

REPLICACIÓN DEL VIRUS BK EN UNA POBLACIÓN DE PACIENTES TRASPLANTADOS RENALES

¹ Grutadauria Sergio L.

¹ Nader Virginia

² Rodríguez Aranciva María del Valle

² Salgado María Susana

¹ de Elías Rafael

¹ Kiener Oscar I.

¹ Laboratorio de Análisis Dres de Elías y Kiener SRL – Laboratorio Central – Sanatorio Allende

² Laboratorio de Nefrología – Sanatorio Allende

Correspondencia: Sergio Grutadauria. Laboratorio Central. Sanatorio Allende. Obispo Oro 42.
Córdoba. Argentina. 0351 422 2425. sergiogru7@gmail.com.

RESUMEN

El virus BK (VBK) se encuentra ampliamente distribuido en la población humana. Este agente establece una infección crónica latente en las células tubulares renales. Mientras que en personas inmunocompetentes las reactivaciones son escasas y sin manifestaciones clínicas, en pacientes trasplantados renales bajo terapia inmunosupresora las reactivaciones son frecuentes, especialmente durante el primer año post trasplante. La multiplicación viral provoca una destrucción de las células tubulares renales, con la consiguiente aparición virus en orina (viruria). Cuando la replicación viral abarca también el tejido intersticial, el microorganismo accede al torrente circulatorio (viremia). La intensa respuesta inflamatoria local, que ocasiona la replicación viral, puede llevar a la pérdida del injerto. Nuestro objetivo fue analizar la presencia de VBK en orina y suero de pacientes trasplantados renales en el Sanatorio Allende de la Ciudad de Córdoba, Argentina, dentro del primer año post trasplante.

Se incluyeron 110 muestras (55 de orina y las correspondientes 55 de suero) pertenecientes a 41, las que se obtuvieron en ocasión de sus controles trimestrales post trasplante (3, 6, 9 y 12 meses). La detección viral se realizó mediante de real-time PCR utilizando el kit comercial BK Virus R-gene, Argene - Biomerieux. Dieciséis muestras de orina fueron positivas para VBK y 4 de ellas fueron positivas también en suero. Las muestras virémicas correspondieron a orinas con altos niveles virales.

Siendo que el período de ventana entre la viruria y la probable nefropatía es de 6 a 12 semanas, el monitoreo viral constituye una herramienta valiosa que permite anticipar y planificar una intervención terapéutica.

Palabras Clave: virus BK – Trasplantados renales - Nefritis

INTRODUCCION

El virus BK (VBK) se encuentra ampliamente distribuido en la población humana, con una prevalencia cercana al 90%. Fue descubierto en el Reino Unido a principio de los años 70 en un paciente trasplantado renal que presentaba estenosis ureteral, cuyas iniciales eran "B.K." (1,2). No se han dilucidado totalmente las vías de transmisión, ni las manifestaciones clínicas de la primoinfección. Muy probablemente el virus entraría al organismo por la mucosa respiratoria y posteriormente establece una infección crónica latente en las células tubulares renales. En personas inmunocompetentes hay reactivaciones esporádicas asintomáticas que cursan con baja excreción viral urinaria, pero nunca con viremia (3,4). El escenario es totalmente diferente en pacientes trasplantados renales bajo terapia inmunosupresora: las reactivaciones son frecuentes, especialmente durante el primer año post trasplante. La multiplicación viral causa inicialmente la destrucción de células tubulares, con la consiguiente aparición de virus en orina (viruria). En algunos casos la replicación viral llega a abarcar también el tejido intersticial irrigado por los capilares peritubulares y de esta forma el virus accede al torrente circulatorio (viremia) (5).

La replicación viral masiva en el órgano trasplantado trae aparejada una respuesta inflamatoria local que puede evolucionar a una atrofia tubular con fibrosis intersticial y estenosis ureteral (1). Este cuadro es irreversible, quedando como únicas opciones retrasplantar o retornar a diálisis (3).

No están totalmente esclarecidos los mecanismos que mantienen bajo control la replicación viral; en pacientes virémicos se ha observado una disminución de linfocitos T secretores de interferón gamma específicos para el VBK (6,7).

La nefritis por VBK puede presentarse hasta en el 10% de los trasplantes realizados (8). Como la nefropatía ocurre posterior a la viremia, y a su vez ésta es posterior a la viruria, el diagnóstico temprano es fundamental, ya que permite tomar acciones para evitar un daño renal irreparable. Si bien no hay consenso sobre el uso de una terapia antiviral específica, la disminución transitoria de la inmunosupresión permite controlar la replicación viral y evitar la progresión hacia la falla del injerto (1,3,9).

El objetivo del presente estudio fue analizar la presencia de VBK y cuantificar sus niveles en pacientes trasplantados renales en el Sanatorio Allende de la Ciudad de Córdoba, Argentina, dentro del primer año post trasplante.

MATERIAL Y METODOS

Se diseñó un estudio transversal, prospectivo y observacional.. Se incluyeron 110 muestras: 55 de orina y las correspondientes 55 de suero, pertenecientes a 41 pacientes las que se obtuvieron en ocasión de sus controles trimestrales post trasplante (3, 6, 9 y 12 meses); de algunos pacientes se obtuvo más de una muestra. La población estuvo compuesta por 30 hombres y 11 mujeres (Edad 50,4, rango 18-79). Las muestras fueron recibidas a partir de Abril de 2016.

Se utilizó orina (primera micción de la mañana recolectada en envases estériles comerciales) y suero (en ayunas, a partir de sangre entera obtenida por venopunción en tubos con gel separador), ambas muestras tomadas el mismo día y fueron conservadas a -20° C hasta su procesamiento.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Sanatorio Allende. No fue necesario solicitar el consentimiento a los pacientes, ya que no se hizo intervención alguna sobre los mismos y no fue necesario tomar muestras adicionales para la realización del estudio.

La detección viral se realizó mediante una técnica comercial de real-time PCR (BK Virus R-gene, Argene - Biomerieux). Los ácidos nucleicos se purificaron a partir de 200µl de orina o suero utilizando el reactivo Nuclisens Isolation Kit (Biomerieux), eluyendo los mismos con 50µl de buffer de elusión. El kit incluye un control interno para descartar la presencia de inhibidores y 4 estándares cuantificados, con los que es posible calcular la cantidad de copias virales por ml de muestra. La sensibilidad analítica de la técnica es de 140 copias/ml de orina y 65 copias/ml de suero. Las muestras se procesaron en un termociclador Rotor Gene Q (Qiagen).

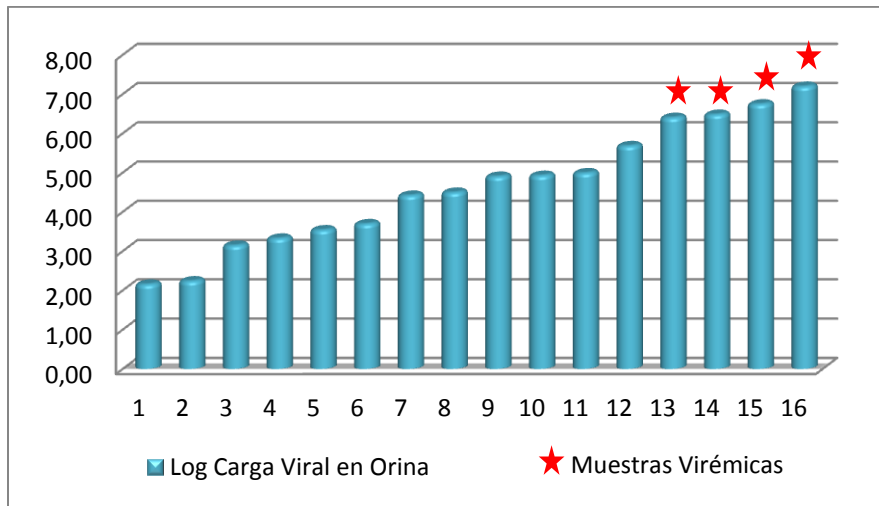
Se analizaron inicialmente todas las muestras de orina. Aquellas que fueron positivas para VBK se procedió realizó a la detección viral en la correspondiente muestra de suero.

RESULTADOS

Dieciséis de las 55 muestras de orina (29%) fueron positivas para VBK, con cargas virales que oscilaron entre 420 y 15,8 millones de copias/ml. (Figura I).

A todas las muestras con viruria se les realizó la cuantificación viral en suero: 4 fueron positivas, con cargas virales comprendidas entre 255 y 29.909 copias/ml. Las muestras virémicas correspondieron a orinas con altos niveles virales (mayores a 2.552.000 copias/ml). (Figura I).

Figura I: Distribución de los valores de carga viral en orina (pacientes con viruria).



(Se grafican los logaritmos de la carga viral urinaria (copias/ml)).

DISCUSION

A más de cuatro décadas de la descripción de la nefropatía por VBK en trasplantados renales y a pesar de los avances alcanzados en las terapias inmunosupresoras, no ha disminuido la proporción de pacientes que experimentan una reactivación viral durante el primer año post trasplante; por esta razón se han introducido programas de monitoreo en la gran mayoría de los centros de trasplante renal de los países desarrollados (10). Los resultados de nuestro estudio corroboraron que la población local de pacientes con injerto de riñón no es ajena a la reactivación del VBK.

El 29% de las muestras de orina procesadas fueron positivas para VBK. Este porcentaje concuerda con lo reportado por varios autores (3,11). Observamos una gran amplitud en los valores de viruria obtenidos (10^2 a 10^7 15,8 copias/ml). Hirsch y cols coinciden en que hay una alta fluctuación fisiológica en este parámetro, de ahí que recomiendan hacer muestreos seriados y tomar como significativas aquellas variaciones superiores a $2 \log_{10}$ (12).

Del total de muestras de orina positivas, solo 1/4 resultaron virémicas. En la bibliografía se observa una alta disparidad en los porcentajes de muestras virémicas, debido principalmente a diferencias entre las características de los pacientes, como por ejemplo en el tratamiento farmacológico, seguimiento, tiempo post trasplante, etc). En general se acepta que alrededor de 1/3 de los pacientes con viruria, evolucionan a la viremia (13).

Todas las muestras virémicas correspondieron a pacientes con niveles de viruria superiores a 2,5 millones de copias/ml. Funahashi y cols obtuvo una alta correlación entre los niveles de viruria y viremia en un estudio que incluyó 270 pacientes (14).

Si bien el diagnóstico final de nefropatía asociada a VBK es anatomopatológico en biopsia renal, el monitoreo viral en orina y suero constituye una estrategia menos invasiva y objetiva que alerta sobre qué pacientes están en riesgo. Adicionalmente, la posibilidad de obtener resultados cuantitativos ha permitido asociar el riesgo de nefropatía con los niveles de carga viral sérica (11,15). Estas características, sumadas a que el intervalo entre la viremia y la probable nefropatía es de 2 a 6 semanas, hacen del monitoreo viral una excelente herramienta que permite anticipar y planificar una intervención oportuna (5,12).

BIBLIOGRAFIA

1. Jamboti J. BK virus nephropaty in renal transplant recipients. *Nephrology* 21; 2016: 647-54.
2. Knowles WA. Discovery and Epidemiology of the Human Polyomaviruses BK Virus and JC Virus. *Adv Exp Med Biol.* 2006; 577: 19-45.
3. Hirsh HH. Polyomavirus BK Nephropathy: A (Re-merging Complication in Renal Transplantation *American Journal of Transplantation* 2002; 2: 25-30.
4. Infanti EA, Domoulin A, Buser A, Samaridis J, Steber C, et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis.* 2009; 199: 837-46.
5. Kosuke KI, Suhail HQ, Garcia-Gomez J, et al. Development of a real-time quantitative PCR assay for detection of a stable genomic region of BK virus. *Virology Journal* 2010; 7: 295-304.
6. Comoli P, Azzi A, Maccario R, Basso S, Botti G, Basile G, Fontana I, Labirio M, Cometa A, Poli F, Perfumo F, Locatelli F, Ginevri F. Polyomavirus BK-Specific Immunity after Kidney Transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 1229–32.
7. Schaanman JM, Korin Y, Sidwell T, Kandarian F, Harre N, Gjertson D, Lum EL, Reddy U, Huang E, Pham PT, Bunnapradist S, Danovitch GM, Veale JH, Gritsch HA, Reed EF. Increased Frequency of BK Virus-Specific Polyfunctional CD8+ T Cells Predict Successful Control of BK Viremia After Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2017; 101: 1479-87.

8. Dekeyser M, François H, Beaudreuil S, Durrbach A. Polyomavirus-specific cellular immunity: from BK-virus-specific cellular immunity to BK-virus-associated nephropathy?. *Front. Immunol.* 2015; 6: 307-15.
9. Pinto M, Dobson S. BK and JC virus: A review. *Journal of Infection* 2014; 68: S2eS8.
10. Mengel M. BK Virus Nephropaty Revisited. *American Journal of Trasplantation.* 2017; 17: 1972-3.
11. Yi GS, Knight RJ, Lusford KE. BK virus as a mediator of graft dysfunction following kidney transplatation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017; 22: 320-7.
12. Hirsh HH, Randdhawa P. BK Polyomavirus in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation.* 2013; 13: 179-88.
13. Sawinski D, Goral S. BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2015; 30: 209-17.
14. Funahashi Y, Kato M, Fujita K, Inoue S, Gotoh M. Correlation Between Urine and Serum BK Virus Levels After Renal Transplantation. *Transplantation Proceedings.* 2014; 46: 567-9.
15. Costa C, Bergallo M, Astegiano S, Terlizzi ME, Sidoti F, Segoloni GP, Cavallo R. Monitoring of BK virus replication in the first year following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 3333-6.