

AGENTES VIRALES ASOCIADOS AL SINDROME DIARREICO EN PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES

**MILDRE C. VALLE¹, LAURA C. MARTINEZ², LEONARDO J. FERREYRA², MIGUEL O. GIORDANO², MARIA B. ISA²,
JORGE V. PAVÁN², GRACIELA DE BOCCARDO¹, PABLO U. MASSARI¹, SILVIA V. NATES²**

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Privado Centro Médico de Córdoba; ² Instituto de Virología Dr. J. M. Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

Resumen El objetivo del presente estudio fue documentar la frecuencia de agentes virales clásicos y emergentes y su asociación etiológica con el síndrome diarreico en pacientes trasplantados renales en Córdoba, Argentina. Se estudiaron 42 muestras fecales de individuos trasplantados renales, internados y ambulatorios, con y sin diarrea, todas obtenidas después del trasplante. Los pacientes se encontraban bajo triple terapia inmunosupresora con esteroides, azatioprina y ciclosporina ó tacrolimus. Los resultados obtenidos revelaron la presencia de rotavirus grupo A y picobirnavirus en tres de nueve pacientes con síndrome diarreico severo (33.33%), en ausencia de otros patógenos bacterianos entéricos. La presencia de estos agentes virales se correlacionó con niveles elevados de ciclosporina en sangre (> 290 ng/ml) o bien con un tratamiento inmunosupresor prolongado. En contraste, no se detectó ningún virus en las muestras procedentes de individuos sin diarrea ($p < 0.05$). Estos resultados documentan la participación de virus en la etiología de cuadros diarreicos severos en pacientes trasplantados renales.

Palabras clave: trasplante renal, diarrea viral, rotavirus, picobirnavirus, adenovirus.

Abstract *Diarrheic syndrome related to viral agents in kidney transplanted patients.* The aim of this study was to report on the occurrence of conventional and emerging viral agents as well as their etiological link with diarrhea in kidney transplanted subjects from Cordoba, Argentina. A total of 42 stool samples were analysed. They were obtained from both ambulatory and hospitalized kidney transplanted patients with and without diarrhea after transplant. All patients were under immunosuppressive treatment with steroids, azathioprine and cyclosporine or tacrolimus. Results revealed the presence of group A rotavirus and picobirnavirus in three patients suffering from severe diarrhea (33.33%). No enteric bacterial agent was isolated from these patients. The presence of viral agents was related to high levels of cyclosporine in blood (> 290 ng/ml) or prolonged immunosuppressive treatment. On the other hand, no virus was detected in any of the samples collected from asymptomatic individuals ($p < 0.05$). These findings suggest that viruses are implicated in the etiology of diarrheal disease in these patients.

Key words: kidney transplant, viral diarrhea, rotavirus, picobirnavirus, adenovirus

Las complicaciones debidas a infecciones respiratorias y gastrointestinales, constituyen una de las causas más importantes de morbi-mortalidad en pacientes sometidos a trasplante de órganos. Tanto infecciones bacterianas, como fúngicas o virales han sido detectadas durante el período posterior inmediato o más tardío al trasplante¹.

Respecto a las complicaciones gastrointestinales, algunos estudios han identificado agentes virales como

responsables del cuadro diarreico. En trasplantados de médula ósea, Troussard y col.² y Yolken y col.³ detectaron rotavirus con una frecuencia del 8.5% y 12.0% respectivamente, presentándose en estos casos una enfermedad de curso agudo y de sintomatología severa. Otros agentes virales "clásicos", los adenovirus serotipos 2, 5, 11, 31, 40 y 41 se reportaron también como patógenos virales frecuentes en las infecciones gastrointestinales, en estos pacientes¹⁻³.

Con referencia a las complicaciones en niños trasplantados renales, recientemente Their y col.⁴ documentaron que las infecciones gastrointestinales de etiología viral se presentan en segundo lugar en importancia después de las del tracto respiratorio alto; existiendo muy poca información bibliográfica que documente la partici-

Recibido: 29-IX-2000

Aceptado: 28-XII-2000

Dirección postal: Dra. Silvia V. Nates, Instituto de Virología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina
Fax: (54- 351) 4688881 e-mail: snates@cmebcm.uncor.edu

pación de agentes virales en la etiología del síndrome diarreico en estos pacientes⁵.

El objetivo del presente estudio fue documentar la frecuencia de agentes virales clásicos y emergentes y su asociación etiológica con el síndrome diarreico en pacientes adultos trasplantados renales en Córdoba, Argentina.

Durante el período comprendido entre diciembre de 1998 y junio de 2000, se realizaron 81 trasplantes renales en el Servicio de Nefrología del Hospital Privado Centro Médico de Córdoba; de éstos se estudiaron 42 pacientes. Del total de las muestras (42), 9 correspondieron a pacientes con síndrome diarreico (grupo A), de los cuales 8 se encontraban internados y 1 ambulatorio. Las 33 muestras restantes pertenecieron a pacientes que no presentaban síndrome diarreico (grupo B), todos internados. Se consideró dentro del grupo A, a aquellos individuos que presentaron diarrea hasta 30 días anteriores al momento de la toma de muestra. Este criterio se fundamenta en que los pacientes inmunosuprimidos pueden excretar partículas virales por períodos tan prolongados como 30 días posteriores a la finalización de los síntomas.

La totalidad de los pacientes estudiados se encontraba bajo triple terapia inmunosupresora con esteroides, azatioprina y ciclosporina ó tacrolimus, cuyas dosis fueron ajustadas según el tiempo transcurrido después del trasplante, para lograr los siguientes niveles sanguíneos residuales:

Ciclosporina: 250-300ng/ml hasta 30 días post-trasplante.

200-250ng/ml después de los 30 días post-trasplante.

Tacrolimus: 10-15 ng/ml hasta 30 días post-trasplante.

5-10 ng/ml después de los 30 días post-trasplante.

En la Tabla 1, se caracteriza la población estudiada. Las muestras fueron conservadas a - 40° C hasta su procesamiento en el laboratorio. Para la detección del ARN viral de rotavirus humano (RVH) y picobirnavirus (PBV) se utilizó la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida y revelado con tinción argéntica (PAGE

S/S)⁶. Para la identificación de antígeno de grupo de adenovirus se utilizó la prueba comercial de aglutinación de látex (Adenolex, Orion Diagnostica, Finlandia)⁷. Aquellas muestras que resultaron positivas fueron observadas en un microscopio electrónico de transmisión JEOL EM-SQH10 a 40,000 X para la detección de partículas virales. Se realizó observación directa y cultivo bacteriológico en todas las muestras recolectadas.

Los resultados obtenidos revelaron la presencia de rotavirus grupo A y picobirnavirus en muestras correspondientes a 3 de los 9 pacientes con síndrome diarreico severo (33.33%); en ausencia de otros patógenos bacterianos entéricos. La presencia del agente estuvo relacionada con niveles elevados de ciclosporina en sangre (> 290 ng/ml) o a un tratamiento inmunosupresor prolongado. En contraste, no se detectó ningún virus en las muestras procedentes de los 33 individuos sin diarrea (p <0.05). Los 2 pacientes con detección positiva para rotavirus se encontraban cursando un cuadro agudo de gastroenteritis al momento de la toma de la muestra; mientras que la detección de PBV se realizó en un paciente que presentó diarreas intermitentes y fiebre 12 días antes de la toma de la muestra. En la Tabla 2, se caracterizan los casos de diarrea con detección viral positiva.

Las 2 muestras RVH positivas revelaron el típico patrón electroforético, mostrando los 11 segmentos de ARN distribuidos en cuatro grupos genómicos. La muestra PBV positiva, reveló a su vez, el patrón genómico característico bisegmentado. Cabe destacar que los pacientes infectados con rotavirus tenían una función renal con valores casi normales, mientras que el paciente en el que se identificó PBV (paciente 3) presentaba al momento de la toma de muestra una necrosis tubular aguda. El análisis de estas muestras por microscopía electrónica mostró partículas virales con morfología típica de RVH (70 nm) y partículas de tamaño compatible con PBV (35 nm), respectivamente.

Estos resultados documentan la participación de agentes virales en la etiología de cuadros diarreicos severos

TABLA 1.- Características de la población de pacientes trasplantados renales estudiada en Córdoba entre diciembre 1998 y junio 2000

Subgrupos de pacientes	Nº de muestras	Pacientes internados	Pacientes ambulatorios	Sexo		Promedio de edad en años (rango: 28-48)
				Masc.	Fem.	
A (con diarrea)	9	8	1	3	6	35.0
B (sin diarrea)	33	33	—	19	14	33.8
Total	42	41	1	22	20	

TABLA 2.— Casos de gastroenteritis en trasplantados renales con detección viral positiva en Córdoba entre diciembre 1998 y junio 2000

Paciente	Condición de paciente	Edad y sexo	Rotavirus	Picobirnavirus	Adenovirus	Días post-trasplante	Terapia inmunosupresora niveles sanguíneos	Creatinina plasmática mg / dl
1	Internado	36/fem.	+	-	-	9	Ciclosporina 495ng/ml.	1.2
2	Ambulatorio*	28/fem.	+	-	-	450	Tacrolimus 10 ng/ml.	1.6
3	Internado	34/fem.	-	+	-	19	Ciclosporina 303 ng/ml.	4.6

* La gastroenteritis fue el motivo de la consulta.

en pacientes trasplantados renales. El riesgo de infección, incluyendo agentes oportunistas, está determinado principalmente por la interacción de dos factores: uno es el escenario epidemiológico del entorno del paciente y el otro es el estado inmunológico del mismo. El escenario epidemiológico de un individuo trasplantado, admite a su vez dos niveles de análisis: el que corresponde a los ámbitos comunitario y hospitalario. Los dos casos positivos para RVH (paciente 1 y 2, Tabla 2) correspondieron a muestras tomadas durante la época invernal, coincidiendo con el pico de mayor frecuencia de circulación de este virus en la comunidad⁸. Si bien está firmemente comprobado que la población infantil es la más susceptible a la infección por este virus, la infección sintomática en adultos ha sido referida por algunos autores en otras poblaciones de inmunosuprimidos como trasplantados de médula ósea e infectados con HIV^{2,9}. La suma de ambos componentes, inmunológico y epidemiológico, explicaría, por lo tanto, la infección por rotavirus en estos pacientes. Más aún, el hecho que las personas infectadas por RVH excretan grandes cantidades de partículas virales (10^{12} partículas por gramo de materia fecal) y que las mismas pueden mantenerse viables por días en apropiadas condiciones ambientales, habría propiciado la infección nosocomial por RVH (paciente 1, Tabla 2). Dado los apropiados niveles de bioseguridad mantenidos por el personal de la unidad de trasplante y a las características de este virus, parece probable que la infección haya sido vehiculizada desde el exterior. Para este mismo caso cabe destacar que el patrón electroferotípico de la cepa aislada resultó idéntico al circulante en la población infantil en ese mismo mes en nuestra ciudad, sugiriendo que el paciente se infectó con una cepa de circulación endémica local.

La tercera muestra con detección viral positiva correspondió a picobirnavirus y es el primer reporte, en nuestro conocimiento, de la circulación de este virus emergente en población de trasplantados renales. Este hallazgo refuerza la hipótesis esbozada en trabajos previos en los que se sugiere que el PBV sería un agente

causal de síndrome diarreico en individuos infectados por HIV, cursando un estado de inmunosupresión marcada (niveles de linfocitos T CD4 (+) <499/ul)¹⁰⁻¹². Los factores más importantes para la inmunosupresión en un individuo, en el caso de una terapia inmunosupresora, son la dosis recibida y la duración del tratamiento. En el caso particular analizado, el paciente estaba cursando el primer mes post-trasplante con niveles elevados de ciclosporina en sangre (480 ng/ml); por lo tanto, el estado de inmunosupresión habría actuado como factor facilitador para la infección por picobirnavirus. No es posible inferir acerca de la fuente de infección, ya que se desconocen los reservorios de PBV y sus vías de transmisión.

Si bien en reportes previos se señalaba que los adenovirus son una causa importante de infecciones en población de trasplantados de médula ósea, no se cuenta con datos en el grupo de trasplantados renales. En este estudio no hemos detectado estos agentes en ninguna de las muestras, lo que no descarta su circulación en esta población, por lo cual será necesario proseguir el estudio, ampliando el número de muestras.

Este trabajo aporta datos acerca de agentes etiológicos virales del síndrome diarreico en trasplantados renales, información importante para considerar a los virus como agentes responsables en la etiopatogenia de la diarrea en estos pacientes. Por otra parte brinda las bases para impartir medidas terapéuticas apropiadas y preventivas de la diseminación viral.

Bibliografía

1. Chakrabarti S, Collingham KE, Stevens RH, Pillay D, Fegan CD, Milligan DW. Isolation of viruses from stools in stem cell transplant recipients: a prospective surveillance study. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 277-82.
2. Troussard X, Bauduer F, Gallet E, et al. Virus recovery from stools of patients undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 573-6.
3. Yolken RH, Bishop CA, Townsend TR, et al. Infectious gastroenteritis in bone marrow transplant recipients. *New Engl J Med* 1982; 306: 1010-2.

4. Their M, Holmberg C, Lautenschlager Y, Hockerstedt K, Jalanko Hannu. Infections in pediatric kidney and liver transplant patients after perioperative hospitalization. *Transplantation* 2000; 69:1617-23.
5. Rubin RH. Infectious disease complications of renal transplantation. *Kidney International* 1993; 44: 221-36.
6. Boom R, Noordaa J, Sol C et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 495-503.
7. Grandien M, Unhoo Y, et al. Latex agglutination test for Adenovirus diagnosis in diarrheal disease. *J Med Virol* 1987; 23: 311-6.
8. Glass RI, Kilgore PE. Etiology of acute viral gastroenteritis. Diarrheal disease, *Nestle Nutrition Workshop Series* 1997; 38: 39-54.
9. Quinn TC, Masur H, Strober W, et al. Gastrointestinal infectious in Aids. *Ann Intern Med* 1992; 116: 63-77.
10. Grohmann GS, Glass RI, Pereira H, et al. Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 1993; 329: 11-20.
11. Giordano MO, Martínez LC, Rinaldi D, et al. An emerging enteric agent in HIV infected patients in Argentina. Detection of picobirnavirus in HIV infected patients with diarrhea in Argentina. *J AIDS Human Retrovirol* 1998; 18: 380-3.
12. Giordano MO, Martínez LC, Rinaldi D, et al. *Aids Research and Human Retroviruses* 1999; 15: 1427-32.

Desde algunas semanas antes, las márgenes del Río de la Plata se habían cubierto de pescados muertos, y el agua tenía un olor tan horrible que mucha de la gente que vivía al sur de la ciudad padecía enfermedades. También el río de Barracas había adquirido un color púrpura, por la sangre de los animales que se mataban en los "saladeros" ubicados sobre sus orillas. Pero como estos establecimientos saladeros habían existido por más de un siglo y los hombres allí empleados gozaban de excelente salud, no se tomaron medidas para suspender la matanza de ganado o purificar el agua antes de que desembocara en el Río de la Plata. De hecho, durante mucho tiempo había sido costumbre enviar a los inválidos a Barracas para que inhalaran la particular atmósfera de los saladeros. (...).

Al principio de la epidemia los barqueros de La Boca con sus familias, así como muchos de los habitantes de la infectada parroquia de San Telmo, se habían instalado en las mejores casas de los barrios elegantes del sur, como si la ciudad hubiera sido tomada por asalto. La mayoría de las calles pobres estaban desiertas, y por ellas hacían sus rondas las Hermanas de la Caridad, que a veces rescataban una que otra criatura desvalida de entre un grupo de cadáveres que podían pasar días y días de espera antes de que la policía pudiera llevárselos a enterrar. (...).

Como el nuevo cementerio, inaugurado en marzo, ya estaba lleno, el jefe de policía tomó la granja de Chacarita, en el extremo oeste de la ciudad, y la destinó al mismo propósito. Después de esparcir cien cargas de cal sobre las tumbas de las veinte mil víctimas en el cementerio de los Corrales, los sepultureros marcharon hacia el nuevo terreno. Se les pagaba alrededor de treinta chelines al día, y afortunadamente ni uno de ellos murió. Si hubiera cundido el pánico entre ellos, habría sido imposible conseguir otros que los reemplazaran. Eran aproximadamente trescientos y trabajaban como marineros, en turnos de cuatro horas. El día que más cuerpos se enterraron —exactamente mil ochenta— fue el lunes de Pascua. Aun así el promedio semanal pocas veces excedió los cinco mil.

Del registro personal de Marion Mulhall sobre la epidemia de fiebre amarilla en Buenos Aires, enero-junio de 1871. En: Acento Extranjero. Dieciocho relatos de viajeros en la Argentina. Selección y prólogos de María Sonia Cristoff. Traducciones de G. Adamo y L. Wittner. Editorial Sudamericana, Buenos Aires, 2000, p 151-3.