



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

## **Tesis Doctoral**

**Título: Avances en las enfermedades infecciosas del trasplante de  
órgano sólido**

Autor: Ibai Los Arcos Bertiz

Directores de tesis: Joan Gavaldà i Santapau / Oscar Len Abad

Tutor de tesis: Carles Pigrau i Serrallach

Programa de Doctorado en Medicina. Departamento de Medicina. Facultad de  
Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. 2019



## **Tesis Doctoral**

**Título: Avances en las enfermedades infecciosas del trasplante de  
órgano sólido**

Autor: Ibai Los Arcos Bertiz

Directores de tesis: Joan Gavaldà i Santapau / Oscar Len Abad

Tutor de tesis: Carles Pigrau i Serrallach

Programa de Doctorado en Medicina. Departamento de Medicina. Facultad de  
Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. 2019



Ama, aita  
eta Laurarentzat



## **Agradecimientos:**

En primer lugar, me gustaría agradecer a Oscar Len la confianza que ha depositado en mí y por ser la persona que me animó a iniciar esta tesis doctoral. Gracias por tu ayuda, por tu paciencia infinita y por enseñarme tu forma de trabajar.

Asimismo, agradezco a Joan Gavaldà el transmitirme el interés en la investigación científica y en las infecciones de los receptores de trasplante de órgano sólido. Por ser capaz de aportar una visión diferente e innovadora. Por su apoyo en todo este proceso y su dedicación para poder culminar esta tesis doctoral.

También quiero agradecer a Carles Pigrau que me haya contagiado su pasión por la medicina y las enfermedades infecciosas, su papel de tutor estos años, su increíble e incansable capacidad docente y su dedicación a los pacientes.

Una tesis doctoral requiere el trabajo de muchos investigadores, pero entre ellos quería remarcar a Maddalena Peghin por mostrarme el camino que debía seguir, por sus consejos y su generosidad.

Quería destacar el trabajo y colaboración de las compañeras de microbiología Juliana Esperalba y Gemma Codina, así como el apoyo y ayuda de Maite Martín que han sido imprescindibles para poder realizar este trabajo.

A Santiago Pérez y Miriam Mota de la Unidad de Estadística y Bioinformática del VHIR por el soporte en la metodología estadística de la presente tesis doctoral.

A Conchita Martínez por su organización y trabajo desinteresado que permitió la realización del primer estudio.

A Lidia García por su dedicación constante e indispensable que permitió realizar el segundo estudio de esta tesis doctoral.

A Laura Casado y María de Valles por su inestimable ayuda en la redacción de esta tesis doctoral.

A los equipos multidisciplinares de trasplante de órgano sólido del Hospital Universitario Vall d'Hebron, sin los cuáles esta tesis doctoral no se hubiera podido llevar a cabo. Es imposible nombrar a todas las personas que tanto me han ayudado, pero me gustaría resaltar a Manel Perelló por su toda su colaboración.

A mis amigos, entre los que quería destacar a Javi, Iñigo, Adi, los compañeros de mi año de residencia y la cuadrilla, por compartir juntos estos años y por la ayuda tan importante en los malos momentos.

A toda mi familia, especialmente a mis abuelos, Arkaitz y mis padres, por sentirme tan afortunado de la educación que he recibido y que sin duda ha sido necesaria para poder llegar hasta aquí. Por todo su cariño y soporte incondicional durante tanto tiempo.

Pero, sobre todo, gracias a Laura, por estar siempre a mi lado. Has sido mi guía todos estos años, y quería agradecer tu paciencia, comprensión y colaboración tan necesaria en esta tesis doctoral. Nada sería igual sin ti, gracias por querer compartir la vida conmigo.

**Abreviaturas:**

ATG: globulina antitimocítica

BAL: lavado broncoalveolar

CMI: concentración mínima inhibitoria

CMV: citomegalovirus

DCI: disfunción crónica del injerto

D+/R-: Donante seropositivo receptor seronegativo

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

HR: "hazard ratio"

IC: intervalo de confianza

ml: mililitro

OR: "odds ratio"

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

TOS: trasplante de órgano sólido

VRS: virus respiratorio sincitial

UFC: unidades formadoras de colonias



## Índice:

1. <b>Resumen</b>	12
2. <b>Introducción</b>	16
1.1 Aspectos generales	16
1.2 Infecciones virales	19
1.2.1 Citomegalovirus	19
1.2.2 Virus BK	22
1.2.3 Virus respiratorios	24
1.3 Infecciones por bacterias difíciles de tratar	25
1.3.1 Infecciones producidas por <i>Corynebacterium</i> spp	27
3. <b>Hipótesis</b>	30
4. <b>Objetivos</b>	32
5. <b>Artículos que forman parte de la presente tesis doctoral</b>	34
5.1 ¿Es el rechazo mediado por anticuerpos en los receptores renales un factor de riesgo para desarrollar infecciones por citomegalovirus o por virus BK? Resultados de un estudio caso-control	36
5.2 Las infecciones por virus respiratorios son un factor de riesgo de disfunción crónica del injerto	42
5.3 Características clínicas y evolución de los receptores de trasplante de pulmón con aislamiento respiratorio de <i>Corynebacterium</i> spp.	68
6. <b>Resumen global de los resultados</b>	76
7. <b>Resumen global de la discusión</b>	82
8. <b>Conclusiones</b>	94
9. <b>Líneas de futuro</b>	96
10. <b>Bibliografía</b>	102



## **Resumen:**

El objetivo de esta tesis doctoral es evaluar los efectos directos que causan las infecciones bacterianas difíciles de tratar y la modulación de la respuesta inmune causada por las infecciones virales en los receptores de trasplante de órgano sólido. Para alcanzar dicho objetivo se han realizado tres estudios, el primero de los cuales partía de la hipótesis de que el rechazo mediado por anticuerpos o su tratamiento favorece la replicación posterior de citomegalovirus (CMV) y del virus BK en los receptores de trasplante renal. En este sentido, se llevó a cabo un estudio retrospectivo caso-control en el Hospital Universitario Vall d'Hebron. Los trasplantados renales adultos diagnosticados de rechazo mediado por anticuerpos durante los años 2007-2015 fueron seleccionados como casos (58). Los receptores del trasplante previo y posterior, fueron seleccionados como controles (118 controles). La replicación por CMV fue significativamente más frecuente en los casos (9/58, 15,5%) que en los controles (7/116, 6%) (OR 4,21; intervalo de confianza (IC) 95% 1,10-16,16). En el estudio multivariado de regresión logística condicional, tras ajustar por las variables estadísticamente significativas, se objetivó una OR mayor de replicación de CMV en los casos que en los controles (2,41), pero sin una diferencia estadísticamente significativa (IC 95% 0,49-11,73,  $p=0,28$ ). Por tanto, la conclusión es que el rechazo mediado por anticuerpos en los receptores de trasplante renal parece aumentar el riesgo posterior de replicación de CMV, pero no del virus BK.

La hipótesis del segundo estudio era que las infecciones causadas por virus respiratorios en los receptores de trasplante de pulmón se asocian a disfunción crónica del injerto (DCI). Para analizar esta cuestión, se realizó un seguimiento prolongado de una cohorte prospectiva de 98 trasplantados de pulmón. En esta cohorte de pacientes, se realizó de forma sistemática detección de virus respiratorios a través de frotis nasofaríngeos. Treinta y ocho (38,8%) pacientes fueron diagnosticados de DCI tras 20,4 meses de mediana (rango intercuartílico 12-30,4).

En un análisis multivariado de Cox tiempo-dependiente, la infección de tracto respiratorio inferior por virus respiratorios (HR 3,00, IC 1,52-5,91; p=0,002), la neumonitis por CMV (HR 3,76, IC 1,23-11,49; p=0,02) y el rechazo agudo (HR 2,97, IC 1,51-5,83; p=0,002) fueron los factores de riesgo independientes asociados al desarrollo de DCI. Por lo que se objetivó que la infección de vías respiratorias bajas por virus respiratorios es un factor de riesgo independiente de DCI.

Finalmente, el tercer estudio consistió en describir las características clínicas y la evolución de los receptores de trasplante de pulmón que presentaban un aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. A tal efecto, se realizó un análisis retrospectivo de los receptores de trasplante pulmonar que presentaron aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. entre 2014-2016. De 527 pacientes, 24 (4,6%) presentaron aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. Las especies más frecuentes fueron *C. striatum* 11/24, *C. pseudodiphtheriticum* 3/24 y *C. amycolatum* 3/24. En todos los pacientes que se realizó una broncoscopia (19/24) se objetivaron alteraciones: placas mucosas en la sutura bronquial (10/19) y secreciones purulentas (9/19). Se consiguió la curación clínica de 8/12 (67%) pacientes diagnosticados de traqueobronquitis. Los pacientes portadores de una prótesis bronquial presentaron con mayor frecuencia aislamiento de *Corynebacterium* spp. (6/21, 29%) que el resto de pacientes (18/506, 4%, p<0,001). Además, la persistencia de la infección se asoció a la presencia de estas prótesis de forma significativa (4/4 respecto a 2/14, p=0,005). De ello se desprende que el aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. en los receptores de trasplante de pulmón se asocia a infección respiratoria y a afectación de la sutura bronquial. La implantación de prótesis bronquiales en estos pacientes es un factor de riesgo para la presencia y persistencia de *Corynebacterium* spp.

**Abstract:**

The objective of this doctoral thesis is to evaluate the direct effects caused by difficult-to-treat bacterial infections and the modulation of the immune response caused by viral infections in solid organ transplant recipients. Three studies have been carried out for this purpose. The first study was based on the hypothesis that antibody-mediated rejection or its treatment predisposes the subsequent cytomegalovirus (CMV) and BK virus replication in kidney transplant recipients. A retrospective case-control study was conducted in Vall d'Hebron University Hospital. Adult renal transplant recipients diagnosed with antibody-mediated rejection during the years 2007-2015 were selected as cases (58). Previous and subsequent transplant recipients were selected as controls (118 controls). CMV replication was significantly more frequent in cases (9/58, 15.5%) than in controls (7/116, 6%) (OR 4.21; 95% confidence interval (CI) 1.10-16.16). In the conditional logistic regression multivariate analysis, after adjusting for statistically significant variables, a higher OR of CMV replication was observed in cases than in controls (2.41), but without a statistically significant difference (95% CI 0.49-11.73,  $p=0.28$ ). Therefore, the conclusion is that antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients may increase the subsequent risk of CMV but not for BK virus replication.

The second study was based on the hypothesis that infections caused by respiratory viruses in lung transplant recipients are associated with chronic lung allograft dysfunction (CLAD). To study this hypothesis, we performed a prospective cohort study of 98 lung transplant recipients with a prolonged follow-up period. In this cohort of patients, respiratory viruses were systematically detected through nasopharyngeal smears. Thirty-eight (38.8%) patients were diagnosed with CLAD after a median time of 20.4 months (interquartile range 12-30.4). In a time-controlled multivariate Cox analysis, lower respiratory tract infection by respiratory viruses (HR 3.00, CI 1.52-5.91;  $p=0.002$ ), CMV pneumonitis (HR 3.76, CI 1.23-11.49;  $p=0.02$ ) and acute

rejection (HR 2.97, CI 1.51-5.83; p=0.002) were independent risk factors associated with developing CLAD. In conclusion, lower respiratory tract infections by respiratory viruses are an independent risk factor associated with developing CLAD.

Finally, the objective of the third study was to describe the clinical characteristics and outcomes of lung transplant recipients with respiratory isolation of *Corynebacterium* spp. We performed a retrospective analysis of lung transplant recipients who presented respiratory isolation of *Corynebacterium* spp. between 2014-2016. Of 527 patients, 24 (4.6%) presented respiratory isolation of *Corynebacterium* spp. The most frequent species were *C. striatum* 11/24, *C. pseudodiphtheriticum* 3/24 and *C. amycolatum* 3/24. In all patients who underwent bronchoscopy (19/24), abnormalities were observed: mucosal plaques at the bronchial suture (10/19) and purulent secretions (9/19). Clinical cure was achieved in 8/12 (67%) patients diagnosed with tracheobronchitis. Patients with a bronchial stent presented more frequently isolation of *Corynebacterium* spp. (6/21, 29%) than the rest of patients (18/506, 4%, p <0.001). In addition, the persistence of infection was significantly associated with the presence of bronchial stents (4/4 with respect to 2/14, p = 0.005). In conclusion, the isolation of *Corynebacterium* spp. in respiratory specimens of lung transplant recipients is associated with respiratory infection and bronchial suture damage. Bronchial stent implantation is a risk factor for the presence and persistence of *Corynebacterium* spp.

## 1. Introducción

### 1.1 Aspectos generales:

El trasplante de órgano sólido (TOS) es el tratamiento de elección de los pacientes con enfermedades renales, hepáticas, pulmonares y cardíacas en estadio terminal (1). Las complicaciones quirúrgicas junto con el tratamiento inmunosupresor, imprescindible para evitar la alorreactividad en estos pacientes, favorecen la aparición de infecciones que son una causa importante de morbi-mortalidad en los pacientes receptores de TOS (1). El equilibrio entre el desarrollo de alorreactividad y el riesgo de infección en estos pacientes vendrá determinado por el nivel de inmunosupresión. Así, ante una mayor inmunosupresión, disminuye el riesgo de presentar rechazo del injerto, pero aumenta el riesgo de desarrollar infecciones (2).

El riesgo de infección de los receptores de TOS depende principalmente de dos factores: la exposición epidemiológica y el estado neto de inmunosupresión (3). La exposición epidemiológica depende de la exposición del donante y del receptor. Las exposiciones epidemiológicas más relevantes para valorar el riesgo de infección de estos pacientes se describen en la tabla 1.

**Tabla 1. Exposiciones epidemiológicas relevantes en el TOS:\***

- 
- Virus:
    - *Herpesviridae* (CMV, VEB, VHS 1 y 2, VVZ, VHH6, 7 y 8)
    - Virus hepatitis (VHA, VHB, VHC, VHE)
    - Retrovirus (VIH, HTLV1 y HTLV2)
    - Otros: Virus West Nile, Chikungunya, Zika, Dengue...
  - Bacteria:
    - Bacterias Gram positivas y Gram negativas (*Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*....) *Legionella* spp.

- *Mycobacterium* spp. (*M. tuberculosis*, *M. abscessus*, *M. avium*...)
- *Nocardia* spp.
- Hongos:
  - *Candida* spp.
  - *Aspergillus* spp.
  - *Cryptococcus* spp.
  - Hongos endémicos (*Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*...)
  - Hongos oportunistas (*Scedosporium* spp., mucormicosis...)
- Parásitos:
  - *Toxoplasma gondii*
  - *Strongyloides stercoralis*
  - *Trypanosoma cruzi*
  - *Leishmania* spp.
  - *Plasmodium* spp.
- Exposición nosocomial
  - *Staphylococcus aureus* resistente a cloxacilina
  - Bacilos Gram-negativos multirresistentes
  - *Clostridioides difficile*
  - *Aspergillus* spp.
- Exposición comunitaria:
  - Infecciones transmitidas por agua y alimentos (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., VHA...)
  - Virus respiratorios (Influenza, VRS, parainfluenza, adenovirus...)
  - Poliomavirus, papilomavirus
  - Virus comunes de exposición en la infancia (Coxsackie, Parvovirus humano B19)
  - Patógenos respiratorios atípicos (*Legionella* spp., *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp.)

- Otros hongos: hongos endémicos, *Cryptococcus* spp. y *Pneumocystis jirovecii*
- 

CMV: citomegalovirus, HTLV: virus linfotrófico de células T humanas, VEB: virus Epstein-Barr, VIH: virus de la inmunodeficiencia humana, VHA: virus hepatitis A, VHB: virus hepatitis B, VHC: virus hepatitis C, VHE: virus hepatitis E, VHH: virus herpes humano, VHS: virus herpes simple, VRS: virus respiratorio sincitial, TOS: trasplante de órgano sólido.

\*Tabla adaptada de la referencia (2) Fishman JA.

Conocer la exposición epidemiológica previa del donante y del receptor permite realizar una estrategia de cribado individualizada en estos pacientes. De esta forma, se pueden detectar infecciones activas o latentes para poder ser erradicadas o controladas, y evitar que puedan aparecer tras el inicio del tratamiento inmunosupresor. Este es un concepto clave en el manejo de las enfermedades infecciosas de los receptores de TOS: la prevención de la enfermedad diseminada, a través de controlar la exposición o del tratamiento de la infección latente, es siempre más fácil que el tratamiento de la enfermedad establecida (3).

El otro factor principal que favorece el riesgo de infección en los receptores de TOS es el estado neto de inmunosupresión. Se trata de un concepto que engloba todos los factores que pueden contribuir a aumentar el riesgo de infección en estos pacientes (3). Estos factores se describen en la tabla 2 e incluyen, entre otros, las propias infecciones virales.

**Tabla 2: Factores que contribuyen al estado neto de inmunosupresión:\***

---

- Tratamiento inmunosupresor: tipo, secuencia temporal e intensidad
- Tratamientos previos (inmunosupresores, antimicrobianos...)

- Pérdida de la barrera muco-cutánea (catéteres venosos, drenajes, sonda vesical...)
- Neutropenia, linfopenia e hipogammaglobulinemia
- Complicaciones técnicas (daño del injerto, colecciones, heridas...)
- Defectos inmunes subyacentes (polimorfismos genéticos, enfermedades autoinmunes...)
- Alteraciones metabólicas: uremia, malnutrición, diabetes mellitus, alcoholismo/cirrosis, edad avanzada...
- Infecciones virales (*Herperviridae*, VRS, influenza, VHB y VHC, VIH...)

---

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana, VHB: virus hepatitis B, VHC: virus hepatitis C, VRS: virus respiratorio sincitial.

\*Tabla adaptada de la referencia (2) Fishman JA.

## 1.2. Infecciones virales

Las infecciones virales producen diferentes efectos en los receptores de TOS. Estos efectos incluyen el daño directo por invasión tisular. Además, provocan una modulación de la respuesta inmune que causa efectos antagónicos. Por una parte, aumentan la inmunosupresión, lo que favorece otras infecciones oportunistas, pero al mismo tiempo incrementan la aloreactividad que, a su vez, facilita el desarrollo de rechazo del injerto (3).

### 1.2.1. Citomegalovirus

Citomegalovirus (CMV) es un virus perteneciente a la familia *Herpesviridae*, especie herpesvirus humano 5. En las personas inmunocompetentes causa infección asintomática o un síndrome mononucleósico (4). Alrededor del 40% de los adolescentes son seropositivos, y la prevalencia aumenta hasta el 90% en las personas de 80 años (5). CMV persiste como una infección latente tras la infección primaria, de la misma forma que el resto de virus de la familia *Herpesviridae*. En el

caso de CMV, se mantiene en una fase latente no replicativa en las células hematopoyéticas (6). Los receptores de TOS pueden presentar infección primaria, reactivación o superinfección por otra cepa del virus. A pesar de los avances en su manejo produce una importante morbimortalidad en estos pacientes (4,7). Los síndromes clínicos en los receptores de TOS varían desde una replicación asintomática a la presencia de enfermedad por CMV. La enfermedad puede ser causada por invasión tisular de cualquier órgano o, en su ausencia, por un cuadro de astenia, fiebre, leucopenia y trombocitopenia que se denomina síndrome viral (8). Además, a través de una modulación de la respuesta inmune, favorece la aloreactividad de forma que aumenta el riesgo de desarrollar rechazo agudo, rechazo crónico en los receptores renales, vasculopatía coronaria en el trasplante cardíaco y disfunción crónica del injerto (DCI) en los receptores de trasplante pulmonar (9,10).

El principal factor de riesgo para la infección por CMV es el receptor seronegativo que recibe un injerto de un donante seropositivo (D+/R-). Estos pacientes presentan un riesgo superior al 50% de desarrollar enfermedad por CMV en ausencia de profilaxis antiviral o tratamiento anticipado (6). El riesgo también varía en función del órgano trasplantado; es mayor en los receptores de intestino delgado o pulmón, y menor en los receptores renales o hepáticos. Otros factores de riesgo vienen determinados por el tratamiento inmunosupresor, como el uso de globulina antitimocítica (ATG) (9). Asimismo, la presencia de rechazo agudo mediado por linfocitos T se ha identificado como un factor de riesgo para la infección por CMV (11–13).

Según las últimas guías de la Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, se recomienda realizar profilaxis antiviral universal en los pacientes de alto riesgo: trasplantados de pulmón o intestino delgado. En los pacientes receptores de trasplante renal, hepático o cardíaco, se recomienda realizar profilaxis antiviral sólo en la situación (D+/R-) y en aquellos que hayan recibido ATG

(6). Además, se considera como un factor de riesgo la presencia de rechazo agudo mediado por linfocitos T, pero no se especifica el tipo de manejo recomendado para estos pacientes. En las últimas guías de la Sociedad Internacional de Trasplante (14), se recomienda realizar profilaxis antiviral o tratamiento anticipado de 1 a 3 meses en pacientes con dicho rechazo que reciban ATG (recomendación débil con moderada calidad de la evidencia) y se podría realizar una estrategia similar en pacientes que reciben altas dosis de corticoides o plasmaféresis (recomendación débil con muy baja calidad de la evidencia).

La respuesta inmunológica frente a CMV es altamente compleja e incluye la respuesta innata y adaptativa (15,16). La detección de CMV por el sistema inmune innato desencadena la producción de múltiples citoquinas pro-inflamatorias que inician una respuesta inmune celular y humoral y son críticas para controlar la infección en la fase inicial (15). El control mantenido de la infección se debe principalmente a la respuesta celular formada por linfocitos T CD4 y CD8 específicos frente a CMV (15). Se puede monitorizar esta respuesta tras la estimulación de sangre total o células mononucleares de sangre periférica a través de la detección de interferón gamma (Quantiferon-CMV) o a través del recuento de los linfocitos T (tinción intracelular de citoquinas o ELISpot-assay) (7). Estas técnicas pueden predecir los pacientes con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad y podrían ser útiles en el manejo de estos pacientes (7). Sin embargo, todavía no se han llegado a implementar en la práctica clínica diaria.

Por otra parte, la respuesta humoral y su interacción con la respuesta celular también es importante para controlar la replicación por CMV. Los linfocitos B producen anticuerpos frente a diferentes proteínas virales que son capaces de neutralizar el virus (15). Entre éstos, se encuentran los anticuerpos frente a las glicoproteínas (gB y gH), que a su vez se han relacionado con el rechazo agudo y el rechazo crónico mediado por anticuerpos (16). Adicionalmente, la hipogammaglobulinemia se ha

asociado a un mayor riesgo de presentar enfermedad por CMV (17–20). También se ha objetivado que la infusión de inmunoglobulinas puede prevenir la enfermedad por CMV o puede mejorar la evolución de la enfermedad por CMV refractaria (21–25). Otro dato característico de la infección por CMV es la expansión masiva de linfocitos T  $\gamma\delta$ . La mayoría de ellos expresan de forma específica CD16 (26). Estos linfocitos T  $\gamma\delta$  CD16+ reconocen las partículas de CMV opsonizadas por IgG y producen interferón gamma. Esta cooperación entre los linfocitos T  $\gamma\delta$  CD16+ y la inmunidad humoral es un mecanismo que controla la replicación por CMV. Adicionalmente, estos linfocitos T  $\gamma\delta$  CD16+ reconocen las células endoteliales recubiertas por anticuerpos específicos del donante y generan una citotoxicidad que podría favorecer el rechazo mediado por anticuerpos en los receptores de TOS (27). El rechazo mediado por anticuerpos es en la actualidad la etiología principal de disfunción del injerto renal, causa hasta la mitad de los rechazos agudos y más del 60% de la disfunción tardía del injerto (28–30). El tratamiento consiste en la eliminación de anticuerpos no específicos por plasmaféresis, su inactivación por inmunoglobulinas endovenosas y la disminución de su producción a través del tratamiento con rituximab (28,29,31). No hay estudios que evalúen la replicación de CMV tras el diagnóstico del rechazo mediado por anticuerpos en los receptores de TOS.

### **1.2.2. Virus BK**

El virus BK es un virus de la familia *Polyomaviridae* (32). La infección primaria se da en la infancia y cursa sin signos ni síntomas específicos. El virus, tras una primera fase virémica, queda en estado latente, principalmente en las células tubulares renales (32). La población de adultos jóvenes presenta una serología positiva hasta en el 90% de los casos (33). En las personas sanas el virus puede reactivarse y detectarse en orina. Este hecho es más frecuente en los individuos inmunodeprimidos, como los pacientes receptores de un trasplante renal, donde puede detectarse en orina casi en el 80% de la población. En este grupo de pacientes

el virus BK puede provocar daño tisular entre el 1-10% de pacientes, en forma de nefropatía por virus BK (34–37). Cerca de la mitad de los pacientes que desarrollan nefropatía por virus BK presentarán pérdida del injerto en función de la gravedad de la inflamación, la destrucción de las células tubulares renales y la fibrosis renal (38). El diagnóstico definitivo de este cuadro clínico se realiza al demostrar en una biopsia renal los cambios citopáticos inducidos por el virus. Estos cambios, deben confirmarse mediante técnicas complementarias como la inmunohistoquímica o la hibridación “in-situ” para el ácido desoxirribonucleico del virus (33,39). Las guías clínicas recomiendan la monitorización de la replicación del virus a través de la determinación de la carga viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en orina o suero (39). No se dispone de un tratamiento antiviral eficaz y se aconseja realizar un descenso gradual del tratamiento inmunosupresor guiado por la evolución de la carga viral en suero (33).

Los factores de riesgo para desarrollar la nefropatía por virus BK varían según los diferentes estudios publicados. El principal factor de riesgo es el grado de inmunosupresión de estos pacientes (33,40). Otros factores de riesgo son similares a los que favorecen la infección por CMV: el receptor seronegativo que recibe un injerto seropositivo (37) o el tratamiento con ATG (36,41). Finalmente, y al igual que ocurre con el CMV, el rechazo agudo mediado por linfocitos T se ha asociado con la nefropatía por virus BK en diferentes estudios (34–36). Como ya se ha comentado previamente, en la actualidad la causa principal de disfunción del injerto en el trasplante renal es el desarrollo de rechazo mediado por anticuerpos. Sin embargo, no se conoce el riesgo de desarrollar infección por el virus BK tras el diagnóstico de esta entidad, a pesar de que la respuesta humoral es importante en el control de la infección por este virus. La respuesta inmune adaptativa aparece justo después de la exposición inicial al virus e induce la presencia de anticuerpos neutralizantes específicos (42). El control posterior de la infección viral latente depende de la

respuesta celular específica de los linfocitos T y la presencia de anticuerpos frente al virus (33).

### **1.2.3. Virus respiratorios**

Los virus respiratorios son un grupo diverso de virus formado por diferentes familias (43). La familia *Paramyxoviridae* incluye el virus respiratorio sincitial (VRS), virus parainfluenza y el metapneumovirus humano. La familia *Picornaviridae* incluye el rinovirus y el enterovirus. La familia *Orthomyxoviridae* incluye los virus influenza A y B. La familia *Coronaviridae* incluye el coronavirus; la familia *Adenoviridae* incluye el adenovirus y, finalmente, la familia *Parvoviridae* incluye el bocavirus humano. Estos virus causan infecciones tanto del tracto respiratorio superior como del inferior, y ninguno se asocia de forma exclusiva a una presentación clínica (44). Tienen un periodo de transmisibilidad estacional que es característico de cada virus (43).

Los pacientes receptores de TOS presentan un mayor riesgo de complicaciones asociadas a estas infecciones (10,44). La infección por virus influenza presenta un mayor riesgo de ventilación mecánica, neumonía bacteriana y mortalidad en los receptores de TOS (45). Los receptores de un trasplante de pulmón tienen un mayor riesgo de infección, dada la exposición continua del injerto al medio ambiente externo y al deterioro de los mecanismos de protección pulmonar (10,44). La presencia de niveles elevados de tacrolimus se ha considerado un factor de riesgo para la infección por virus respiratorios (46). De la misma forma que para las infecciones por CMV y virus BK, recibir tratamiento con corticoides para el rechazo agudo mediado por linfocitos T también se ha asociado al riesgo posterior de infección por estos virus (47). El diagnóstico se realiza a través de técnicas moleculares que permiten la detección rápida y simultánea de estos virus respiratorios en muestras nasofaríngeas o en lavado broncoalveolar (BAL) (44). La mayoría de estas infecciones no tienen un tratamiento específico, salvo la infección por virus influenza y con menor grado de evidencia el VRS (43). Aunque la inmunogenicidad de la vacuna de la gripe es

variable (48), se recomienda la vacunación porque disminuye el riesgo de desarrollar la infección y mejora el pronóstico en caso de presentar la enfermedad (49,50). Por otra parte, se recomiendan medidas preventivas como evitar el contacto con personas infectadas por estos virus, el uso de mascarillas faciales y el lavado de manos para evitar la transmisión a estos pacientes de alto riesgo (43).

En los receptores de trasplante pulmonar, los virus respiratorios pueden dañar el epitelio y subepitelio alveolar a través de una respuesta inflamatoria mediada por la inmunidad innata y adaptativa (43). Además de causar un daño tisular directo, parece que generan una modulación de la respuesta inmune que favorece el rechazo agudo (51–53), aunque esta asociación no se ha objetivado en todos los estudios (46,54). La relación con la DCI, la principal causa de mortalidad después del primer año tras el trasplante(55), es controvertida. La fisiopatología de la DCI es compleja e incluye una relación entre el injerto pulmonar, el desarrollo de anticuerpos frente al donante y diferentes exposiciones ambientales entre las que destacan las infecciones, que modulan la respuesta inmune (10,56,57). En un análisis agrupado de los estudios publicados no se encontró una asociación entre los virus respiratorios y la DCI (58). En estudios retrospectivos publicados posteriormente parece que las infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por virus respiratorios son un factor de riesgo para el desarrollo de DCI (59,60). Sin embargo, faltan estudios prospectivos que evalúen de forma sistemática tanto la detección sintomática como asintomática de los virus respiratorios y su relación con la DCI.

### **1.3. Infecciones por bacterias difíciles de tratar**

La causa más frecuente de infección en los receptores de TOS son las infecciones bacterianas (61). Estas infecciones causan un daño directo por invasión tisular, con riesgo de diseminación local o hematológica, y pueden causar afectación de las suturas vasculares o afectación de la sutura bronquial en el caso de los receptores

de trasplante pulmonar. La etiología más frecuente de infección respiratoria en los trasplantados de pulmón es *Pseudomonas aeruginosa* (62). En un porcentaje elevado, entre el 38-67% en nuestro centro, esta infección respiratoria está producida por cepas multirresistentes (63). Además del daño por afectación directa, varios estudios han demostrado la asociación entre la infección por *P. aeruginosa* con el desarrollo posterior de DCI (64–68). Esta asociación se atribuye a un aumento de los niveles de la citoquina pro-inflamatoria CXCL1 en el BAL tras la infección por *P. aeruginosa* (67).

El principal reto actual en el manejo de las infecciones bacterianas es el aumento de la prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos de forma global (69). Estas bacterias se asocian a un aumento en el consumo de antibióticos y a infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria. Tanto los donantes como los receptores de TOS están expuestos a bacterias multirresistentes, con el riesgo posterior de desarrollar infecciones. Las infecciones causadas por estas bacterias conllevan una dificultad en el tratamiento que requiere el uso de antibióticos con menor experiencia clínica y mayor frecuencia de efectos secundarios (61).

La relación entre la colonización o infección por bacterias multirresistentes del paciente candidato a trasplante y la evolución clínica posterior tras el procedimiento es un tema controvertido. Los pacientes con fibrosis quística colonizados de forma crónica por estas bacterias candidatos a un trasplante pulmonar presentan con frecuencia esta situación (70). En un estudio multicéntrico retrospectivo basado en un registro internacional, no se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la colonización pretrasplante por bacterias panresistentes y mortalidad post-trasplante (71). Sin embargo, los pacientes con fibrosis quística colonizados por *Burkholderia cenocepacia*, una bacteria con múltiples mecanismos de resistencia, presentan una mayor mortalidad tras el trasplante según diversos estudios (72–74).

Por otra parte, los avances en las técnicas quirúrgicas, los tratamientos inmunosupresores y el soporte hemodinámico de los candidatos y receptores de TOS han incrementado el número de pacientes trasplantados en situación crítica (75). Además, estos pacientes requieren un ingreso hospitalario más prolongado, asociado a una mayor frecuencia de nutrición parenteral, terapia sustitutiva renal, uso de catéteres vasculares y un aumento en el consumo de tratamientos antibióticos (61). Todos estos factores favorecen la infección posterior por bacterias multirresistentes, que son muy difíciles de tratar en la práctica clínica diaria.

### **1.3.1. Infecciones producidas por *Corynebacterium* spp.**

*Corynebacterium* es un género bacteriano, de bacilos Gram positivos, que habitualmente colonizan la piel y mucosas en humanos, y que también se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente (76,77). El valor de *Corynebacterium* spp como microorganismo patógeno ha sido controvertido, aunque cada vez son más los estudios que lo reconocen como un agente etiológico de infección en pacientes portadores de material protésico articular o en pacientes con patología respiratoria crónica (76–78). En la mayoría de estos estudios, *Corynebacterium* spp. fue aislado en muestras respiratorias y se consideró como un patógeno causante de infección clínicamente significativa en un porcentaje variable de pacientes entre el 30 y el 77% de los casos (79–86). Existen ciertos factores microbiológicos que ayudan a diferenciar la colonización de la infección, como el aislamiento en una muestra estéril (por ejemplo, hemocultivos) o el aislamiento predominante en una muestra clínica recogida adecuadamente (76).

La mayoría de especies clínicamente significativas del género *Corynebacterium* expresan múltiples mecanismos de resistencia a los antibióticos (76). Se han descrito mutaciones del gen *gyrA* que causan resistencia a las fluoroquinolonas en *C. amycolatum* y en *C. striatum* (87). La presencia del gen *erm(X)* de la metilasa se ha identificado como el principal mecanismo de resistencia a los macrólidos y a la

clindamicina, y también causa resistencia a cotrimoxazol en diferentes especies de *Corynebacterium*. (88). Además, se han descrito resistencias a los beta-lactámicos, principalmente en *C. striatum* y en *C. tuberculostearicum*, con cepas resistentes a todos los beta-lactámicos (77,85,86). En la mayoría de ocasiones estas bacterias presentan concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) bajas a la vancomicina, linezolid y daptomicina (89,90). Sin embargo, se han descrito casos de fracaso terapéutico con daptomicina y la aparición de resistencias a este fármaco durante el tratamiento (91–93). Aunque la definición de consenso sobre los términos de bacterias multirresistentes no incluye ningún apartado relativo a *Corynebacterium* spp. (94), en la actualidad pueden ser considerados como patógenos multirresistentes emergentes (81,89,90,95,96).

Las patologías pulmonares crónicas, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (80,82,83,97) o la fibrosis quística (79), son un factor de riesgo conocido para las infecciones por *Corynebacterium* spp. El tratamiento de elección de los pacientes con EPOC y fibrosis quística en estadios terminales es el trasplante pulmonar. Adicionalmente, los trasplantados pulmonares requieren tratamiento inmunosupresor, por lo que presentan otro factor de riesgo añadido para presentar infecciones por estas bacterias. Sin embargo, hay muy poca bibliografía sobre la infección por *Corynebacterium* spp. en este grupo de pacientes y está limitada a descripción de casos. En la descripción de un brote nosocomial producido por *C. striatum*, dos de los pacientes eran trasplantados pulmonares, uno de ellos presentaba criterios de infección mientras que el otro se consideró colonizado (81). Además hay dos casos reportados de infección respiratoria por *C. pseudodiphtheriticum* en receptores de TOS, uno de ellos en un paciente trasplantado unipulmonar y el otro en un paciente receptor de trasplante cardíaco (98). También se ha publicado otro caso de infección respiratoria causada por *C.*

*striatum* en un trasplantado cardíaco (99) y una artritis séptica por *C. striatum* en un trasplantado pulmonar (100).

## 2. Hipótesis

Las infecciones virales y las producidas por bacterias difíciles de tratar causan un impacto negativo en la evolución clínica de los receptores de trasplante de órgano sólido:

- El rechazo humoral o su tratamiento favorecen la replicación posterior de citomegalovirus y del virus BK en los receptores de trasplante renal.
- Las infecciones causadas por virus respiratorios en los receptores de trasplante de pulmón se asocian a disfunción crónica del injerto
- Las bacterias de difícil tratamiento como *Corynebacterium* spp. en los receptores de trasplante de pulmón causan infección respiratoria y lesiones en la sutura bronquial del injerto pulmonar



### **3. Objetivos**

#### **Objetivo principal:**

Evaluar los efectos directos que causan las infecciones bacterianas difíciles de tratar y la modulación de la respuesta inmune causada por las infecciones virales en los receptores de un trasplante de órgano sólido.

#### **Objetivos secundarios:**

1. Analizar la asociación entre la infección por citomegalovirus y el virus BK tras el diagnóstico de rechazo humoral en los receptores de trasplante renal.
2. Estudiar la asociación entre la infección por virus respiratorios y la disfunción crónica del injerto en los receptores de trasplante pulmonar.
3. Describir las características clínicas y la evolución de los receptores de trasplante de pulmón que presenten un aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp.



**4. Artículos que forman parte de la presente tesis doctoral:**



Is antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients a risk factor for developing cytomegalovirus or BK virus infection? Results from a case-control study.  
Los-Arcos I, Len O, Perello M, Torres IB, Codina G, Esperalba J, Sellarés J, Moreso F, Seron D, Gavalda J. J Clin Virol 2019; 110: 45-50.

DOI: [10.1016/j.jcv.2018.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2018.11.010)



Community-acquired respiratory viruses are a risk factor for chronic lung allograft dysfunction. Peghin M, Los-Arcos I, Hirsch HH, Codina G, Monforte V, Bravo C, Berastegui C, Jauregi A, Romero L, Cabral E, Ferrer R, Sacanell J, Román A, Len O, Gavaldà J. Clin Infect Dis 2019;69:1192-1197.

DOI: [10.1093/cid/ciy1047](https://doi.org/10.1093/cid/ciy1047)



Clinical characteristics and outcome of lung transplant recipients with respiratory isolation of *Corynebacterium* spp. Los-Arcos I, Len O, Martín-Gómez MT, Baroja A, Berastegui C, Deu M, Sacanell J, Román A, Gavaldà J. J Clin Microbiol 2018; 56:e00142-18.

DOI: [10.1128/JCM.00142-18](https://doi.org/10.1128/JCM.00142-18)



## **5. Resumen global de los resultados**

La presente tesis doctoral se compone de tres manuscritos. El primero de ellos lleva por título “Is antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients a risk factor for developing cytomegalovirus or BK virus infection? Results from a case-control study”, Los-Arcos I, Len O, Perello M, Torres IB, Codina G, Esperalba J, Sellarés J, Moreso F, Seron D, Gavaldà J. J Clin Virol 2019; 110: 45-50.

Se trata de un estudio de casos y controles retrospectivo realizado en el Hospital Universitario Vall d’Hebron. Los trasplantados renales adultos diagnosticados de rechazo mediado por anticuerpos durante el periodo de estudio (2007-2015) fueron seleccionados como casos (58). Se decidió incluir dos controles por cada caso, por lo que los receptores del trasplante previo y posterior, de un donante diferente, fueron seleccionados como controles (118 controles). Se estudió la presencia de replicación por CMV o por el virus BK durante el año posterior al diagnóstico del rechazo mediado por anticuerpos o el periodo equivalente en los controles. Por este motivo, los pacientes seleccionados como controles debían mantener el tratamiento inmunosupresor durante un año tras el diagnóstico del rechazo mediado por anticuerpos (o, como mínimo, el mismo tiempo que tomaron este tratamiento los casos). Se estudiaron las principales variables epidemiológicas de los pacientes, así como el tratamiento inmunosupresor y los factores de riesgo conocidos de replicación de CMV y virus BK.

Los casos y controles presentaban algunas diferencias basales. El número de pacientes sometidos a un retrasplante era mayor en los casos que en los controles. Además, los casos presentaban con mayor frecuencia tratamiento de inducción con ATG y más episodios de rechazo agudo mediado por linfocitos T. Por este motivo, un mayor número de casos recibieron profilaxis antiviral frente a CMV que los controles.

En cuanto a las características de los pacientes diagnosticados de rechazo mediado por anticuerpos, 33 (56,9%) fueron diagnosticados de rechazo agudo y 25 (43,1%) de rechazo crónico. La mayoría de los casos 44/58 (80%) recibieron tratamiento para el rechazo mediado por anticuerpos, que incluía plasmaféresis en 41 pacientes, inmunoglobulinas en 40 y rituximab en 31.

La replicación por CMV fue significativamente más frecuente en los casos (9/58, 15,5%) que en los controles (7/116, 6%) ("odds ratio" (OR) 4,21; intervalo de confianza (IC) 95% 1,10-16,16). El número de pacientes en los que se solicitó una determinación de CMV fue más frecuente en los casos (46/58, 79,3%) que en los controles (63/116, 54,3%) (OR 4,58; IC 95% 1,92-10,9). Para evaluar de forma independiente la replicación por CMV se construyó un modelo multivariado de regresión logística condicional. En el estudio multivariado, tras ajustar por las variables estadísticamente significativas, se objetivó un mayor riesgo de replicación de CMV en los casos que en los controles (OR=2,41), pero sin una diferencia estadísticamente significativa (IC 95% 0,49-11,73,  $p=0,28$ ).

En lo que se refiere a la replicación por el virus BK, se consideró significativa una replicación mayor de  $10^7$  copias por mililitro (ml) en orina y mayor de  $10^4$  copias/ml en sangre total. Sólo 2/58 (3,5%) casos y 4/116 (3,5%) controles presentaron replicación significativa de virus BK. Por tanto, no se objetivó ninguna diferencia en la replicación de este virus entre casos y controles. No hubo ningún caso de nefropatía por el virus BK.

Adicionalmente a lo anterior, realizamos un análisis específico para detectar diferencias en la replicación viral en los casos tratados con rituximab (31) y sus respectivos controles (62). Las diferencias en la replicación de CMV en casos 4/31 (12,9%) respecto a los controles 4/62 (6,5%) (OR 4,0; IC 95% 0,41-39) fueron algo menores que en la cohorte global.

El segundo manuscrito de la tesis doctoral es “Community-acquired respiratory viruses are a risk factor for chronic lung allograft dysfunction”. Peghin M, Los-Arcos I, Hirsch HH, Codina G, Monforte V, Bravo C, Berastegui C, Jauregi A, Romero L, Cabral E, Ferrer R, Sacanell J, Román A, Len O, Gavaldà J. Clin Infect Dis 2018 [Epub ahead of print]. En este estudio se realizó un seguimiento prolongado de una cohorte prospectiva de receptores de trasplante de pulmón, a quienes se realizó de forma sistemática detección de virus respiratorios a través de frotis nasofaríngeos en las siguientes circunstancias: siempre que presentaron infección de vías respiratorias altas o bajas, en caso de diagnóstico de rechazo agudo mediado por linfocitos T y en los momentos de cambio de estación (primavera, verano, otoño e invierno).

Noventa y ocho pacientes fueron incluidos en la cohorte del estudio. La mayoría de ellos, 67 eran receptores de un trasplante bipulmonar (68,4%) y la mediana de seguimiento tras el trasplante fue de 3,4 años (IC 95% 2,5-4). La principal enfermedad de base fue la EPOC en 34 pacientes (34,7%) y la fibrosis pulmonar idiopática en 30 pacientes (30,6%). Se recogieron 1094 frotis nasofaríngeos con una mediana de 11 por paciente (rango 1-26), de los que 258 (23,6%) fueron positivos. En los pacientes con infección respiratoria de vías altas, 97/150 (64,7%) frotis fueron positivos, 56/108 (51,8%) frotis de las traqueobronquitis, 9/34 (26,4%) frotis de las neumonías, 4/30 (13,3%) frotis de los pacientes con rechazo agudo mediado por linfocitos T y 68/591 (11,5%) frotis de los pacientes asintomáticos. Se realizaron también los frotis nasofaríngeos tras los episodios de infección de vías respiratorias altas, de los cuáles 16/103 (15,5%) fueron positivos después de un mes y 8/78 (10,2%) después de tres meses. Al analizar la frecuencia de virus respiratorios se excluyeron estos 24 frotis de control, por lo que el número total de frotis positivos analizado fue de 234.

Los picornavirus, 108/234 (46,2%), fueron los virus respiratorios más frecuentes, seguidos de los coronavirus 46/234 (19,7%), virus influenza 28/234 (7,7%),

parainfluenza 20/234 (8,5%) y metapneumovirus humano 18/234 (7,7%). Los episodios de traqueobronquitis fueron causados principalmente por picornavirus 22/56 (39,3%), seguidos del virus influenza 9/56 (16,1%), coronavirus 8/56 (14,3%) y del metapneumovirus humano 8/56 (14,3%). Sin embargo, los nueve episodios de neumonía fueron causados principalmente por el VRS (33,3%), virus parainfluenza (22,2%) y el virus influenza (22,2%).

Treinta y ocho (38,8%) pacientes fueron diagnosticados de disfunción crónica del injerto, de los cuales 33 (86,8%) fueron diagnosticados de síndrome de bronquiolitis obliterante, 2 casos de síndrome restrictivo del injerto (5,3%) y 3 formas mixtas (7,9%). La mediana de tiempo hasta el diagnóstico de la disfunción crónica del injerto fue de 20,4 meses (rango intercuartílico 12-30,4). En el análisis univariado tiempo-dependiente, el rechazo agudo ("hazard ratio" (HR) 3,21, IC 1,67-6,17;  $p < 0,001$ ), la disfunción primaria del injerto (HR 2,31, IC 1,00-5,31;  $p = 0,04$ ), la positividad de cualquier virus respiratorio (HR 2,37, IC 0,98-5,75;  $p = 0,05$ ), la infección de tracto respiratorio inferior por virus respiratorios (HR 2,96, IC 1,51-5,78;  $p = 0,001$ ) y la neumonitis por CMV (HR 7,34, IC 1,66-32,43;  $p = 0,008$ ) se asociaron de forma significativa a la disfunción crónica del injerto. En el análisis multivariado de Cox tiempo-dependiente, la infección de tracto respiratorio inferior por virus respiratorios (HR 3,00, IC 1,52-5,91;  $p = 0,002$ ), la neumonitis por CMV (HR 3,76, IC 1,23-11,49;  $p = 0,02$ ) y el rechazo agudo (HR 2,97, IC 1,51-5,83;  $p = 0,002$ ) fueron los factores de riesgo independientes asociados al desarrollo de disfunción crónica del injerto. No se encontró ninguna asociación entre los diferentes tipos de virus respiratorios y el desarrollo de disfunción crónica del injerto.

El tercer manuscrito es "Clinical characteristics and outcome of lung transplant recipients with respiratory isolation of *Corynebacterium* spp." Los-Arcos I, Len O, Martín-Gómez MT, Baroja A, Berastegui C, Deu M, Sacanell J, Román A, Gavaldà J. J Clin Microbiol 2018; 56:e00142-18.

En este trabajo retrospectivo se estudió la sintomatología clínica y la evolución posterior que presentaron los receptores de trasplante pulmonar con aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. Todos los receptores adultos de trasplante de pulmón que presentaron aislamiento respiratorio de *Coyrenbacterium* spp. desde enero de 2014 hasta diciembre de 2016 en el Hospital Universitario Vall d'Hebron fueron incluidos en el estudio. Al inicio del periodo del estudio 329 pacientes adultos realizaban seguimiento en nuestro centro y, durante ese periodo, se realizaron 198 trasplantes adultos más, por lo que la población en riesgo fue de 527 pacientes.

Veinticuatro pacientes (4,6%) presentaron aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. La mediana de tiempo desde el trasplante hasta el aislamiento de este microorganismo fue de 64 días de mediana (IC 26 a 820 días). A la mayoría de pacientes se les realizó una fibrobroncoscopia (19/24, 79%), y en todos los que se realizó una broncoscopia se objetivaron alteraciones. Los hallazgos más frecuentes fueron placas mucosas en la sutura bronquial (53%) y secreciones purulentas (47%).

*C. striatum* fue la especie aislada más frecuente 11/24 (48%), junto con *C. pseudodiphtheriticum* 3/24 (13%) y *C. amycolatum* 3/24 (13%). Se realizó antibiograma a 19 cepas de *Corynebacterium* spp. Cerca del 75% de las cepas fueron resistentes a ciprofloxacino (14/19; 74%) y cotrimoxazol (14/19; 79%); la mitad a penicilina (11/19; 58%), o amoxicilina-clavulánico (9/19; 47%); y cerca de una cuarta parte a imipenem (5/19; 26%) y doxiciclina (4/19; 21%). Todos los aislamientos de *Corynebacterium* spp. fueron sensibles a rifampicina, linezolid y vancomicina.

La mitad de los pacientes 12/24 (50%) se diagnosticaron de traqueobronquitis. Estos pacientes recibieron tratamientos antibióticos una mediana de 15 días y ocho (67%) presentaron una curación clínica.

Para poder evaluar el valor patógeno de *Corynebacterium* spp. se analizaron sólo los 18 pacientes (75%) con aislamiento monomicrobiano. En este caso, también la mitad de los pacientes (9/18) fueron diagnosticados de traqueobronquitis. Los pacientes con traqueobronquitis presentaron con mayor frecuencia un número significativo de UFC/ml (igual o superior a  $10^6$  en esputo o BAS o igual o superior a  $10^4$  en BAL) respecto a los pacientes sin sintomatología compatible con infección respiratoria (7/9 frente a 2/9,  $p=0,057$ ).

Sólo 21/527 (4%) pacientes de la cohorte eran portadores de una prótesis bronquial, aunque los pacientes con aislamiento de *Corynebacterium* spp. presentaban con mayor frecuencia una prótesis bronquial (6/21, 29%) que el resto de los sujetos del estudio (18/506, 4%,  $p<0,001$ ). Si tenemos en cuenta a los 18 pacientes con cultivo monomicrobiano, la presencia de infección persistente se asoció de forma significativa a la presencia de una prótesis bronquial (4/4 respecto a 2/14,  $p=0,005$ ). Dos de los seis pacientes con cultivo polimicrobiano eran portadores de una prótesis bronquial. Uno de éstos, presentó aislamiento de *Haemophilus influenzae* y fracasó tras tratamiento antibiótico con persistencia de la infección requiriendo diversas tandas de tratamientos antibióticos. El otro paciente, no tenía clínica sugestiva de infección respiratoria, y presentó un único aislamiento polimicrobiano de *C. striatum* y *P. aeruginosa*.

## **7. Resumen global de la discusión**

### **Estudio replicación viral tras el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos:**

Los receptores de un trasplante renal tras el diagnóstico de un rechazo mediado por anticuerpos presentan con más frecuencia replicación por CMV pero no por el virus BK. En el estudio multivariado se objetivó un riesgo mayor (OR 2,41) para la replicación de CMV en los casos respecto a los controles, pero sin una diferencia estadísticamente significativa, probablemente en relación al número de sujetos incluido en el estudio.

Tras realizar una revisión de la literatura, se constata que no disponemos de otros estudios que evalúen la replicación de CMV tras el diagnóstico del rechazo mediado por anticuerpos para poder comparar estos resultados. Sin embargo, la asociación del rechazo mediado por linfocitos T y la infección por CMV es conocida en receptores de trasplante renal y hepático (11,12). Además, el uso de ATG, tanto en el tratamiento del rechazo mediado por linfocitos T como en la inducción, se ha asociado a un mayor riesgo de infección por CMV (9,102). En nuestro estudio, los casos recibieron con más frecuencia ATG y dosis altas de metilprednisolona como tratamiento del rechazo agudo mediado por linfocitos T. No obstante, tras ajustar por estas variables en el modelo multivariado, persistía la relación (OR 2,41) entre presentar rechazo mediado por anticuerpos y la replicación posterior de CMV.

Como se ha comentado en la Introducción de la tesis doctoral, la respuesta inmunológica frente a CMV es altamente compleja e incluye la respuesta celular y humoral (15,16). La hipogammaglobulinemia se ha identificado como un factor de riesgo de infección por CMV (17). Además, los títulos bajos de inmunoglobulinas frente a CMV, tanto previos al trasplante (103) como posteriores (18,20,104), aumentan el riesgo de infección por este virus. Estos estudios revelan el valor de la

inmunidad humoral en la infección por CMV en los receptores de TOS. Asimismo, existen varios estudios que parecen evidenciar la utilidad de las inmunoglobulinas, tanto específicas como no específicas, frente a CMV en profilaxis (21,24,25) como en el tratamiento de la enfermedad viral (22,23,105,106). La mayoría de los casos de nuestro estudio, 40/58 (69%), recibieron inmunoglobulinas inespecíficas como tratamiento del rechazo mediado por anticuerpos. Este tratamiento podría haber influido en los resultados, al prevenir la replicación de CMV en los casos. Al ser un estudio retrospectivo, no disponemos de los niveles de gammaglobulinas de estos pacientes.

La replicación significativa del virus BK fue muy poco frecuente (3,5%), sin diferencias entre los casos y los controles, lo que sugiere que el rechazo medido por anticuerpos no favorece dicha replicación.

El tratamiento farmacológico del rechazo mediado por anticuerpos no está bien establecido (107,108). Uno de los fármacos más utilizados es rituximab (107,108), un anticuerpo monoclonal quimérico frente al antígeno CD 20 (108). Rituximab aumenta el riesgo de reactivación del virus de la hepatitis B (109–111) por lo que se recomienda realizar profilaxis antiviral en los pacientes HBsAg positivos (112). Además, rituximab también se ha asociado a la reactivación del virus de la hepatitis C, a la infección crónica por virus de la hepatitis E y a las infecciones severas por enterovirus (113–115). Sin embargo, no se ha descrito un aumento de la infección por CMV en los pacientes tratados con rituximab (112). En cuanto al virus BK, los datos son limitados y contradictorios. El uso de rituximab en terapia de desensibilización, junto con inmunoglobulinas intravenosas, fue el mayor predictor de viremia por virus BK en un estudio (116). No obstante, en otro estudio en receptores de trasplante renal pediátricos la replicación de los poliomavirus no se asoció al tratamiento con rituximab (117).

En nuestro estudio, el único tratamiento farmacológico que se realizó tras el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos fue rituximab. En el análisis independiente que se realizó para evaluar la influencia de rituximab en la replicación de ambos virus, encontramos menores diferencias que en la cohorte global. De esta forma, aunque el análisis se encontraba limitado por el número de pacientes que recibieron rituximab, no parece que este fármaco sea un factor de riesgo añadido de replicación viral en estos pacientes.

La limitación principal de este estudio es el diseño observacional y retrospectivo. De todas formas, la determinación de la PCR de ambos virus y su resultado se registró automáticamente en el sistema informático de microbiología, de forma que se disminuyeron los sesgos derivados de un estudio retrospectivo. Otra limitación es que los grupos de casos y controles no eran comparables en sus características basales ni en la monitorización de la replicación viral. Para poder analizar correctamente los resultados, se construyó un modelo multivariado incluyendo los principales factores de riesgo de replicación de CMV que mostró un mayor riesgo de replicación de este virus en los casos que en los controles. Otra limitación del estudio es la baja incidencia de replicación del virus BK en ambos grupos.

Por tanto, la conclusión de este estudio es que los trasplantados renales diagnosticados de rechazo mediado por anticuerpos presentaron un mayor riesgo de replicación posterior por CMV. Esto sugiere que debería realizarse un control de la replicación de CMV en los receptores de trasplante renal, aunque son necesarios estudios con un mayor número de pacientes para confirmar estos resultados. Por otra parte, no se encontró un mayor riesgo de replicación del virus BK en este grupo de pacientes, por lo que este virus no requiere un manejo específico tras el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos.

## **Estudio disfunción crónica del injerto y virus respiratorios en trasplante de pulmón:**

Los resultados obtenidos en el segundo estudio muestran que la infección de vías respiratorias bajas causada por virus respiratorios, el rechazo agudo y la neumonitis por CMV son factores de riesgo independientes para el desarrollo posterior de DCI en los receptores de trasplante de pulmón. La asociación entre la infección por virus respiratorios y la DCI ha sido controvertida (10,43). Por una parte, en un análisis agrupado de los estudios publicados, no se encontró una asociación entre los virus respiratorios y la DCI (58). Posteriormente, se han publicado nuevos estudios con más datos al respecto, como el estudio retrospectivo de Fisher *et al.* (59), que incluye 250 receptores de trasplante de pulmón, es uno de ellos. En este estudio analizaron de forma retrospectiva una cohorte de trasplantados de pulmón en los que la detección de virus respiratorios se realizó sólo si los pacientes presentaban alguna sintomatología. En el análisis multivariado la infección por virus respiratorios aumentó el riesgo de desarrollar DCI. Esta asociación fue mayor si el periodo de riesgo analizado tras la infección por estos virus era menor. También se ha publicado un estudio retrospectivo similar, realizado por Allyn *et al.* (60), en el que incluyeron a 563 receptores de trasplante de pulmón. La neumonía por virus respiratorios aumentó el riesgo de desarrollar DCI de forma independiente. Sin embargo, la detección asintomática de los virus respiratorios, o la infección sintomática sin neumonía, no se relacionaron con la DCI. La limitación principal de estos estudios retrospectivos, es que las PCRs de virus respiratorios se solicitaron según el criterio del médico tratante.

Un estudio similar al nuestro se realizó en Suecia por Magnusson *et al.* (118). En este estudio, analizaron una cohorte prospectiva de 98 receptores de trasplante de pulmón a los que se realizó una detección sistemática de virus respiratorios durante el primer año postrasplante. En este caso realizaron un seguimiento prolongado de los pacientes, pero la detección de los virus respiratorios sólo se llevó a cabo durante

el primer año. En el análisis multivariado de Cox tiempo-dependiente la presencia de virus respiratorios, el rechazo agudo y la inmunosupresión con ciclosporina se asociaron de forma independiente con el desarrollo de DCI. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, no distinguen la detección de virus respiratorios sintomáticos o asintomáticos en el análisis estadístico.

Por tanto, los últimos artículos publicados muestran una asociación entre la infección por virus respiratorios y el desarrollo posterior de DCI, cuya existencia ya se conocía en relación a determinadas especies de virus respiratorios como los paramixovirus (51,119,120). También se había encontrado esta asociación con otras especies como el adenovirus (60,121). No obstante, la asociación de otras especies de virus respiratorios menos patógenos como los rinovirus y los coronavirus no era tan evidente (43,56). Esto es muy relevante, porque estos últimos son los virus respiratorios más frecuentes en los receptores de trasplante de pulmón (58,118).

En nuestro estudio, la asociación de la infección de vías respiratorias bajas por virus respiratorios y el desarrollo de DCI no se puede atribuir a una especie viral concreta. Nuestros datos sugieren que lo importante no es la especie viral implicada, sino la presencia de infección de las vías respiratorias bajas. Este hallazgo se ve reforzado por otros estudios donde sólo la neumonía viral se asocia a la DCI (60). Además, los coronavirus, por su parte, se vincularon de forma independiente al desarrollo de DCI en el estudio de Magnusson *et al.* (118). En su conjunto, los resultados referidos reafirman la idea de que la asociación de los virus respiratorios y la DCI no depende de la especie viral sino de la afectación de vía respiratoria baja.

Adicionalmente a lo anterior, cabe destacar que la afectación de la vía respiratoria baja tiene, además, una base fisiopatológica que lo relaciona con la DCI. Los virus respiratorios se unen al epitelio bronquial y causan un efecto citopático directo (122). Posteriormente, se produce una liberación de factores inflamatorios/citoquinas que podrían favorecer la aloreactividad lo que conduce a la DCI. Uno de estos factores

inflamatorios son los receptores de la citoquina CXCR3 como CXCL10 o CXCL11 (123). La citoquina CXCR3 se expresa en los linfocitos T activados y en las células NK (124). La unión de esta citoquina con sus receptores CXCL10 o CXCL11 juega un papel importante en la respuesta inflamatoria causada por la infección de los virus respiratorios (124,125). En cuanto a los receptores de trasplante de pulmón, la infección por virus respiratorios presenta un aumento significativo de los receptores de CXCR3 en el BAL (123). Además, este incremento en los receptores de CXCR3 se ha asociado a un empeoramiento de la capacidad pulmonar de estos pacientes pudiendo causar DCI (123,126).

Otra hipótesis sobre el daño del injerto pulmonar se basa en la menor actividad de los linfocitos T reguladores debido al tratamiento inmunosupresor (127). Estos linfocitos T reguladores, a través de los linfocitos T citotóxicos, atacan las células epiteliales respiratorias infectadas y suprimen la proliferación de fibroblastos. La menor actividad de los linfocitos T reguladores en pacientes inmunosuprimidos, no podría regular de forma correcta la regeneración epitelial tras la infección. Por este motivo, la infección por virus respiratorios en los trasplantados de pulmón dificultaría la eliminación de estos virus y facilitaría la fibrosis epitelial causando bronquiolitis obliterante (128).

Existe poca evidencia científica sobre la efectividad del tratamiento de las infecciones por virus respiratorios en los receptores de TOS. El tratamiento del virus de la gripe es una excepción, dado que el uso de inhibidores de la neuraminidasa está claramente recomendado (129). También se plantea el uso de ribavirina oral o nebulizada en la infección por VRS en los receptores de trasplante de pulmón, pero con una baja calidad de la evidencia (129). Asimismo, en estos casos se pueden utilizar inmunoglobulinas endovenosas o corticoides, aunque la experiencia clínica es muy limitada (129,130). En las infecciones causadas por otros virus respiratorios, como parainfluenza o metapneumovirus humano, todavía hay menos datos sobre el

beneficio que aportan estos tratamientos (129). Los resultados de nuestro estudio suponen un argumento de peso para tratar de desarrollar nuevos tratamientos frente a los virus respiratorios (131,132). Estos nuevos tratamientos deberían modificar el episodio agudo, al mismo tiempo que evitan la afectación de la vía respiratoria baja y reducen el riesgo posterior de desarrollar DCI. En un ensayo clínico fase 2b, los receptores de trasplante de pulmón infectados por VRS fueron aleatorizados a tratamiento con ALN-RSV01 frente a placebo: los pacientes tratados con el fármaco experimental presentaron una tendencia a presentar menos DCI (13,6% respecto a 30,3%;  $p=0,058$ ) durante los 180 días tras la infección (133). Estos datos esperanzadores deberían confirmarse en un mayor número de pacientes para poder ser utilizados en el futuro.

Dada la importancia que tiene la infección por virus respiratorios en el riesgo de desarrollar DCI, la prevención de esta infección debe ser fundamental. Aunque la inmunogenicidad de la vacuna de la gripe es menor en los receptores de TOS (48), la vacunación anual a estos pacientes, incluso a doble dosis, ha demostrado un claro beneficio (49,129). Por otra parte, es muy importante la educación de los pacientes y las personas que conviven con ellos. Esto incluye recomendar la vacunación antigripal a las personas convivientes (129), realizar una higiene de manos frecuente, evitar lugares concurridos o el contacto con personas enfermas (134). Nuestros resultados refuerzan la importancia de todas estas medidas preventivas que, de hecho, ya forman parte de los programas de trasplante de pulmón. Pero existen otras medidas adicionales, dirigidas a disminuir el riesgo de transmisión nosocomial de estos virus, que no están implementadas, tales como el uso universal de una mascarilla quirúrgica por parte del personal sanitario, visitantes y pacientes, que disminuyó de forma significativa la infección por estos virus en una unidad de trasplante de progenitores hematopoyéticos (135). Estos resultados sugieren que

adaptar estas medidas a las plantas de hospitalización de los receptores de trasplante de pulmón resultaría, probablemente, beneficioso para estos pacientes.

Finalmente, es preciso señalar que nuestro estudio presenta algunas limitaciones. Por una parte, identificar la fecha exacta del diagnóstico de la DCI es muy complejo en la práctica clínica diaria. Para intentar evitar esta limitación, el diagnóstico de DCI fue validado por un panel de expertos externo. Otra limitación es que sólo se realizó la PCR de los virus respiratorios en los frotis nasofaríngeos y no en el BAL. Sin embargo, esto permitió utilizar la misma técnica, que es menos invasiva, durante todo el periodo del estudio. Además, la PCR de virus respiratorios en frotis nasofaríngeos en pacientes con infección de vías respiratorias bajas tiene un alto valor predictivo negativo (136,137). Por último, señalar que existe una limitación en relación con el análisis estadístico tiempo-dependiente. Así, la variable de infección por virus respiratorios se incluyó como un periodo de riesgo arbitrario de tres meses. Utilizamos este periodo de riesgo por la hipótesis de que los eventos adversos asociados a la infección tendrían que ocurrir en un corto periodo de tiempo (53). De hecho, este periodo de riesgo de tres meses, también se ha asociado a un mayor riesgo de DCI en otros estudios (59).

Por tanto, los resultados del estudio sugieren que las infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por virus respiratorios, así como el rechazo agudo y la neumonitis por CMV, son un factor de riesgo independiente para el desarrollo de DCI en los receptores de trasplante pulmonar.

#### **Estudio aislamiento de *Corynebacterium* spp. en muestras respiratorias en receptores de trasplante pulmonar:**

En nuestro estudio *Corynebacterium* spp. causó sintomatología compatible con infección respiratoria de vías bajas en la mitad de los receptores de trasplante de

pulmón. La frecuencia en la que *Corynebacterium* spp. causa infección respiratoria es variable: en una serie de pacientes con fibrosis quística, hasta 10/13 (77%) pacientes con aislamiento de *C. pseudodiphtheriticum* presentaron algún tipo de sintomatología respiratoria (79). Sin embargo, en la descripción de un brote nosocomial causado por *C. striatum* sólo 3/10 (30%) pacientes cumplían los criterios de infección respiratoria (81). Existen numerosos artículos que describen los casos de infección respiratoria secundaria por *Corynebacterium* spp (80,82–85). No obstante, no suelen describir el número total de aislamientos respiratorios de *Corynebacterium* spp. y el porcentaje de estos pacientes que presentaban sintomatología infecciosa. En un estudio francés realizado por Nhan *et al.*, analizaron todos los pacientes que presentaban un aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp (86). A tal efecto, incluyeron 27 pacientes de los cuáles 15 (56%) presentaban sintomatología respiratoria. Estos resultados son casi idénticos a nuestro estudio en pacientes receptores de trasplante de pulmón. Aunque en el estudio francés, la mayoría de los sujetos 14/15 (93%) presentaban neumonía asociada a la ventilación mecánica o a los cuidados sanitarios, en nuestro estudio todos los pacientes presentaban traqueobronquitis.

Nuestros resultados sugieren que una carga bacteriana significativa de *Coyrnebacterium* spp. se asocia con la presencia de sintomatología respiratoria en estos pacientes. El aislamiento de *Corynebacterium* spp. como un microorganismo predominante en una muestra clínica es uno de los criterios recomendados para considerarlo como el patógeno causante de la infección (76). En este sentido, la asociación de una mayor carga bacteriana detectada por UFC/ml en el cultivo con la sintomatología clínica es biológicamente plausible. Este hallazgo pone de manifiesto la importancia del laboratorio de microbiología a la hora de identificar y cuantificar el aislamiento de *Corynebacterium* spp. en las muestras respiratorias.

Los datos emergentes sobre el microbioma apoyan que *Corynebacterium* spp. puede causar infecciones respiratorias en el contexto de la pérdida de la diversidad microbiana y la alteración en la respuesta del huésped. En una cohorte de receptores de trasplante de pulmón con infección respiratoria, se objetivó que los pacientes con neumonía presentaban una pérdida de la diversidad microbiana en la que dominaban los géneros *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y, en un caso, *Corynebacterium* (138). Los autores sugirieron que *Corynebacterium* puede causar neumonía, dada la pérdida de la diversidad del microbioma circundante. Estos datos también se han reportado en otras enfermedades como la rinosinusitis crónica (139), si bien en nuestro estudio no fue posible analizar los datos del microbioma y son necesarios más estudios para poder validar esta hipótesis.

En nuestros pacientes, *C. striatum* fue la especie aislada más frecuente seguida de *C. pseudodiphtheriticum* y *C. amycolatum*. Múltiples estudios describen las infecciones respiratorias causadas por *C. striatum* (80–83,86,90,97) y por *C. pseudodiphtheriticum* (79,80,84–86,140). Sin embargo, se habían descrito casos de bacteriemia y endocarditis por *C. amycolatum* pero no de infección respiratoria (76,141–143).

Como ya se ha desarrollado en la Introducción de la presente tesis, se han documentado múltiples mecanismos de resistencia a los antibióticos en *Corynebacterium* spp. (76,87,88,91–93). En nuestro estudio, *C. striatum* y *C. amycolatum* presentaron con mayor frecuencia resistencia a la mayoría de antibióticos. Sin embargo, *C. pseudodiphtheriticum* presentó menos resistencias, al ser todas las cepas sensibles a los beta-lactámicos tal y como ya se había publicado en otros artículos (79,86). Esto tiene implicaciones a la hora de decidir el tratamiento antibiótico empírico de estos pacientes en espera del resultado del antibiograma. Los pacientes diagnosticados de traqueobronquitis en nuestro estudio recibieron diferentes pautas de tratamientos antibiótico, que incluyeron linezolid, amoxicilina-clavulánico, ciprofloxacino y teicoplanina. La mayoría de estos sujetos (67%)

presentaron una curación clínica prolongada. Pero el fracaso terapéutico se relacionó principalmente con la presencia de una prótesis bronquial.

Las prótesis bronquiales se utilizan en el tratamiento de la estenosis bronquial en los receptores de trasplante de pulmón (144). Estas estenosis bronquiales suelen ocurrir en relación a complicaciones de la anastomosis bronquial, como puede ser la presencia de isquemia o infecciones (145,146). Las prótesis bronquiales más utilizadas en estos pacientes son las metálicas (144,147), aunque también se han utilizado prótesis de silicona (148,149). En nuestro centro sólo se han utilizado prótesis metálicas y su presencia se ha asociado de forma significativa tanto a la presencia de *Corynebacterium* spp. como al aislamiento persistente de esta bacteria. Por tanto, a pesar de múltiples pautas de tratamiento antibiótico no se consigue la erradicación de *Corynebacterium* spp. y los pacientes persisten con sintomatología respiratoria secundaria a la infección de la prótesis bronquial. Esta asociación de *Corynebacterium* spp. con las prótesis bronquiales se debe seguramente a su capacidad de generar biopelículas (150). Estas biopelículas son comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de polisacáridos y adheridos a la superficie inerte de la prótesis. Por este motivo causan infecciones más difíciles de curar y resistentes a los antibióticos (150). En una cohorte retrospectiva de 65 receptores de trasplante de pulmón, hasta el 40% de pacientes presentaron nuevas colonizaciones bacterianas tras la colocación de una prótesis bronquial metálica, principalmente por *P. aeruginosa* y *S. aureus* (147). No obstante, no había datos sobre el aislamiento de *Corynebacterium* spp en las prótesis bronquiales. Recientemente se han publicado los resultados de un estudio que analiza la composición de las biopelículas de las prótesis bronquiales en los trasplantados pulmonares. El género *Corynebacterium* es el predominante en estas biopelículas y *C. striatum* es la especie principal (151). Estos resultados refuerzan nuestros propios hallazgos sobre la importancia de las prótesis bronquiales en la presencia y

persistencia de la infección por *Corynebacterium* spp. en los receptores de trasplante de pulmón.

Otro resultado destacable de nuestro estudio es que, aunque sólo la mitad de los pacientes cumplían los criterios de infección respiratoria, todos los que se sometieron a una broncoscopia presentaban alguna alteración. Las alteraciones más frecuentes fueron las placas mucosas en la sutura bronquial y la presencia de secreciones purulentas. Además, un paciente sin sintomatología respiratoria, pero con una placa purulenta, desarrolló una dehiscencia de la sutura bronquial. Por este motivo, consideramos que la presencia de afectación de la sutura bronquial en ausencia de clínica respiratoria debería ser interpretada con cautela hasta disponer de más datos.

Nuestro estudio presenta varias limitaciones relacionadas principalmente con su diseño retrospectivo. Sin embargo, los pacientes fueron manejados de forma uniforme en la misma unidad de trasplante de pulmón. Por otra parte, al ser un estudio realizado sólo en nuestro centro puede hacer que los resultados no sean generalizables. Finalmente, la ausencia de resultados de anatomía patológica en la mayoría de casos de aislamiento de *Corynebacterium* spp. es otra limitación del estudio dado que la presencia de signos de infección en la anatomía patológica sería un dato que reforzaría la patogenicidad de este género bacteriano.

A modo de conclusión, destacar que nuestros resultados sugieren que el aislamiento respiratorio de *Corynebacterium* spp. se asocia a infección respiratoria en los receptores de trasplante de pulmón, especialmente cuando la carga bacteriana es elevada. La implantación de prótesis metálicas bronquiales en estos pacientes es un factor de riesgo para la presencia y persistencia de *Corynebacterium* spp.

## 7. Conclusiones

1. El rechazo mediado por anticuerpos en los receptores de trasplante renal parece aumentar el riesgo posterior de replicación de citomegalovirus, pero no aumenta el riesgo de replicación del virus BK.
2. Las infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por virus respiratorios, así como el rechazo agudo y la neumonitis por citomegalovirus, son un factor de riesgo independiente para el desarrollo de disfunción crónica del injerto en los receptores de trasplante pulmonar.
3. El aislamiento en cultivos respiratorios de *Corynebacterium* spp. en los receptores de trasplante de pulmón se asocia a infección respiratoria y a afectación de la sutura bronquial, especialmente cuando se presenta con un número elevado de unidades formadoras de colonias por mililitro. La implantación de prótesis metálicas bronquiales en estos pacientes es un factor de riesgo para la presencia y persistencia de *Corynebacterium* spp.



## **8. Líneas de futuro**

### **Estudio replicación viral tras el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos:**

Nuestra intención es confirmar los resultados obtenidos en nuestra cohorte en un nuevo estudio multicéntrico. Se trata de un estudio con un diseño similar, ya que se ha diseñado como un estudio retrospectivo caso-control en el que se incluirán un mayor número de pacientes de diferentes hospitales. De esta forma se podrá confirmar si el riesgo de replicación de CMV es mayor tras el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos. Además, al incluir un mayor número de pacientes, aumentará la potencia estadística, y se podrá estudiar mejor de forma independiente el efecto de rituximab así como otros tratamientos farmacológicos como el bortezomib en el riesgo de replicación viral.

Por otra parte, el doctorando ha participado –en calidad de coordinador- en otro proyecto de investigación sobre las infecciones por CMV y el virus BK en trasplantados renales. Se trata de un estudio de cohortes prospectivo realizado en la Fundación Puigvert y en nuestro centro en el que se han incluido 200 receptores de trasplante renal. Se han recogido las variables clínicas, analíticas y muestras de orina de forma prospectiva en todos estos pacientes. Además, se han determinado los títulos de inmunoglobulinas durante el seguimiento. Posteriormente, se realizará un análisis estadístico multivariado, incluyendo los niveles de inmunoglobulinas, para valorar los factores de riesgo independientes de infección por CMV y por virus BK. Por otra parte, se realizará un estudio de biomarcadores en orina mediante técnicas de proteómica para intentar realizar el diagnóstico de la nefropatía por virus BK mediante técnicas no invasivas.

## **Estudio disfunción crónica del injerto y virus respiratorios en trasplante de pulmón:**

Después de conocer los resultados de este estudio, se ha abierto una nueva línea de investigación. Se trata de un proyecto para poder determinar biomarcadores pronósticos de DCI tras la infección de vías respiratorias bajas en los receptores de trasplante de pulmón. El doctorando ha participado activamente tanto en el diseño de este nuevo proyecto como en el desarrollo del mismo. Para poder realizar este estudio el equipo investigador liderado por el Dr Oscar Len obtuvo financiación competitiva en una convocatoria de proyectos de investigación de Mutua Madrileña con el proyecto titulado “Determinación de biomarcadores pronósticos de disfunción crónica del injerto tras infección vírica del tracto respiratorio inferior en receptores de trasplante pulmonar”. Este proyecto ya ha sido aprobado por el CEIm de nuestro centro con el código (PR(AG)127-2018) y se inició en marzo de 2019.

Se trata de un estudio observacional prospectivo con un seguimiento de 3 años, llevado a cabo de forma conjunta en el hospital Doce de Octubre de Madrid y nuestro centro, en el que se evaluará la utilidad de diferentes biomarcadores inflamatorios para pronosticar la aparición de DCI en una cohorte de trasplantados pulmonares. La hipótesis es que existe un perfil de biomarcadores pronósticos de la aparición de DCI pulmonar tras la infección del tracto respiratorio inferior por virus respiratorios.

Para poder analizar tal hipótesis se realizará un estudio caso-control. Se realizará un seguimiento de los trasplantados de pulmón que presenten infección de las vías respiratorias bajas por virus respiratorios. Se incluirán como casos los pacientes que desarrollen DCI y como controles los pacientes que no desarrollen esta entidad. A tal efecto, se procederá a analizar los biomarcadores proteicos mediante técnica de proteómica en muestras de BAL. Para determinar los biomarcadores a través de la técnica de la proteómica usaremos una comparación cuantitativa entre muestras. Los mejores candidatos proteicos para actuar como biomarcadores pronósticos serán

escogidos entre aquéllos con mayor diferencia cuantitativa y estadísticamente significativa entre los tres grupos mediante análisis de ANOVA.

Además, también se realizarán determinaciones de citoquinas y quimioquinas en muestras sanguíneas. Se utilizará un modelo de efectos mixtos lineales para determinar la presencia de asociaciones significativas entre cada una de las concentraciones de citoquinas y/o quimioquinas y la DCI. La DCI y el centro de procedencia del paciente serán considerados por el modelo como efectos fijos y al propio paciente como efecto aleatorio. La asociación con la DCI se corroborará con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney tras asumir una distribución sesgada de los datos.

Los resultados de este estudio podrían tener un impacto muy importante en el manejo de estos pacientes. El hallazgo de un biomarcador y/o perfil de biomarcadores que pronostiquen la aparición de DCI permitiría optimizar el tratamiento inmunosupresor y diseñar estrategias preventivas para evitar dicha complicación en los receptores de trasplante de pulmón.

#### **Estudio aislamiento de *Corynebacterium* spp. en muestras respiratorias en receptores de trasplante pulmonar:**

Tras los resultados de este estudio se han abierto varias líneas de investigación. Por una parte, el grupo de investigación está analizando el papel que juegan los antibióticos nebulizados en los receptores de pacientes de pulmón con aislamiento de *Corynebacterium* spp, especialmente en pacientes portadores de una prótesis bronquial. El antibiótico nebulizado frente a bacterias Gram positivas que más hemos utilizado es la tobramicina, de tal forma que estamos realizando determinaciones repetidas de las CMI de tobramicina en las cepas de *Corynebacterium* spp. de estos pacientes. Nuestra idea es analizar las CMI de estas bacterias a tobramicina para

valorar su evolución durante el tratamiento antibiótico nebulizado y estudiar los mecanismos de resistencia que desarrollen estas bacterias. Además, queremos estudiar el efecto del tratamiento con tobramicina nebulizada en la evolución clínica de estos pacientes.

Por otra parte, a raíz de nuestro estudio se ha planteado la posibilidad de utilizar otros tratamientos antibióticos nebulizados en estos pacientes. Uno de estos antibióticos que se ha utilizado en pacientes críticos (152–154) y en pacientes con fibrosis quística (155–157), es la vancomicina nebulizada. Sin embargo, todavía faltan datos sobre su efectividad, así como sus características farmacocinéticas tras la administración nebulizada. Otro fármaco que podría ser útil es linezolid, pero no existe experiencia clínica y los estudios se limitan a modelos *in vitro* (158,159).

Por estos motivos, el objetivo de otro nuevo estudio de investigación es valorar la efectividad y seguridad de estos antibióticos por vía nebulizada en el tratamiento de las infecciones de prótesis bronquiales por *Corynebacterium* spp. Para ello, se realizarán niveles de estos antibióticos tanto en el BAL como en plasma. Asimismo, para detectar los niveles del antibiótico en el líquido de recubrimiento epitelial se utilizará la fracción de urea plasmática respecto a la urea en el BAL, y se multiplicará por los niveles del antibiótico en el BAL. Conocer la farmacocinética de estos antibióticos podría permitir optimizar su uso para intentar curar o al menos controlar las infecciones de las prótesis bronquiales por *Corynebacterium* spp.

Finalmente, el equipo de trasplante de pulmón ha empezado a colocar prótesis bronquiales biodegradables en estos pacientes. Existen datos preliminares sobre la eficacia de estas prótesis (160–162) y es posible que el riesgo de infección sea menor que en las prótesis metálicas. Nuestra intención es analizar si la presencia de estas prótesis biodegradables puede evitar la aparición de infecciones por bacterias que producen biopelículas como *Corynebacterium* spp. Por este motivo, se abre la

posibilidad de realizar un nuevo estudio comparando las infecciones de los pacientes portadores de una prótesis metálica respecto a una prótesis biodegradable.



## 9. Bibliografía

1. Green M. Introduction: Infections in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13(s4):3–8.
2. Fishman JA. Infection in Organ Transplantation. *Am J Transplant*. 2017 Apr;17(4):856–79.
3. Fishman JA. From the classic concepts to modern practice. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:4–9.
4. Sanbonmatsu Gámez S, Ruiz MP, Navarro Marí JM. [Infection by human cytomegalovirus]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32 Suppl 1:15–22.
5. Staras SAS, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF, Cannon MJ. Seroprevalence of Cytomegalovirus Infection in the United States, 1988-1994. *Clin Infect Dis*. 2006;43(9):1143–51.
6. Lumbreras C, Manuel O, Len O, ten Berge IJM, Sgarabotto D, Hirsch H. Cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:19–26.
7. Torre-Cisneros J, Aguado JM, Caston JJ, Almenar L, Alonso A, Cantisán S, et al. Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients: SET/GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations. *Transplant Rev*. 2016;30(3):119–43.
8. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, Josephson F, Lundgren J, Nichols G, et al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials. Snyderman DR, editor. *Clin Infect Dis*. 2017;64(1):87–91.
9. Razonable R, Humar A. Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:93–106.
10. Martin-Gandul C, Mueller NJ, Pascual M, Manuel O. The impact of infection

on chronic allograft dysfunction and allograft survival after solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2015;15(12):3024–40.

11. Razonable RR, Rivero A, Rodriguez A, Wilson J, Daniels J, Jenkins G, et al. Allograft rejection predicts the occurrence of late-onset cytomegalovirus (CMV) disease among CMV-mismatched solid organ transplant patients receiving prophylaxis with oral ganciclovir. *J Infect Dis.* 2001(11);184:1461–4.

12. Lee Y-M, Kim YH, Han DJ, Park S-K, Park JS, Sung H, et al. Cytomegalovirus infection after acute rejection therapy in seropositive kidney transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2014;16(3):397–402.

13. Santos CAQ, Brennan DC, Fraser VJ, Olsen MA. Delayed-onset cytomegalovirus disease coded during hospital readmission after kidney transplantation. *Transplantation.* 2014;98(2):187–94.

14. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900–31.

15. Carbone J. The Immunology of Posttransplant CMV Infection: Potential Effect of CMV Immunoglobulins on Distinct Components of the Immune Response to CMV. *Transplantation.* 2016;100 Suppl:S11-8.

16. Kaminski H, Fishman JA. The Cell Biology of Cytomegalovirus: Implications for Transplantation. *Am J Transplant.* 2016;16(8):2254–69.

17. Florescu DF, Kalil AC, Qiu F, Schmidt CM, Sandkovsky U. What is the impact of hypogammaglobulinemia on the rate of infections and survival in solid organ transplantation? A meta-analysis. *Am J Transplant.* 2013;13(10):2601–10.

18. Sarmiento E, Jaramillo M, Calahorra L, Fernandez-Yañez J, Gomez-Sanchez

M, Crespo-Leiro MG, et al. Evaluation of humoral immunity profiles to identify heart recipients at risk for development of severe infections: A multicenter prospective study. *J Hear lung Transplant*. 2017;36(5):529–39.

19. Goldfarb NS, Avery RK, Goormastic M, Mehta AC, Schilz R, Smedira N, et al. Hypogammaglobulinemia in lung transplant recipients. *Transplantation*. 2001;71(2):242–6.

20. Sarmiento E, Cifrian J, Calahorra L, Bravo C, Lopez S, Laporta R, et al. Monitoring of early humoral immunity to identify lung recipients at risk for development of serious infections: A multicenter prospective study. *J Hear Lung Transplant*. 2018;37:1001–12.

21. Sarmiento E, Diez P, Arraya M, Jaramillo M, Calahorra L, Fernandez-Yañez J, et al. Early intravenous immunoglobulin replacement in hypogammaglobulinemic heart transplant recipients: results of a clinical trial. *Transpl Infect Dis*. 2016;18(6):832–43.

22. Sarmiento E, Fernández-Yañez J, Muñoz P, Palomo J, Rodríguez-Molina JJ, Bermejo J, et al. Hypogammaglobulinemia after heart transplantation: use of intravenous immunoglobulin replacement therapy in relapsing CMV disease. *Int Immunopharmacol*. 2005;5(1):97–101.

23. Carbone J, Sarmiento E, Del Pozo N, Rodriguez-Molina JJ, Navarro J, Fernandez-Yañez J, et al. Restoration of humoral immunity after intravenous immunoglobulin replacement therapy in heart recipients with post-transplant antibody deficiency and severe infections. *Clin Transplant*. 2012;26(3):E277-83.

24. Yamani MH, Avery R, Mawhorter SD, McNeill A, Cook D, Ratliff NB, et al. The impact of CytoGam on cardiac transplant recipients with moderate hypogammaglobulinemia: a randomized single-center study. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24(11):1766–9.

25. Yamani MH, Avery R, Mawhorter S, Young JB, McNeill A, Cook DJ, et al. Hypogammaglobulinemia after heart transplantation: impact of pre-emptive use of immunoglobulin replacement (CytoGam) on infection and rejection outcomes. *Transpl Infect Dis.* 2001;3 Suppl 2:40–3.
26. Couzi L, Pitard V, Moreau J-F, Merville P, Déchanet-Merville J. Direct and Indirect Effects of Cytomegalovirus-Induced  $\gamma\delta$  T Cells after Kidney Transplantation. *Front Immunol.* 2015;6:3.
27. Bachelet T, Couzi L, Pitard V, Sicard X, Rigotherier C, Lepreux S, et al. Cytomegalovirus-responsive  $\gamma\delta$  T cells: novel effector cells in antibody-mediated kidney allograft microcirculation lesions. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(11):2471–82.
28. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant.* 2012;12(2):388–99.
29. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen J-P, Suberbielle C, Anglicheau D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet.* 2013;381(9863):313–9.
30. Baldwin WM, Valujskikh A, Fairchild RL. Mechanisms of antibody-mediated acute and chronic rejection of kidney allografts. *Curr Opin Organ Transplant.* 2016;21:7–14.
31. Gosset C, Lefaucheur C, Glotz D. New insights in antibody-mediated rejection. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014;23(6):597–604.
32. DeCaprio JA, Garcea RL. A cornucopia of human polyomaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11:264–76.
33. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin*

Microbiol Rev. 2017;30(2):503–28.

34. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2002;347(7):488–96.

35. Schold JD, Rehman S, Kayle LK, Kayler LK, Magliocca J, Srinivas TR, et al. Treatment for BK virus: incidence, risk factors and outcomes for kidney transplant recipients in the United States. *Transpl Int*. 2009;22(6):626–34.

36. Borni-Duval C, Caillard S, Olagne J, Perrin P, Braun-Parvez L, Heibel F, et al. Risk factors for BK virus infection in the era of therapeutic drug monitoring. *Transplantation*. 2013;95(12):1498–505.

37. Wunderink HF, van der Meijden E, van der Blij-de Brouwer CS, Mallat MJK, Haasnoot GW, van Zwet EW, et al. Pretransplantation Donor-Recipient Pair Seroreactivity Against BK Polyomavirus Predicts Viremia and Nephropathy After Kidney Transplantation. *Am J Transplant*. 2017;17(1):161–72.

38. Kuypers DRJ. Management of polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(7):390-402.

39. Hirsch HH, Randhawa P, AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:179–88.

40. Pham P-T, Schaenman J, Pham P-C. BK virus infection following kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014;19(4):401–12.

41. Dharnidharka VR, Cherikh WS, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. *Transplantation*. 2009;87(7):1019–26.

42. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, Buser A, Samaridis J, Stebler C, et al.

Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis.* 2009;199(6):837–46.

43. Gottlieb J. Community-acquired respiratory viruses. *Semin Respir Crit Care Med.* 2018;39(2):213–8.

44. Manuel O, Estabrook M, AST Infectious Diseases Community of Practice. RNA respiratory viruses in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13(s4):212–9.

45. Vilchez RA, McCurry K, Dauber J, Lacono A, Griffith B, Fung J, et al. Influenza virus infection in adult solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2002;2(3):287–91.

46. Bridevaux P-O, Aubert J-D, Soccac PM, Mazza-Stalder J, Berutto C, Rochat T, et al. Incidence and outcomes of respiratory viral infections in lung transplant recipients: a prospective study. *Thorax.* 2014;69(1):32–8.

47. Gerna G, Vitulo P, Rovida F, Lilleri D, Pellegrini C, Oggionni T, et al. Impact of human metapneumovirus and human cytomegalovirus versus other respiratory viruses on the lower respiratory tract infections of lung transplant recipients. *J Med Virol.* 2006;78(3):408–16.

48. Manuel O, Pascual M, Hoschler K, Giulieri S, Alves D, Ellefsen K, et al. Humoral Response to the Influenza A H1N1/09 Monovalent AS03-Adjuvanted Vaccine in Immunocompromised Patients. *Clin Infect Dis.* 2011;52(2):248–56.

49. Schuurmans MM, Tini GM, Dalar L, Fretz G, Benden C, Boehler A. Pandemic 2009 H1N1 influenza virus vaccination in lung transplant recipients: coverage, safety and clinical effectiveness in the Zurich cohort. *J Heart Lung Transplant.* 2011;30(6):685–90.

50. Kumar D, Ferreira VH, Blumberg E, Silveira F, Cordero E, Perez-Romero P,

et al. A 5-Year Prospective Multicenter Evaluation of Influenza Infection in Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 2018;67(9):1322–9.

51. Vilchez RA, McCurry K, Dauber J, Iacono A, Keenan R, Zeevi A, et al. The Epidemiology of Parainfluenza Virus Infection in Lung Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 2001;33(12):2004–8.

52. Vilchez R, McCurry K, Dauber J, Iacono A, Keenan R, Griffith B, et al. Influenza and parainfluenza respiratory viral infection requiring admission in adult lung transplant recipients. *Transplantation*. 2002;73(7):1075–8.

53. Kumar D, Erdman D, Keshavjee S, Peret T, Tellier R, Hadjiliadis D, et al. Clinical Impact of Community-Acquired Respiratory Viruses on Bronchiolitis Obliterans After Lung Transplant. *Am J Transplant*. 2005;5(8):2031–6.

54. Sayah DM, Koff JL, Leard LE, Hays SR, Golden JA, Singer JP. Rhinovirus and other respiratory viruses exert different effects on lung allograft function that are not mediated through acute rejection. *Clin Transplant*. 2013;27(1):E64-71.

55. Chambers DC, Yusen RD, Cherikh WS, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Khusch K, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Lung And Heart-Lung Transplantation Report—2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *J Hear Lung Transplant*. 2017;36(10):1047–59.

56. Gregson AL. Infectious triggers of chronic lung allograft dysfunction. *Curr Infect Dis Rep*. 2016;18(7):21.

57. Ruttens D, Verleden SE, Bijmans EM, Winckelmans E, Gottlieb J, Warnecke G, et al. An association of particulate air pollution and traffic exposure with mortality after lung transplantation in Europe. *Eur Respir J*. 2017;49(1):1600484.

58. Vu D-L, Bridevaux P-O, Aubert J-D, Soccal PM, Kaiser L. Respiratory viruses

in lung transplant recipients: a critical review and pooled analysis of clinical studies. *Am J Transplant*. 2011;11(5):1071–8.

59. Fisher CE, Preiksaitis CM, Lease ED, Edelman J, Kirby KA, Leisenring WM, et al. Symptomatic respiratory virus infection and chronic lung allograft dysfunction. *Clin Infect Dis*. 2016;62(3):313–9.

60. Allyn PR, Duffy EL, Humphries RM, Injean P, Weigt SS, Saggarr R, et al. Graft loss and CLAD-onset is hastened by viral pneumonia after lung transplantation. *Transplantation*. 2016;100(11):2424–31.

61. Cervera C, van Delden C, Gavaldà J, Welte T, Akova M, Carratalà J, et al. Multidrug-resistant bacteria in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:49–73.

62. Aguilar-Guisado M, Gavaldà J, Ussetti P, Ramos A, Morales P, Blanes M, et al. Pneumonia after lung transplantation in the RESITRA Cohort: a multicenter prospective study. *Am J Transplant*. 2007;7(8):1989–96.

63. Riera J, Caralt B, López I, Augustin S, Roman A, Gavalda J, et al. Ventilator-associated respiratory infection following lung transplantation. *Eur Respir J*. 2015;45(3):726–37.

64. Vos R, Vanaudenaerde BM, Geudens N, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, Verleden GM. Pseudomonal airway colonisation: risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation? *Eur Respir J*. 2008;31:1037–45.

65. Botha P, Archer L, Anderson RL, Lordan J, Dark JH, Corris PA, et al. *Pseudomonas aeruginosa* colonization of the allograft after lung transplantation and the risk of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation*. 2008;85(5):771–4.

66. Gottlieb J, Mattner F, Weissbrodt H, Dierich M, Fuehner T, Strueber M, et al. Impact of graft colonization with gram-negative bacteria after lung transplantation on

the development of bronchiolitis obliterans syndrome in recipients with cystic fibrosis. *Respir Med.* 2009;103(5):743–9.

67. Gregson AL, Wang X, Weigt SS, Palchevskiy V, Lynch JP, Ross DJ, et al. Interaction between *Pseudomonas* and CXC chemokines increases risk of bronchiolitis obliterans syndrome and death in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:518–26.

68. Verleden SE, Ruttens D, Vandermeulen E, Vaneylen A, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and restrictive allograft syndrome: do risk factors differ? *Transplantation.* 2013;95(9):1167–72.

69. van Duin D, van Delden C, AST Infectious Diseases Community of Practice. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria Infections in Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13 Suppl 4:31–41.

70. Lobo LJ, Noone PG. Respiratory infections in patients with cystic fibrosis undergoing lung transplantation. *Lancet Respir Med.* 2014;2(1):73–82.

71. Lay C, Law N, Holm AM, Benden C, Aslam S. Outcomes in cystic fibrosis lung transplant recipients infected with organisms labeled as pan-resistant: An ISHLT Registry-based analysis. *J Heart Lung Transplant.* 2019;38(5):545–52.

72. Alexander BD, Petzold EW, Reller LB, Palmer SM, Davis RD, Woods CW, et al. Survival After Lung Transplantation of Cystic Fibrosis Patients Infected with *Burkholderia cepacia* Complex. *Am J Transplant.* 2008;8(5):1025–30.

73. De Soyza A, Meachery G, Hester KLM, Nicholson A, Parry G, Tocewicz K, et al. Lung transplantation for patients with cystic fibrosis and *Burkholderia cepacia* complex infection: a single-center experience. *J Hear lung Transplant.* 2010;29(12):1395–404.

74. Murray S, Charbeneau J, Marshall BC, LiPuma JJ. Impact of *Burkholderia*

Infection on Lung Transplantation in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178(4):363–71.

75. Bartoletti M, Giannella M, Tedeschi S, Viale P. Multidrug-Resistant Bacterial Infections in Solid Organ Transplant Candidates and Recipients. *Infect Dis Clin North Am.* 2018;32(3):551–80.

76. Bernard K. The Genus *Corynebacterium* and Other Medically Relevant Coryneform-Like Bacteria. *J Clin Microbiol.* 2012;50(10):3152–8.

77. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(1):125–59.

78. Noussair L, Salomon E, El Sayed F, Duran C, Bouchand F, Roux A-L, et al. Monomicrobial bone and joint infection due to *Corynebacterium striatum*: literature review and amoxicillin-rifampin combination as treatment perspective. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019 Mar 22;[Epub ahead of print].

79. Bittar F, Cassagne C, Bosdure E, Stremler N, Dubus JC, Sarles J, et al. Outbreak of *corynebacterium pseudodiphtheriticum* infection in cystic fibrosis patients, France. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(8):1231–6.

80. Díez-Aguilar M, Ruiz-Garbajosa P, Fernández-Olmos A, Guisado P, Campo R, Quereda C, et al. Non-diphtheriae *Corynebacterium* species: an emerging respiratory pathogen. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32(6):769–72.

81. Verroken A, Bauraing C, Deplano A, Bogaerts P, Huang D, Wauters G, et al. Epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* at one Belgian university hospital. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(1):44–50.

82. Renom F, Garau M, Rubi M, Ramis F, Galmes A, Soriano JB. Nosocomial Outbreak of *Corynebacterium striatum* Infection in Patients with Chronic Obstructive

Pulmonary Disease. *J Clin Microbiol.* 2007;45(6):2064–7.

83. Renom F, Gomila M, Garau M, Gallegos MDC, Guerrero D, Lalucat J, et al. Respiratory infection by *Corynebacterium striatum*: epidemiological and clinical determinants. *New microbes new Infect.* 2014;2(4):106–14.

84. Ahmed K, Kawakami K, Watanabe K, Mitsushima H, Nagatake T, Matsumoto K. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a respiratory tract pathogen. *Clin Infect Dis.* 1995;20(1):41–6.

85. Manzella JP, Kellogg JA, Parsey KS. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a respiratory tract pathogen in adults. *Clin Infect Dis.* 1995;20(1):37–40.

86. Nhan T-X, Parienti J-J, Badiou G, Leclercq R, Cattoir V. Microbiological investigation and clinical significance of *Corynebacterium* spp. in respiratory specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74(3):236–41.

87. Sierra JM, Martinez-Martinez L, Vázquez F, Giralt E, Vila J. Relationship between mutations in the *gyrA* gene and quinolone resistance in clinical isolates of *Corynebacterium striatum* and *Corynebacterium amycolatum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(5):1714–9.

88. Ortiz-Pérez A, Martín-de-Hijas NZ, Esteban J, Fernández-Natal MI, García-Cía JI, Fernández-Roblas R. High frequency of macrolide resistance mechanisms in clinical isolates of *Corynebacterium* species. *Microb Drug Resist.* 2010;16(4):273–7.

89. Hinić V, Lang C, Weisser M, Straub C, Frei R, Goldenberger D. *Corynebacterium tuberculostearicum*: A potentially misidentified and multiresistant *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2012;50(8):2561–7.

90. Hahn WO, Werth BJ, Butler-Wu SM, Rakita RM. Multidrug-Resistant *Corynebacterium striatum* Associated with Increased Use of Parenteral Antimicrobial

Drugs. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(11).

91. Goldner NK, Bulow C, Cho K, Wallace M, Hsu F-F, Patti GJ, et al. Mechanism of High-Level Daptomycin Resistance in *Corynebacterium striatum*. Bradford PA, editor. *mSphere.* 2018;3(4).

92. McElvania TeKippe E, Thomas BS, Ewald GA, Lawrence SJ, Burnham C-AD. Rapid emergence of daptomycin resistance in clinical isolates of *Corynebacterium striatum*... a cautionary tale. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(12):2199–205.

93. Werth BJ, Hahn WO, Butler-Wu SM, Rakita RM. Emergence of High-Level Daptomycin Resistance in *Corynebacterium striatum* in Two Patients with Left Ventricular Assist Device Infections. *Microb Drug Resist.* 2016;22(3):233–7.

94. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268–81.

95. McMullen AR, Anderson N, Wallace MA, Shupe A, Burnham C-AD. When Good Bugs Go Bad: Epidemiology and Antimicrobial Resistance Profiles of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Multidrug-Resistant, Opportunistic Pathogen. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11).

96. Nudel K, Zhao X, Basu S, Dong X, Hoffmann M, Feldgarden M, et al. Genomics of *Corynebacterium striatum*, an emerging multidrug-resistant pathogen of immunocompromised patients. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(9):1016.e7-1016.e13.

97. Martínez-Martínez L, Suárez AI, Rodríguez-Baño J, Bernard K, Muniáin MA. Clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from human samples. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3(6):634–9.

98. Burke GJ, Malouf MA, Glanville AR. Opportunistic lung infection with

*Corynebacterium pseudodiphtheriticum* after lung and heart transplantation. *Med J Aust.* 1997;166(7):362–4.

99. Tarr PE, Stock F, Cooke RH, Fedorko DP, Lucey DR. Multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* pneumonia in a heart transplant recipient. *Transpl Infect Dis.* 2003;5(1):53–8.

100. Roy M, Ahmad S. Rare case of *Corynebacterium striatum* septic arthritis. *BMJ Case Rep.* 2016;2016:bcr-2016-216914.

101. García LS. Respiratory Tract Cultures. En: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Tercera edición. Washington DC: ASM Press; 2010. p. 321–409.

102. Hill P, Cross NB, Barnett ANR, Palmer SC, Webster AC. Polyclonal and monoclonal antibodies for induction therapy in kidney transplant recipients. *Cochrane database Syst Rev.* 2017;1:CD004759.

103. Bruminhent J, Thongprayoon C, Dierkhising RA, Kremers WK, Theel ES, Razonable RR. Risk factors for cytomegalovirus reactivation after liver transplantation: can pre-transplant cytomegalovirus antibody titers predict outcome? *Liver Transplant.* 2015;21(4):539–46.

104. Vietzen H, Görzer I, Honsig C, Jaksch P, Puchhammer-Stöckl E. Association between antibody functions and human cytomegalovirus (HCMV) replication after lung transplantation in HCMV-seropositive patients. *J Hear lung Transplant.* 2017;[Epub ahead of print].

105. Carbone J, Sarmiento E, Palomo J, Fernandez-Yañez J, Muñoz P, Bouza E, et al. The potential impact of substitutive therapy with intravenous immunoglobulin on the outcome of heart transplant recipients with infections. *Transplant Proc.* 2007;39(7):2385–8.

106. García-Gallo CL, Gil PU, Laporta R, Carreño MC, de Pablo A, Ferreiro MJ. Is

Gammaglobulin Anti-CMV Warranted in Lung Transplantation? *Transplant Proc.* 2005;37(9):4043–5.

107. Loupy A, Lefaucheur C. Antibody-Mediated Rejection of Solid-Organ Allografts. Ingelfinger JR, editor. *N Engl J Med.* 2018;379(12):1150–60.

108. Kim M, Martin ST, Townsend KR, Gabardi S. Antibody-mediated rejection in kidney transplantation: a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment options. *Pharmacotherapy.* 2014;34(7):733–44.

109. Mozessohn L, Chan KKW, Feld JJ, Hicks LK. Hepatitis B reactivation in HBsAg-negative/HBcAb-positive patients receiving rituximab for lymphoma: a meta-analysis. *J Viral Hepat.* 2015;22(10):842–9.

110. Martin ST, Cardwell SM, Nailor MD, Gabardi S. Hepatitis B Reactivation and Rituximab: A New Boxed Warning and Considerations for Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant.* 2014;14(4):788–96.

111. Gentile G, Andreoni M, Antonelli G, Sarmati L. Screening, monitoring, prevention, prophylaxis and therapy for hepatitis B virus reactivation in patients with haematologic malignancies and patients who underwent haematologic stem cell transplantation: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(12):916–23.

112. Mikulska M, Lanini S, Gudiol C, Drgona L, Ippolito G, Fernández-Ruiz M, et al. ESCMID Study Group for Infections in Compromised Hosts (ESGICH) Consensus Document on the safety of targeted and biological therapies: an Infectious Diseases perspective (Agents targeting lymphoid cells surface antigens [I]: CD19, CD20 and CD52). *Clin Microbiol Infect.* 2018;24 Suppl 2:S71-S82.

113. Fraticelli P, Bagnarelli P, Tarantino G, Martino GP, Benfaremo D, Nobili L, et al. Chronic hepatitis E in a patient treated with rituximab and mycophenolate mofetil for Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(12):2275–7.

114. Marignani M, Mangone M, Cox MC, Angeletti S, Veggia B, Ferrari A, et al. HCV-positive status and hepatitis flares in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab-containing regimens. *Dig Liver Dis.* 2011;43(2):139–42.
115. Kassab S, Saghi T, Boyer A, Lafon M-E, Gruson D, Lina B, et al. Fatal case of enterovirus 71 infection and rituximab therapy, france, 2012. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(8):1345–7.
116. Barbosa D, Kahwaji J, Puliyaanda D, Mirocha J, Reinsmoen N, Lai C-H, et al. Polyomavirus BK viremia in kidney transplant recipients after desensitization with IVIG and rituximab. *Transplantation.* 2014;97(7):755–61.
117. Delbue S, Ferrareso M, Elia F, Belingheri M, Carloni C, Signorini L, et al. Investigation of polyomaviruses replication in pediatric patients with nephropathy receiving rituximab. *J Med Virol.* 2012;84:1464–70.
118. Magnusson J, Westin J, Andersson L-M, Lindh M, Brittain-Long R, Nordén R, et al. Viral respiratory tract infection during the first postoperative year is a risk factor for chronic rejection after lung transplantation. *Transplant direct.* 2018;4:e370.
119. Vilchez RA, Dauber J, McCurry K, Iacono A, Kusne S. Parainfluenza virus infection in adult lung transplant recipients: an emergent clinical syndrome with implications on allograft function. *Am J Transplant.* 2003;3(2):116–20.
120. Gottlieb J, Schulz TF, Welte T, Fuehner T, Dierich M, Simon AR, et al. Community-acquired respiratory viral infections in lung transplant recipients: a single season cohort study. *Transplantation.* 2009;87(10):1530–7.
121. Palmer SM, Henshaw NG, Howell DN, Miller SE, Davis RD, Tapson VF. Community Respiratory Viral Infection in Adult Lung Transplant Recipients. *Chest.* 1998;113(4):944–50.

122. Braciale TJ, Sun J, Kim TS. Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(4):295–305.
123. Weigt SS, Derhovanessian A, Liao E, Hu S, Gregson AL, Kubak BM, et al. CXCR3 chemokine ligands during respiratory viral infections predict lung allograft dysfunction. 2012;12(2):477–84.
124. Kohlmeier JE, Cookenham T, Miller SC, Roberts AD, Christensen JP, Thomsen AR, et al. CXCR3 directs antigen-specific effector CD4+ T cell migration to the lung during parainfluenza virus infection. *J Immunol*. 2009;183(7):4378–84.
125. Lindell DM, Lane TE, Lukacs NW. CXCL10/CXCR3-mediated responses promote immunity to respiratory syncytial virus infection by augmenting dendritic cell and CD8(+) T cell efficacy. *Eur J Immunol*. 2008;38(8):2168–79.
126. Shino MY, Weigt SS, Li N, Palchevskiy V, Derhovanessian A, Saggarr R, et al. CXCR3 ligands are associated with the continuum of diffuse alveolar damage to chronic lung allograft dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(9):1117–25.
127. Tiriveedhi V, Angaswamy N, Brand D, Weber J, Gelman AG, Hachem R, et al. A shift in the collagen V antigenic epitope leads to T helper phenotype switch and immune response to self-antigen leading to chronic lung allograft rejection. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(1):158–68.
128. Husain S, Singh N. Bronchiolitis obliterans and lung transplantation: Evidence for an infectious etiology. *Semin Respir Infect*. 2002;17(4):310–4.
129. Manuel O, Estabrook M, American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. RNA respiratory viral infections in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019;e13511.
130. Grim SA, Reid GE, Clark NM. Update in the treatment of non-influenza

respiratory virus infection in solid organ transplant recipients. *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(8):767–79.

131. Papadopoulos NG, Megremis S, Kitsioulis NA, Vangelatou O, West P, Xepapadaki P. Promising approaches for the treatment and prevention of viral respiratory illnesses. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(4):921–32.

132. Tang JW, Lam TT, Zaraket H, Lipkin WI, Drews SJ, Hatchette TF, et al. Global epidemiology of non-influenza RNA respiratory viruses: data gaps and a growing need for surveillance. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(10):e320–6.

133. Gottlieb J, Zamora MR, Hodges T, Musk AW, Sommerwerk U, Dilling D, et al. ALN-RSV01 for prevention of bronchiolitis obliterans syndrome after respiratory syncytial virus infection in lung transplant recipients. *J Hear Lung Transplant.* 2016;35(2):213–21.

134. Avery RK, Michaels MG, AST Infectious Diseases Community of Practice. Strategies for safe living following solid organ transplantation—Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019:e13519.

135. Sung AD, Sung JAM, Thomas S, Hyslop T, Gasparetto C, Long G, et al. Universal Mask Usage for Reduction of Respiratory Viral Infections After Stem Cell Transplant: A Prospective Trial. *Clin Infect Dis.* 2016;63(8):999–1006.

136. Hakki M, Strasfeld LM, Townes JM. Predictive value of testing nasopharyngeal samples for respiratory viruses in the setting of lower respiratory tract disease. *J Clin Microbiol.* 2014;52(11):4020–2.

137. Soccia PM, Aubert J -D., Bridevaux P -O., Garbino J, Thomas Y, Rochat T, et al. Upper and lower respiratory tract viral infections and acute graft rejection in lung transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2010;51(2):163–70.

138. Shankar J, Nguyen MH, Crespo MM, Kwak EJ, Lucas SK, McHugh KJ, et al. Looking Beyond Respiratory Cultures: Microbiome-Cytokine Signatures of Bacterial Pneumonia and Tracheobronchitis in Lung Transplant Recipients. *Am J Transplant*. 2016;16(6):1766–78.
139. Abreu NA, Nagalingam NA, Song Y, Roediger FC, Pletcher SD, Goldberg AN, et al. Sinus Microbiome Diversity Depletion and *Corynebacterium tuberculostearicum* Enrichment Mediates Rhinosinusitis. *Sci Transl Med*. 2012;4(151):151ra124-151ra124.
140. Van Roeden SE, Thijsen SF, Sankatsing SUC, Limonard GJM. Clinical relevance of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* in lower respiratory tract specimens. *Infect Dis (Auckl)*. 2015;47(12):862–8.
141. Knox KL, Holmes AH. Nosocomial endocarditis caused by *Corynebacterium amycolatum* and other nondiphtheriae corynebacteria. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(1):97–9.
142. Dalal A, Urban C, Segal-Maurer S. Endocarditis due to *Corynebacterium amycolatum*. *J Med Microbiol*. 2008;57:1299–302.
143. Belmares J, Detterline S, Pak JB, Parada JP. *Corynebacterium* endocarditis species-specific risk factors and outcomes. *BMC Infect Dis*. 2007;7:4.
144. Abdel-Rahman N, Kramer MR, Saute M, Raviv Y, Fruchter O. Metallic stents for airway complications after lung transplantation: long-term follow-up. *Eur J Cardio-Thoracic Surg*. 2014;45(5):854–8.
145. Yserbyt J, Dooms C, Vos R, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, Verleden GM. Anastomotic airway complications after lung transplantation: risk factors, treatment modalities and outcome-a single-centre experience. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016;49(1):e1-8.

146. Shennib H, Massard G. Airway complications in lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1994;57(2):506–11.
147. Gottlieb J, Fuehner T, Dierich M, Wiesner O, Simon AR, Welte T. Are metallic stents really safe? A long-term analysis in lung transplant recipients. *Eur Respir J.* 2009;34(6):1417–22.
148. Sundset A, Lund MB, Hansen G, Bjørtuft Ø, Kongerud J, Geiran OR. Airway Complications after Lung Transplantation: Long-Term Outcome of Silicone Stenting. *Respiration.* 2012;83(3):245–52.
149. Dutau H, Cavailles A, Sakr L, Badier M, Gaubert J-Y, Boniface S, et al. A retrospective study of silicone stent placement for management of anastomotic airway complications in lung transplant recipients: Short- and long-term outcomes. *J Hear Lung Transplant.* 2010;29(6):658–64.
150. Chandran R, Puthukkichal DR, Suman E, Mangalore SK. Diphtheroids- Important Nosocomial Pathogens. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(12):DC28–31.
151. McGinniss JE, Imai I, Simon-Soro A, Brown MC, Knecht VR, Frye L, et al. Molecular analysis of the endobronchial stent microbial biofilm reveals bacterial communities that associate with stent material and frequent fungal constituents. *PLoS One.* 2019;14(5):e0217306.
152. Palmer LB, Smaldone GC, Chen JJ, Baram D, Duan T, Monteforte M, et al. Aerosolized antibiotics and ventilator-associated tracheobronchitis in the intensive care unit\*. *Crit Care Med.* 2008;36(7):2008–13.
153. Palmer LB, Smaldone GC. Reduction of Bacterial Resistance with Inhaled Antibiotics in the Intensive Care Unit. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(10):1225–33.
154. Cho JY, Kim Y, Lee SH, Lee YJ, Park JS, Yoon H II, et al. Bronchoscopic

Improvement of Tracheobronchitis Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* After Aerosolized Vancomycin: A Case Series. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2018;31(6):372–5.

155. Kiefer A, Bogdan C, Melichar VO. Successful eradication of newly acquired MRSA in six of seven patients with cystic fibrosis applying a short-term local and systemic antibiotic scheme. *BMC Pulm Med.* 2018;18(1):20.

156. Dezube R, Jennings MT, Rykiel M, Diener-West M, Boyle MP, Chmiel JF, et al. Eradication of persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2019;18(3):357–63.

157. Kappler M, Nagel F, Feilcke M, Kröner C, Pawlita I, Naehrig S, et al. Eradication of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* detected for the first time in cystic fibrosis: A single center observational study. *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(10):1010–9.

158. van Rensburg L, van Zyl JM, Smith J. Deposition and transport of linezolid mediated by a synthetic surfactant Synsurf® within a pressurized metered dose inhaler: a Calu-3 model. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:1107–18.

159. de Jesus Valle MJ, Uranga NS, Lopez FG, Hurle AD-G, Navarro AS. Disposition of linezolid in the isolated rat lung after systemic and pulmonary drug delivery. *J Antimicrob Chemother.* 2007 60(5):1074–9.

160. Lischke R, Pozniak J, Vondrys D, Elliott MJ. Novel biodegradable stents in the treatment of bronchial stenosis after lung transplantation. *Eur J cardio-thoracic Surg.* 2011;40(3):619–24.

161. Fernandez-Bussy S, Labarca G, Majid A. Biodegradable stent for vanishing bronchus syndrome after lung transplantation. *J Hear Lung Transplant.* 2016;35(11):1378–9.

162. Gottlieb J, Fuehner T, Greer M. Biodegradable stent for vanishing bronchus syndrome after lung transplantation. *J Hear Lung Transplant*. 2017;36(5):591–2.