

Estudio retrospectivo sobre las características clínicas de las patologías respiratorias agudas asociadas al aislamiento de citomegalovirus (1995-2006)

J. Reina¹, P. Balliu², Joan Figuerola²

Introducción

El citomegalovirus (CMV) es un virus con un genoma DNA lineal que pertenece a la familia herpesviridae (subfamilia beta-herpesvirus) y cuyo único reservorio es el ser humano^{1,2}. La primoinfección por CMV se puede adquirir por vía placentaria (vertical), el 1% de los niños nacidos sanos son excretores asintomáticos de este virus^{1,2}, durante el parto, período perinatal o lactancia. Dependiendo de las condiciones sociosanitarias de un determinado país, se calcula que a los 5 años cerca del 50% de la población ha sido infectada por el CMV, alcanzando cerca del 90% a los 25-30 años¹⁻³. Después de la primoinfección, generalmente asintomática (85% de casos) el CMV permanecerá latente en las células endoteliales vasculares, produciéndose fenómenos de reactivación clínica en los estados de inmunosupresión natural o inducida^{2,3}.

Los diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que el CMV es en la actualidad el principal responsable de la mayoría de las infecciones congénitas. En términos generales se calcula que la frecuencia de estas infecciones oscila entre el 0.27-2.26 por cada 100 niños nacidos vivos^{1,2}, estableciéndose que en los países desarrollados el valor medio es del 1% de todos los nacidos vivos¹⁻³. A pesar de esta elevada tasa tan solo del 10-15% de los niños nacen con algún tipo de sintomatología clínica, estando el resto totalmente asintomáticos^{2,3}. Dentro de las infecciones pediátricas, el CMV es el principal causante de infecciones congénitas; las que se producen como consecuencia de la primoinfección materna durante el embarazo (15%) son las más graves, mientras que las secundarias al proceso de reactivación viral en la madre (85%) son las más frecuentes pero las que se presentan con una menor morbilidad y mortalidad^{1,2}.

Dentro de las patologías producidas por CMV, las infecciones respiratorias son una entidad muy poco frecuente y casi siempre se presentan en pacientes inmunodeprimidos o con patologías de base predisponentes, tanto generales como locales (broncodisplasias o broncopatías)⁴⁻⁶. El porcentaje de aislamiento de CMV en muestras respiratorias es en general inferior al 10%, aunque en la mayoría de ocasiones esta situación no presenta un significado patológico evidente en el paciente^{1,2,6}.

Debido a la dificultad para establecer la significación clínica del aislamiento del CMV en las diferentes muestras respiratorias, hemos analizado retrospectivamente las características clínicas, epidemiológicas y virológicas de 29 pacientes pediátricos (edad inferior a 15 años) con aislamiento de CMV en muestras procedentes del tracto respiratorio.

Pacientes y métodos

Se han estudiado retrospectivamente las características virológicas, clínicas y epidemiológicas de los pacientes pediátricos con aislamiento de CMV en alguna muestra procedente del tracto respiratorio diagnosticados entre enero de 1995 y junio de 2006. Las muestras respiratorias (aspirado nasofaríngeo, aspirado traqueal, broncoaspirados y lavado broncoalveolar) al llegar al laboratorio fueron descontaminadas con 2 ml de medio de descontaminación para virus a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras este proceso las muestras fueron sembradas, a razón de 200 µl/vial, en los viales de las líneas celulares Hep-2 (aislamiento del virus respiratorio sincitial y adenovirus), MDCK (virus Influenza A y influenza B), LLC-MK2 (virus parainfluenza 1, 2 y 3) y MRC-5 (aislamiento del CMV) (Viricell, Granada), utilizando la técnica de cultivo shell-vial^{7,8}. Los viales fueron incubados durante 3 días a 36°C y revelados mediante anticuerpos monoclonales específicos para cada uno de los diferentes virus mediante una técnica de inmunofluorescencia indirecta (Monofluokit, Pasteur Diagnostics).

1-Unidad de Virología
2-Servicio de Microbiología y Servicio de Pediatría
Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca

Las orinas, tras un proceso de descontaminación y centrifugación, fueron sembradas tan solo para la búsqueda de CMV, en 2 shell-vials de la línea celular MRC-5 y revelados a las 24 y 48 horas mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta antes mencionada y descrita previamente⁹. La sangre (con presencia de EDTA) para el estudio de la antigenemia pp65 frente al CMV y de la viremia (aislamiento en cultivo shell-vial MRC-5) frente a este virus fue procesada con la metodología ya descrita¹⁰.

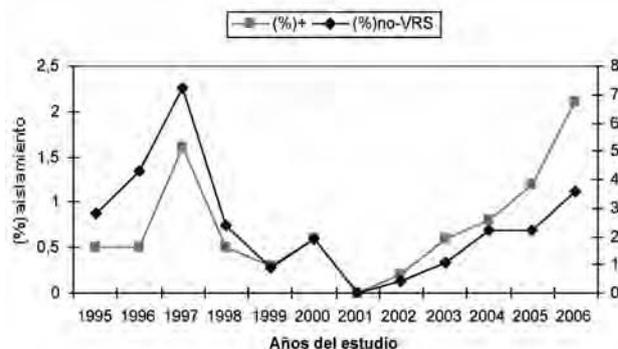
El estudio de la presencia de anticuerpos frente a los virus respiratorios se realizó por la técnica de fijación del complemento. El diagnóstico de infección por el VIH se realizó por presencia de unas IgGs específicas (ELISA) y posterior confirmación por la técnica de western-blot. La detección de la IgM específica frente al CMV se realizó mediante un enzimoimmunoensayo comercial (Behring Institut, Alemania), con absorción previa del factor reumatoide. La detección de las IgGs se realizó mediante un enzimoimmunoensayo comercial (Behring, Germany). En ambos casos se siguieron las recomendaciones del fabricante tanto en la preparación de las muestras como del protocolo de actuación técnica⁹.

El análisis de las características y datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes se realizó mediante la revisión retrospectiva de las historias clínicas de los mismos. El análisis estadístico se ha realizado utilizando la determinación de la t de Student para los datos pareados. Todos los valores de p son con dos colas y se ha considerado como significativo un valor de $p < 0.05$.

Resultados

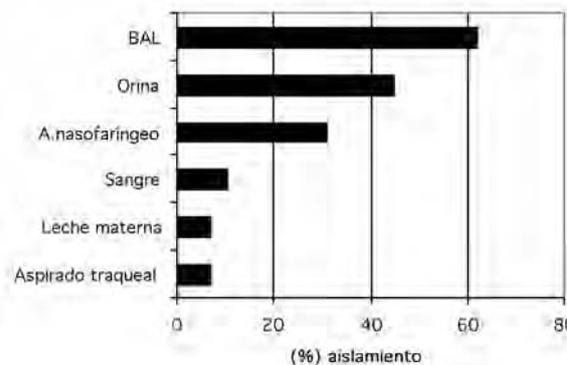
Durante el período de estudio se han analizado 13.298 muestras respiratorias; se consideraron como positivas 4.084 (30.7%). En el año 2001 no se aisló ningún CMV de una muestra respiratoria pediátrica. Si se elimina el VRS, que es el predominante (62.3%) y se presenta en brotes epidémicos invernales, se aislaron un total de 1.426 virus distintos. El CMV fue aislado en 32 muestras respiratorias pediátricas, correspondientes a 29 pacientes diferentes, representando globalmente el 0.8% de todos los cultivos positivos y 2.1% de los cultivos positivos distintos al VRS. Los porcentajes de aislamiento del CMV han variado a lo largo del estudio situándose entre el 0.2% y el 2.1% de todos los cultivos respi-

ratorios positivos y entre el 0.4% y el 3.6% de los virus no VRS (Gráfica 1).



Gráfica 1. Evolución de los aislamientos de CMV en muestras respiratorias a lo largo del período de estudio

El CMV fue aislado en 18 lavados broncoalveolares (62.1%), 9 aspirados nasofaríngeos (31.1%) y 2 aspirados traqueales (6.8%) (Gráfica 2). En 2 pacientes (6.8%) se aisló junto al CMV otro virus respiratorio (un VRS y un adenovirus). El cultivo de CMV en orina se realizó en diferentes momentos en 17 pacientes (58.7%), siendo positivo en 13 pacientes (76.4%); sólo en 4 pacientes la orina recogida durante la primera semana de vida (infección congénita) fue positiva (13.7%). Se estudió la presencia del CMV en la leche materna de 8 pacientes (27.5%), siendo tan solo positiva a este virus en 2 ocasiones (25%). En 7 pacientes (24.1%) se realizó la prueba de la antigenemia pp65 y el estudio de viremia por CMV, siendo ambas positivas en 3 pacientes (42.8%).



Gráfica 2. Porcentajes de aislamiento del CMV en las diferentes muestras respiratorias y no respiratorias

La serología frente a los virus respiratorios fue realizada en 14 pacientes (48.3%) siendo en todos ellos negativa o con presencia de anticuerpos no significativos. La serología frente al VIH se realizó en 10 pacientes (34%) y fue positiva tan solo en 3 pacientes (30%) (pacientes con madres HIV-positivas). Se realizó estudio serológico frente al CMV en 21 pacientes (72.4%), detectándose IgGs específicas en 18 (85.7%), IgM específica en 4 (19%) y IgG + IgM en 4 pacientes (19%).

Desde el punto de vista epidemiológico 20 pacientes eran niños (68.9%) y 9 niñas (31.1%) (p<0.05). La edad media de los pacientes fue de 12.4 meses (intervalo 1-48 meses). Los principales motivos de ingreso hospitalario fueron neumonía o bronconeumonía 15 (51.7%), distress respiratorio 7 (24.1%) y bronquiolitis/bronquitis 7 (24.1%) (p<0.05).

La edad media del grupo con neumonía fue de 15.6 meses, frente a los 8.4 meses y 9.7 meses de los otros dos grupos patológicos (p<0.05).

La distribución por género en cada uno de los grupos patológicos fue de 1 niña (14.2%) en el primer grupo, 5 (33.3%) en el segundo y 3 (42.8%) en el tercero (Tablas 1-3).

Las radiografías de tórax realizadas al ingreso mostraron 15 neumonías/bronconeumonías, 9 afectaban al lóbulo inferior izquierdo (60%) y 6 al lóbulo medio derecho (40%) (p<0.05). Como antecedentes destacables se han observado 9 pacientes con patología respiratoria recidivante (31.1%) (neumonía, bronquiolitis y crisis asmática), 3 hijos de madre infectada por el VIH (10.3%), 4 pacientes

politrasfundidos (13.7%) y 4 pacientes con infección congénita por CMV (13.7%).

Todos los niños precisaron de ingreso hospitalario con un tiempo medio de 23.5 días (intervalo 8-65 días). Tras un período de seguimiento mínimo de seis meses, fallecieron por una patología relacionada con el CMV, tan solo 2 pacientes (6.8%) (casos 1 y 16). Los tratamientos recibidos por los pacientes han sido varios destacando el empleo de diversos antibióticos (con predominio de amoxicilina/clavulánico) en 23 de ellos (79%), salbutamol y/o corticoides en 6 (20.6%) y ganciclovir en 9 pacientes (31%); aparte de tratamiento sintomático con fluidoterapia, humidificación y oxigenoterapia. Por grupos, 2 (28.5%) de los pacientes con distress recibieron ganciclovir, 5 (33.3%) de los pacientes con neumonía y 2 (28.5%) de los pacientes con bronquiolitis.

Discusión

Las infecciones respiratorias por CMV (aislamiento en muestras respiratorias) son una entidad poco frecuente, al menos en pacientes inmunocompetentes^{4-6,11}. A pesar de ello el porcentaje de aislamientos comunicado en algunos estudios no es despreciable (0-16%)(11-13), aunque el principal problema es que no siempre se asocia a significación clínica. Así Escorihuela et al¹⁴ en 1996 comunicaron un porcentaje de aislamiento de CMV en este tipo de muestras del 7%, porcentaje superior al global obtenido en nuestro estudio (2.1%), aunque en 1997 nuestro valor alcanzó el 7.2%, período en el que este autor realizó su estudio.

Nº	SEXO	EDAD	MOTIVO INGRESO	RX TÓRAX	ANTECEDENTES	TRATAMIENTO
1	v	2m	Distress respiratorio Prematuridad	Infiltrados múltiples	Enterocolitis necrotizante	Cirugía* Transfusiones
2	v	6m	Distress respiratorio	Infiltrado bilateral	Asma	Antibióticos
3	v	13m	Distress respiratorio	Infiltrado bilateral	Bronquiolitis al mes Bronconeumonía 10m	Antibióticos+salbutamol +estilsona
4	v	9m	Distress respiratorio Sepsis y meningitis	Infiltrado bilateral	Varicela 8d antes Linfopenia linfocitos T	Antibióticos+aciclovir + ganciclovir
5	v	19m	Distress respiratorio	Neumonía lóbulo medio derecho	Bronquiolitis a los 2m Crisis asmática 5-7m Neumonía 14m	Antibióticos
6	v	8m	Distress respiratorio	Bronquiolitis	Asma	Antibióticos
7	v	2m	Distress respiratorio	Inespecífica	Inf. congénita CMV	Ganciclovir
*paciente fallecido						

Tabla 1. Principales características de los pacientes con distress respiratorio y aislamiento de CMV

Nº	SEXO	EDAD	MOTIVO INGRESO	RX TÓRAX	ANTECEDENTES	TRATAMIENTO
23	h	4m	Bronquiolitis	Infiltrados múltiples	Ninguno	Antibióticos
24	v	5m	Bronquiolitis	Infiltrados	Ninguno	Antibióticos +salbutamol
25	h	5m	Bronquiolitis	Bronconeumonía	Inf. congénita CMV	Ganciclovir
26	v	2m	Bronquiolitis	Infiltrados	Politransfundido	Ganciclovir
27	v	8m	Bronquitis	Condensación	Bronquiolitis 2m	Antibióticos
28	v	9m	Bronquitis	P. intersticial	Ninguno	Antibióticos
29	h	36m	Bronquitis	Infiltrados	Bronquiolitis 3m	Antibióticos

Tabla 3. Principales características de los pacientes con bronquiolitis/bronquitis y aislamiento de CMV

El primer grupo de pacientes con aislamiento de CMV en muestras respiratorias se presentaron con un cuadro clínico de distress respiratorio y afectación pulmonar grave. Corresponde al grupo con una edad media menor y con antecedentes de patologías respiratorias previas desde el nacimiento, por lo tanto deben considerarse como pacientes con predisposición pulmonar¹³⁻¹⁵.

En este grupo hay un caso que es un claro ejemplo de una primoinfección por CMV asociada a un factor exógeno, las transfusiones sanguíneas serológicamente no controladas, factor que también se ha observado en casos de los dos otros grupos patológicos (13.8% pacientes recibieron transfusiones sanguíneas múltiples). De los clásicos estudios realizados por Kaariainen et al¹⁵ y Yeager et al¹⁶ se puede extraer que el riesgo de adquisición de una primoinfección postrafusional en un niño menor de 3 meses es del 15-17% (3% por unidad transfundida), que puede variar sin embargo en función del seroestatus de la madre¹⁵⁻¹⁷. En este primer caso un prematuro de bajo peso desarrolló una enterocolitis necrotizante que precisó de intervención quirúrgica de varias transfusiones no controladas serológicamente frente al CMV. El paciente desarrolló una infección diseminada mortal por CMV pudiendo ser aislado el virus tanto en el aspirado traqueal inicial como en las muestras necróticas procedentes del pulmón e hígado. Por lo tanto en este paciente la presencia del CMV en la muestra respiratoria traducía una infección diseminada con grave afectación pulmonar. Este caso apoya la necesidad de realizar un estudio serológico previo de la sangre a transfundir, especialmente a los prematuros y probablemente en todos los menores de 1 año^{1-3,16,17}. Del resto de pacientes de este grupo destaca un paciente con un distress respiratorio causado por CMV a los 8 días de haber desarrollado

una infección clínica por el virus varicela. En este paciente la linfopenia transitoria determinó el desarrollo de una viremia por CMV y la afectación del parénquima pulmonar. La no detección del virus varicela en las muestras respiratorias apoyaría el papel del CMV en el cuadro de distress respiratorio, además de presentar la prueba de la antigenemia y viremia positiva frente a este virus. En este grupo también destaca un paciente con infección congénita por CMV, aunque este tipo de infección aparece en los tres grupos patológicos. En este paciente tras dos meses de buen estado general, ingreso con una patología respiratoria compatible con infección diseminada por CMV. Existen estudios que demuestran la presencia y desarrollo de viremias generalizadas e intermitentes por CMV en pacientes con infección congénita¹⁻³, de ahí que algunos autores preconicen el inicio de terapia profiláctica con ganciclovir para evitar estos procesos^{2,3}. La mortalidad atribuida al CMV en este grupo patológico ha sido del 14.2%, la mayor observada en el conjunto de pacientes analizados (mortalidad media 6,8%).

La infección oportunista por CMV en los pacientes inmunodeprimidos es una entidad bien establecida^{1-3,18}, especialmente en los niños con infección por el VIH^{3,18}. En el grupo patológico caracterizado por la presentación clínica de un cuadro de neumonía o bronconeumonía se encuentran los 3 casos de niños de madres positivas frente al VIH. Los casos 8, 9 y 15 correspondían a niños con infección activa por el VIH y clínica de SIDA que presentaron unos cuadros de bronconeumonía en los que se aisló el CMV (BAL y orina). Al igual que ocurre en el paciente adulto con SIDA, la valoración del significado clínico del aislamiento de CMV en muestras respiratorias es bastante problemático en estos pacientes, sobretodo si se asocia a otros patógenos oportunistas como P.carinii^{28,29}; a pesar de ellos todos fueron tratados con ganciclovir.

En los casos número 8 y 15 no se detectó en las muestras respiratorias ningún otro patógeno, por lo tanto podría sospecharse la participación etiológica del CMV en el proceso neumónico. El CMV se aisló así mismo de la orina y se detectó una IgM positiva; todo ello apoyaría la posibilidad de que el paciente presentara su patología respiratoria en el contexto de una primoinfección diseminada mortal en un paciente inmunodeprimido, tal y como se ha comunicado en la literatura¹⁸⁻²⁰.

En el grupo de pacientes con bronquiolitis o bronquitis la participación etiológica del CMV en el cuadro respiratorio es muy difícil de establecer. La mayoría de ellos presentaron una edad inferior a los 12 meses y sólo en uno de ellos la presencia del virus en el tracto respiratorio puede asociarse a su cuadro previo de infección congénita por CMV^{5,6}. En el resto de pacientes es muy difícil asignar al CMV un verdadero papel patogénico en las bronquiolitis, a pesar del aislamiento del mismo virus en la orina de dos de ellos (No.25 y 26). En todos ellos el aislamiento de CMV en la muestra respiratoria fue algo no esperado y en tres de ellos se realizó un broncoaspirado para confirmar el aislamiento. Todos los pacientes evolucionaron bien aunque en dos casos se realizó tratamiento antiviral con ganciclovir.

En resumen, el aislamiento de CMV en muestras respiratorias es un proceso poco frecuente que debería confirmarse con técnicas exploratorias invasivas (broncoaspirado/lavado broncoalveolar). A pesar de conseguirse la confirmación, el establecimiento del significado clínico del mismo es muy dificultoso y debe basarse en la existencia de factores favorecedores de la primoinfección (trasfusiones, inmunosupresión), aislamiento en otras muestras y con que anterioridad, ausencia de otros patógenos respiratorios conocidos y en un completo estudio serológico. La ausencia de factores predisponentes claros en pacientes sanos disminuye claramente el significado clínico de estos aislamientos y aconseja una actitud conservadora en el paciente. El tratamiento con aciclovir debería aplicarse sólo en aquellos casos con una patología pulmonar predominante y en las infecciones congénitas sintomáticas.

Bibliografía

1. Demmler GJ. Acquired cytomegalovirus infections. En: Feigin RD, Cherry JD, editores. Textbook of pediatric infectious diseases. 3ª edición. Philadelphia. WB Saunders, 1992, p.1532-1543.
2. Ho M. Cytomegalovirus. Biology and infection.

Plenum Medical Press (2nd). New York. 1991.

3. Britt WJ, Alford CA. Cytomegalovirus. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (ed.). Fields Virology (3rd). Lippincot-Raven Press, Philadelphia. 1996, p.2493-2524.

4. Weiner RS, Bortin MM, Gale RP. Interstitial pneumonitis after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1986; 104:168-175.

5. Kim YJ, Gururaj VJ, Mirkovic RR. Concomitant diffuse nodular pulmonary infiltration in an infant with cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1982; 1:173-176.

6. Stagno S, Brasfield DM, Brown MB. Infant pneumonia associated with cytomegalovirus, chlamydia, pneumocystis and ureaplasma. A prospective study. *Pediatrics* 1981; 68:322-329.

7. Reina J, Munar M, Blanco I. Evaluation of a direct immunofluorescence assay, dot-blot enzyme immunoassay, and shell vial culture in the diagnosis of lower respiratory tract infections caused by Influenza A virus. *Diagn.Microbiol.Infect.Dis.* 1996; 25:143-145.

8. Reina J, Saurina J, Fernandez-Baca V, Munar M. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay and two cell lines in the detection of Influenza B virus in nasopharyngeal samples. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 1998; 17:532-534.

9. Reina J, Balliu P, Salvá F, Lopez-Corominas V, Fernandez-Baca V, Alberto C, Saurina J. Utilidad de diferentes técnicas analíticas en el diagnóstico de infección congénita por citomegalovirus. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1997; 15:502-503.

10. Reina J, Riera M, Bestard X, Villalonga C, Gascó J. Análisis virológico de 1.000 muestras de sangre procesadas para aislamiento (viremia) y antigenemia pp65 frente a Citomegalovirus en pacientes inmunodeprimidos. *Med.Clin.(Barc)* 1998; 110:281-284.

11. Brasfield DM, Stagno S, Whitley RJ, Cloud G, Cassell G, Tiller RE. Infant pneumonia associated with cytomegalovirus, chlamydia, pneumocystis and ureaplasma: follow-up. *Pediatrics* 1987; 79:76-83.

12. Forgie IM, O'Neill KP, Lloyd-Evans N. Etiology of acute lower respiratory tract infections in gambian children. I. Acute lower respiratory tract infections in infants presenting at the hospital. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10:33-41.

13. Forgie IM, O'Neill KP, Lloyd-Evans N. Etiology of acute lower respiratory tract infections in gambian children. II. Acute lower respiratory tract infections in children ages one to nine years presenting at the hospital. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10:42-47.

14. Escorihuela R, Millan A, Leal A, Gadea I, Gomez P, Soriano F. Etiología de las infecciones respiratorias agudas en 87 niños hospitalizados. *Rev Clin Esp* 1996; 196:82-86.

15. Kaariainen L, Klemola E, Paloheimo J. Rise of cytomegalovirus antibodies in an infectious-mononucleosis-like syndrome after transfusion. *Br Med J* 1966; 1:1270-1272.

16. Yeager AS. Transfusion-acquired cytomegalovirus infection in newborn infants. *Am J Dis Child* 1974; 128:478-483.

17. Yeager AS, Grumet FC, Hafleigh EB. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infections in new-

born infants. *J Pediatr* 1981; 98:281-287.

18. Delgado Rubio A. Infección VIH en pediatría. Monografía Bristol-Myers. Madrid, 1995.

19. Lopez M, Paz I, Pedraza MA, Lumbreras C, Otero JR. Citomegalovirus en lavados broncoalveolares de pacientes inmunocomprometidos: resultados microbiológicos y significación clínica. *Enfer Infecc Microbiol Clin* 1992; 10:409-412.

20. Tomahefski JF, Butler T, Islam M. Histopathology and etiology of childhood pneumonia: an autopsy of 93 patients in Bangladesh. *Pathology* 1989; 21:71-78.

