disponible: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-diagnostic-tests-for-cytomegalovirus-infection?source=search_result&search=antigenemia&selectedTitle=1~40

Cantisán, S., Lara, R., Montejo, M., Redel, J., Rodríguez-Benot, A., Gutiérrez-Aroca, J.,... Torre-Cisneros, J. (2013). Pretransplant Interferon- Secretion by CMV-Specific CD8+ T Cells Informs the Risk of CMV Replication After Transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13, 738-745.

Cantisán, S., Rodelo-Haad, C., Páez-Vega, A., Nieto, A., Vaquero, J.M., Poyato, A., ... Torre-Cisneros, J. (2015). Factors Related to the Development of CMV-Specific CD8+ T cell Response in CMV-Seropositive Solid Organ Transplant Candidates. *American Journal of Transplantation*, 15, 715-722.

Chandraker, A. Overview of care of the adult kidney transplant recipient. Brennan, D. C., Lam, A. Q. Eds. UpToDate, [Internet: consultada 10 septiembre 2016]. Disponible en: [https://www.uptodate.com/contents/overview-of-care-of-the-adult-kidney-transplant-recipient?source=search_result&search=Overview %20of %20care %20of %20the %20adult %20kidney %20transplant %20recipient.&selectedTitle=1~150](https://www.uptodate.com/contents/overview-of-care-of-the-adult-kidney-transplant-recipient?source=search_result&search=Overview%20of%20care%20of%20the%20adult%20kidney%20transplant%20recipient.&selectedTitle=1~150)

Costa, C., Balloco, C., Sidoti, F., Mantovani, S., Rittà, M., Pieceghello, A., ... Cavallo, R. (2014). Evaluation of CMV-specific cellular immune response by ELISpot assay in kidney transplant patients. *Journal of Clinical Virology*, 61, 523-528.

Eid, A. J., Brown, R. A., Arthurs, S. K., Lahr, B. D., Eckel-Passow, J. E., Larson, T. S., Razonable, R. R. (2010). A prospective longitudinal analysis of cytomegalovirus (CMV)-specific CD4+ and CD8+ T cells in kidney allograft recipients at risk of CMV infection. *Transplant International*, 23, 506-13.

Eid, A. J., Razonable, R. R. (2010). New developments in the management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Drugs*, 70, 965-81

Farfan, M. J., Torres, J. P., Vergara, A., Donoso, G., Alba, A., Paris, C., Santolaya, M. E. (2011). Comparación de las técnicas de reacción de polimerasa en cadena en tiempo real y antigenemia para la detección de citomegalovirus en sangre de niños sometidos a trasplantes. *Revista Chilena de Infectología* 28, 113-117.

Futohi, F., Saber, A., Nemati, E., Einollahi, B., Rostami, Z. (2015). Human Leukocyte Antigen Alleles and Cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Nephro-Urology Monthly*, 7, e31635.

Fernández-Ruiz, M., Kumar, D., Humar, A. (2014). Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation. *Clinical and Translational Immunology*, 3, e12.

Fishman, J. A. (2014). From the classic concepts to modern practice. *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (suppl.7), 4-9.

Gerna, G., Lilleri, D., Fornara, C., Comolli, G., Lozza, L., Campana, C., ... Rampino, T. (2006). Monitoring of human cytomegalovirus-specific CD4 and CD8 T-cell immunity in patients receiving solid organ transplantation. *American Journal of Transplantation*, 6, 2356-2364.

Hardinger, K., Brennan, D. C. Maintenance immunosuppressive therapy in renal transplantation in adults. Murphy, B., Lam, A. Q. Eds. UpToDate, [Internet: consultada 10 septiembre 2016]. Disponible en: [https://www.uptodate.com/contents/maintenance-immunosuppressive-therapy-in-renal-transplantation-in-adults?source=search_result&search=Maintenance %20immunosuppressive %20therapy %20in %20renal %20transplantation %20in %20adults.&selectedTitle=1~150](https://www.uptodate.com/contents/maintenance-immunosuppressive-therapy-in-renal-transplantation-in-adults?source=search_result&search=Maintenance%20immunosuppressive%20therapy%20in%20renal%20transplantation%20in%20adults.&selectedTitle=1~150)

Humar, A., Mazzulli, T., Moussa, G., Razonable, R. R., Paya, C. V., Pescovitz, M. D., ... Alekoc, E. (2005). Clinical Utility of Cytomegalovirus (CMV) Serology Testing in High-risk CMV D+/R- Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*, 5, 1065-1070.

Lee, S., Park, J. B., Kim, E. Y., Joo, S. Y., Shin, E. C., Kwon, C. H., ... Kim, S. J. (2011). Monitoring of cytomegalovirus-specific CD8+ T-cell response with major histocompatibility complex pentamers in kidney transplant recipients. *Transplantation Proceedings*, 43, 2636-2640.

Jamal, A. J., Husain, S., Li, Y., Famure, O., Kim, S. J. (2014). Risk Factors for Late-Onset Cytomegalovirus Infection or Disease in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation*, 97, 569-575.

Jenkins, F. J., Rowe, D. T., Rinaldo, C. R. (2003). Herpesvirus infections in organ transplant recipients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10, 1-7.

Kim, S.-H., Lee, H.-J., Kim, S.-M., Jung, J. H., Shin, S., Kim, Y.H., ... Han, D.J. (2015). Diagnostic Usefulness of Cytomegalovirus (CMV)-Specific T Cell Immunity in Predicting CMV Infection after Kidney Transplantation: A Pilot Proof-of-Concept Study. *Infection and Chemotherapy*, 47, 105-110.

Kotton, C.N., Kumar, D., Caliendo, A.M., Asberg, A., Chou, S., Danzinger-Isakov, L., Humar, A. (2013). Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*, 96, 333-360.

Krech, U. (1973). Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world. *Bulletin of the World Health Organisation* 49, 103.

Kumar, D., Chemenko, S., Moussa, G., Cobos, I., Manuel, O., Preiksaitis, J., ... Humar, A. (2009). Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid transplant recipients. *American Journal of Transplantation*, 9, 1214-1222.

- Ljungman, P., Griffiths, P., Paya, C. (2002). Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases*, 34, 1094-1097.
- Lochmanova, A., Lochman, I., Tomaskova, H., Marsalkova, P., Raszka, J., Mrazek, J., ... Grundmann, M. (2010). Quantiferon-CMV test in prediction of cytomegalovirus infection after kidney transplantation. *Transplantation Proceedings*, 42, 3574-3577.
- López-Oliva, M.O., Martínez, V., Buitrago, A., Jiménez, C., Rivas, B., Escuin, F., ... Bellón, T. (2014). Pretransplant CD8 T-cell response to IE-1 discriminates seropositive kidney recipients at risk of developing CMV infection posttransplant. *Transplantation*, 97, 839-845.
- Lúcia, M., Crespo, E., Melilli, E., Cruzado, J. M., Luque, S., Llaudó, I., ... Bestard O. (2014). Preformed frequencies of cytomegalovirus (CMV)-specific memory T and B cells identify protected CMV-sensitized individuals among seronegative kidney transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases*, 59, 1537-1545.
- Lumbreras, C., Manuel, O., Len, O., ten Berge, I.J.M., Sgarabotto, D., Hirsch, H.H. (2014). Cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (suppl. 7), 19-26.
- Manuel, O. (2013). Clinical Experience with Immune Monitoring for Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplant Recipients. *Current Infection Disease Report*, 15, 491-496.
- Manuel, O., Husain, S., Kumar, D., Zayas, C., Mawhorter, S., Levi, M. E., ... Humar, A. (2013). Assessment of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immunity for the Prediction of Cytomegalovirus Disease in High-Risk Solid-Organ Transplant Recipients: A Multicenter Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*, 56, 817-824.
- Mattes, F. M., Vargas, A., Kopycinski, J., Hainsworth, E. G., Sweny, P., Nebbia, G., ... Emery, V. C. (2008). Functional impairment of cytomegalovirus specific CD8 T cells predicts high-level replication after renal transplantation. *American Journal of Transplantation*, 8, 990-999,
- Mees, S. T., Kebschull, L., Mardin, W. A., Senninger, N., Suwelack, B., Wolters, H., Haier, J. (2014). Detection of different virus-specific CD8+ T cells after kidney transplantation. *Surgical Infections*, 15, 274-282.

Montejo, M. (2011). Definiciones y conceptos de interés en la infección por citomegalovirus: infección frente a enfermedad. Replicación, carga viral, profilaxis universal, terapia anticipada. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29 (Sup 16), 4-5.

Moreso, F., Hernández, D. (2013). ¿Ha mejorado la supervivencia del injerto tras el trasplante renal en la era de la moderna inmunosupresión? *Nefrología*, 33, 14-26.

Martín-Gandul, C., Pérez-Romero, P., Blanco-Lobo, P., Benmarzouk-Hidalgo, O. J., Sánchez, M., Gentil, M. A., ... Cordero, E. (2014). Viral load, CMV-specific T-cell immune response and cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients at higher risk for cytomegalovirus infection during preemptive therapy. *Transplant International*, 27, 1060-1068

Organización Nacional de Trasplante. (2012). Donación en asistolia en España: situación actual y recomendaciones. Documento de Consenso Nacional 2012 [consultado 10 Agosto 2016]. Disponible en: [http://www.ont.es/infesp/DocumentosDeConsenso/DONACI %C3 %93N %20EN %20ASISTOLIA %20EN %20ESPA %C3 %91A. %20SITUACION %C3 %93N %20ACTUAL %20Y %20RECOMEN DACIONES.pdf](http://www.ont.es/infesp/DocumentosDeConsenso/DONACI%20%93N%20EN%20ASISTOLIA%20EN%20ESPA%20%91A.%20SITUACION%20ACTUAL%20Y%20RECOMENDACIONES.pdf)

Organización Nacional de Trasplantes (ONT) (2015). Balance de actividad de la ONT del 2015. [consultado 8 junio 2016]. Disponible en: http://www.osalde.org/website/sites/default/files/ONT_Balance_Actividad_2015.pdf

Pereyra, F., Rubin, R.H. (2004). Prevention and treatment of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17, 357-361.

Puñal-Rioboo, J., Baños Álvarez, E., Varela Lema, L., Castillo Muñoz, M.A., Atienza Merino, G., Ubago Pérez, R., ... López García, M. (2015). Guía para la elaboración y adaptación de informes rápidos de evaluación de tecnologías sanitarias. — Santiago de Compostela: Consellería de Sanidad, Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia (avalia-t); Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2015.

Rittà, M., Costa, C., Sidoti, F., Ballocco, C., Ranghino, A., Messina, M., ... Cavallo R. (2015). Pre-transplant assessment of CMV-specific immune response by ELISpot assay in kidney transplant recipients. *New Microbiologica*, 38, 329-35.

Sagedal, S., Hartmann, A., Nordal, K.P., Osnes, K., Leivestad, T., Foss, A., Degré, M.,... Rollag, H. (2004). Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney International*, 66, 329–337.

Salavert, M., Granada, R., Díaz, A., Zaragoza, R. (2011). Papel de las infecciones víricas en pacientes inmunodeprimidos. *Medicina Intensiva*, 35, 117-125.

San-Juan, R., Navarro, D., García-Reyne, A., Montejo, M., Muñoz, P., Carratala, J., ... Aguado, J. M. (2015). Effect of long-term prophylaxis in the development of cytomegalovirus-specific T-cell immunity in D+/R- solid organ transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*, 17, 637-646.

Sester, M., Leboeuf, C., Schmidt, T., Hirsch, H.H. (2016). The “ABC” of virus-specific T cell immunity in solid organ transplantation. *American Journal of Transplantation*, xx, 1-10.

Sester, U., Gartner, B. C., Wilkens, H., Schwaab, B., Wossner, R., Kindermann, I., Sester, M. (2005). Differences in CMV-specific T-cell levels and long-term susceptibility to CMV infection after kidney, heart and lung transplantation. *American Journal of Transplantation*, 5, 1483-1489.

Sester, M., Sester, U., Gärtner, B., Heine, G., Girndt, M., Mueller-Lantzsch, N., ...Köhler, H. (2001). Levels of virus-specific CD4 T cells correlate with cytomegalovirus control and predict virus-induced disease after renal transplantation. *Transplantation*, 71, 1287-1294.

Sester, M., Sester, U., Gärtner, B.C, Girndt, M., Meyerhans, A., Köhler, H. (2002). Dominance of virus-specific CD8 T cells in human primary cytomegalovirus infection. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13, 2577-2584.

Sund, F., Lidehall, A. K., Claesson, K., Foss, A., Totterman, T.H., Korsgren, O., Eriksson, B.M. (2010). CMV-specific T-cell immunity, viral load, and clinical outcome in seropositive renal transplant recipients: a pilot study. *Clinical Transplantation*, 24, 401-409.

Tomtishen, J.P. (2012). Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virology Journal*, 9, 22.

Torre-Cisneros, J., Fariñas, M.C., Castón, J.J., Aguado, J.M., Cantisán, S., Carratalá, J., ...Zurbano, F. (2011). GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations for the management of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant patients. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29, 735-758.

Urrútia, G., Bonfill, X. (2010). Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Medicina Clínica*, 11, 507-511.

van Duin, D., Avery, R. K., Hemachandra, S., Yen-Lieberman, B., Zhang, A., Jain, A., ...Askar, M. (2014). KIR and HLA interactions are associated with control of primary CMV infection in solid organ transplant recipients. *American Journal of Transplantation*, 14, 156-162,

Vu, D., Shah, T., Ansari, J., Sakharkar, P., Yasir, Q., Naraghi, R., Hutchinson, I., Min, D. (2014). Interferon-gamma gene polymorphism +874 A/T is associated with an increased risk of cytomegalovirus infection among Hispanic renal transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*, 16, 724-732

Anexos

Anexo 1. Agencias de Evaluación consultadas

Las Agencias españolas de Evaluación consultadas han sido:

- AETS del Instituto de Salud del Carlos III.
- Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias-Osteba del Departamento de Salud del Gobierno Vasco.
- Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de la Comunidad de Madrid.
- Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia.
- Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Cataluña.
- Agencia de Evaluación y Planificación del Servicio Canario de Salud.
- Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

Las Agencias europeas de Evaluación consultadas han sido:

- KCE. *Belgian Health Care Knowledge Centre*
- HAS. *French National Authority for Health (Haute Autorité de Santé)*.
- DIMDI. *German Institute for Medical Documentation and Information*.
- IQWiG. *Institute for Quality and Efficiency in Health Care*.
- HIQA. *Health Information and Quality Authority*.
- Agenas. *Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali*.
- ASSR. *Regione Emilia Romagna (Regional Agency for Health and Social Care)*.
- ZIN. *National Health Care Institute*.
- NOKC. *Norwegian Knowledge Center for the Health Services*.
- INFARMED. *National Authority of Medicines and Health Products*.
- SBU. *Swedish Council on Technology Assessment in Health Care*.
- TLV. *Dental and Pharmaceutical Benefits Agency*.
- HIS. *Healthcare Improvement Scotland*.
- NETSCC.
- NIHR. *Evaluation, Trials and Studies Coordinating Centre*.
- HunHTA. *Hungarian Office for Health Technology Assessment*.

Anexo 2. Estrategias de búsqueda

MEDLINE (OVID) hasta 10/03/2016

1. *Kidney Transplantation/
2. ((renal OR kidney) AND (transplant* OR graft*)).ti.
3. ("solid organ" AND transplant*).ti.
4. OR/1-3
5. Cytomegalovirus/
6. exp Cytomegalovirus Infections/
7. (Cytomegalovirus OR CMV*).ti,ab.
8. OR/5-7
9. exp CD8-Positive T-Lymphocytes/
10. Monitoring, Immunologic/
11. Interferon-gamma Release Tests/
12. Interferon-gamma/
13. ("cell mediated immunity" OR "CMV specific" OR ((CD8* or cell*) and response*) OR (interferon* OR IFNg* OR IFN-g*)).ti,ab.
14. (QuantiFERON* OR ELISpot* OR "Intracellular cytokine staining" OR "MHC-tetramer staining").ti,ab.
15. OR/9-14
16. AND/4,8,15

EMBASE hasta 10/03/2016

1. 'kidney transplantation'/mj
2. renal:ti OR kidney:ti AND (transplant*:ti OR graft*:ti)
3. 'solid organ':ti AND transplant*:ti
4. 1 OR 2 OR 3
5. 'cytomegalovirus'/exp/mj
6. 'cytomegalovirus infection'/exp/mj
7. cytomegalovirus:ab,ti OR cmv*:ab,ti
8. 5 OR 6 OR 7
9. 'cd8+ t lymphocyte'/mj
10. 'immunological monitoring'/mj
11. 'interferon gamma release assay'/mj
12. 'gamma interferon'/exp

13. 'cell mediated immunity':ab,ti OR 'cmv specific':ab,ti OR (cd8*:ab,ti OR cell*:ab,ti AND response*:ab,ti) OR interferon*:ab,ti OR ifng*:ab,ti
14. quantiferon*:ab,ti OR elispot*:ab,ti OR 'intracellular cytokine staining':ab,ti OR 'mhc-tetramer staining':ab,ti
15. 9 OR 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14
16. 4 AND 8 AND 15

Science Citation Index Expanded (SCI) hasta 10/03/2016

1. TITLE: (((renal or kidney) AND (transplant* or graft*)))
2. TITLE: (("solid organ" AND transplant*))
3. 2 OR 1
4. TOPIC: ((Cytomegalovirus OR CMV*))
5. TOPIC: (("cell mediated immunity" OR "CMV specific" OR ((CD8* OR cell*) aAND response*) OR (interferon* OR IFNg* OR IFN-g*))
6. TOPIC: ((QuantiFERON* OR ELISpot* OR "Intracellular cytokine staining" OR "MHC-tetramer staining"))
7. 6 OR 5
8. 7 AND 4 AND 3

PREMEDLINE (PubMed) hasta 10/03/2016

1. ((renal[Title] OR kidney[Title])) AND (transplant*[Title] OR graft*[Title])
2. ("solid organ"[Title] AND transplant*[Title])
3. 1 OR 2
4. (Cytomegalovirus[Title/Abstract] OR CMV*[Title/Abstract])
5. ("cell mediated immunity"[Title/Abstract] OR "CMV specific"[Title/Abstract] OR interferon*[Title/Abstract] OR IFNg*[Title/Abstract] OR IFN-g*[Title/Abstract])
6. ((CD8*[Title/Abstract] OR cell*[Title/Abstract])) AND response*[Title/Abstract]
7. (QuantiFERON*[Title/Abstract] OR ELISpot*[Title/Abstract] OR "Intracellular cytokine staining"[Title/Abstract] OR "MHC-tetramer staining"[Title/Abstract])
8. 5 OR 6 OR 7
9. 3 AND 4 AND 8
10. medline [sb]
11. 9 not 10

Cochrane hasta el 11/03/2016

1. MeSH descriptor: [Kidney Transplantation] explode all trees
2. ((renal OR kidney) AND (transplant* OR graft*)):ti (Word variations have been searched)
3. ("solid organ" AND transplant*):ti (Word variations have been searched)
4. 1 OR 2 OR 3
5. MeSH descriptor: [Cytomegalovirus] explode all trees
6. MeSH descriptor: [Cytomegalovirus Infections] explode all trees
7. (Cytomegalovirus OR CMV*):ti,ab,kw (Word variations have been searched)
8. 5 OR 6 OR 7
9. MeSH descriptor: [CD8-Positive T-Lymphocytes] explode all trees
10. MeSH descriptor: [Monitoring, Immunologic] explode all trees
11. MeSH descriptor: [Interferon-gamma Release Tests] explode all trees
12. MeSH descriptor: [Interferon-gamma] explode all trees
13. ("cell mediated immunity" OR "CMV specific" OR ((CD8* OR cell*) AND response*) OR (interferon* OR IFNg* OR IFNg*)):ti,ab,kw (Word variations have been searched)
14. (QuantiFERON* OR ELISpot* OR "Intracellular cytokine staining" OR "MHC-tetramer staining"):ti,ab,kw (Word variations have been searched)
15. {OR 9-14}
16. 4 AND 8 AND 15

Centre for Reviews and Dissemination (CRD) hasta 11/03/2016

1. MeSH DESCRIPTOR Kidney Transplantation EXPLODE ALL TREES
2. (((renal or kidney) and (transplant* or graft*)))
3. (("solid organ" and transplant*))
4. 1 OR 2 OR 3
5. MeSH DESCRIPTOR Cytomegalovirus Infections EXPLODE ALL TREES
6. ((Cytomegalovirus OR CMV*))
7. 5 OR 6

8. MeSH DESCRIPTOR CD8-Positive T-Lymphocytes EXPLODE ALL TREES
9. MeSH DESCRIPTOR Monitoring, Immunologic EXPLODE ALL TREES
10. MeSH DESCRIPTOR Interferon-gamma Release Tests EXPLODE ALL TREES
11. MeSH DESCRIPTOR Interferon-gamma EXPLODE ALL TREES
12. (("cell mediated immunity" OR "CMV specific" OR ((CD8* OR cell*) AND response*) OR (interferon* OR IFNg* OR IFN-g*)))
13. ((QuantiFERON* OR ELISpot* OR "Intracellular cytokine staining" OR "MHC-tetramer staining"))
14. 8 OR 9 OR 10 OR 11 OR 12 OR 13
15. 4 AND 7 AND 14

National Institute for Health and Care Excellence (NICE) hasta 11/03/2016

(Cytomegalovirus OR CMV*) AND (transplant* OR graft*) AND (kidney* OR renal)

Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH) hasta 11/03/2016

(Cytomegalovirus OR CMV*) AND (transplant* OR graft*) AND (kidney* OR renal)

Anexo 3. Resultados en las bases referenciales

| Resultados obtenidos en las distintas bases referenciales | |
|--|---------------------------------------|
| Base de datos | Nº publicaciones identificadas |
| Medline | 310 |
| Embase | 389 |
| <i>Science Citation Index expanded (SCI)</i> | 248 |
| PreMedline | 22 |
| <i>Cochrane Library</i> | 38 |
| CRD | 3 |
| <i>National Institute for Health and Care Excellence (NICE)</i> | 3 |
| <i>Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH)</i> | 1 |
| <i>French National Authority for Health (Haute Autorité de Santé, HAS)</i> | 1 |
| <i>Swedish Council on Technology Assessment in Health Care (SBU)</i> | 2 |
| <i>Dental and Pharmaceutical Benefits Agency (TLV)</i> | 1 |
| <i>NIHR, Evaluation, Trials and Studies Coordinating Centre</i> | 1 |
| <i>INAHTA Briefs</i> | 6 |
| | Total = 1025 |

