

Estudio epidemiológico de las infecciones por PolyomavirusBK (BKV) en receptores de trasplante renal

Marisa M. Cobos

Introducción

BKV pertenece a la familia polyomaviridae. Inicialmente se clasificó en los Subtipos I a IV, según su reactividad antigénica. Más tarde, al estudiarse el genoma viral, se identificaron las sustituciones de nucleótidos en el gen VP1 como responsables de esa diversidad inmunoserológica, dando lugar a la clasificación molecular en los subtipos I a IV y a la visualización, a través del análisis filogenético de los subgrupos dentro del subtipo 1, que están estrechamente relacionados con poblaciones humanas de ciertos grupos étnicos.

La infección primaria por BKV ocurre durante la infancia. El virus permanece latente en el urotelio, pudiendo reactivarse en situaciones inmunológicas particulares, como la importante deficiencia de inmunidad celular que presentan los pacientes sometidos a trasplante renal.

En este grupo de pacientes, el BKV, puede producir nefropatía con alto riesgo de fallo del injerto, dada la falta de tratamientos específicos (Hirsch, 2009).

Durante la reactivación puede demostrarse la excreción viral inicialmente en orina y posteriormente en sangre, previamente al desarrollo de nefropatía. El seguimiento periódico de la excreción viral y la toma de medidas preventivas, tempranas ante su identificación, pueden modificar la evolución de la infección.

El propósito de este estudio es conocer la prevalencia de variantes virales de BKV a través de métodos de desarrollo “inhouse” y su evolución clínica en receptores de trasplante renal.

Materiales y métodos

Las muestras de orina y sangre periférica de 66 receptores de trasplante renal de la provincia de Buenos Aires, Argentina, fueron analizados sistemáticamente cada tres meses, así como cuando se evidenció disfunción del injerto. Aquellas biopsias renales realizadas a pacientes por disfunción del injerto se incluyeron en el estudio para la detección de BKV.

Las muestras de tejido se trataron con proteinasa k (10 mg / ml) durante 2 horas, después de lo cual se inactiva por calor y luego se somete a extracción de ADN.

El de ADN de muestras de sangre periférica y orina fue extraído usando el método Boom (Boom, 1990), como se describe en la bibliografía.

El protocolo descrito por Takasaka en 2004, con modificaciones, se siguió para la amplificación por PCR. Se utilizaron los siguientes cebadores: 327-IPST (5'-GCCTGCAGCAAGTGCCAAAAC-TAC-TAAT-3') y 327-2HIN (5'-GCAAGCTTGCATGAAGGTTAAG-CATGC-3')

Cada amplificación se realizó en un volumen de reacción de 20 µl que contenía 2-5 µl de DNA viral, MgCl₂ 3 mM, 0,1 µM de dNTPS, 0,2 µM de cada cebador (327-1PST y 327-2HIN) y 2 Ude la ADN polimerasa Taq (Invitrogen).

La amplificación consistió en 30 ciclos: desnaturalización a 95° durante 3 minutos, recocido a 56° durante 30 segundos, extensión a 72°C durante 1 minuto y extensión final a 72° durante 5 minutos. Los productos de PCR de 287pb se detectaron con electroforesis enGel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio utilizando un transiluminador con luz UV.

Todos los productos de amplificación se purificaron con columna (Qiagen) y se secuenciaron con Método de secuenciación Sanger en un secuenciador ABI310.

Todas las secuencias obtenidas se alinearon con las secuencias de referencia obtenidas del GenBank y se analizaron con el programa BioEdit.

El análisis filogenético se realizó mediante Saitoutneighbour-joiningmethod (Takasaka, 2004) con un valor inicial de 1000.

Resultados

Se analizaron muestras de 66 pacientes, de los cuales 25 tenían muestras de orina positivas, representando el 37.87% de los estudiados.

La genotipificación mostró la siguiente distribución: 22 (88%) pertenecían al Subtipo I, 3 (12%) aSubtipo II. No se encontraron BKV pertenecientes a los subtipos III o IV.

En cuanto a los subgrupos del subtipo I, se identificaron los siguientes: 1 (4,54%) de Ia, 11 (50%) de Ib1 y 10 (45,45%) de Ib2.

No se mostró la presencia del Subgrupo Ic

Nueve pacientes (36%) presentaron viremia, con valores significativos de carga viral. En todos los casos de viremia, se realizó una reducción de la dosis o modificación del esquema inmunosupresor.

Entre los pacientes virémicos, 3 coincidieron con intercorrientes, 1 rechazo tubulointersticial y 2 complicaciones infecciosas. Uno de estos pacientes presentó pérdida de la función del injerto. Los restan-

tes 6 pacientes virémicos no mostraron interurrencias coincidentes. Uno de estos pacientes sufrió pérdida de la función de injerto.

De los 9 receptores virémicos, 7 tenían infección por genotipo Ib1 (77,77%).

En cuanto a los receptores con fallo de la función del injerto, la que coincidió con la interurrencia infecciosa fue producida por genotipo Ib2, mientras que el receptor que no coincidió con las interurrencias presentó genotipo Ib1.

Discusión

La presencia de viruria y viremia por BKV coincide con la mostrada en otros estudios nacionales e internacionales. (Schiavelli, 2014). La identificación encontrada en los subtipos, convierte al I en el predominante, mostrando una distribución similar entre los subgrupos Ib1 y Ib2, correlacionando estos datos con estudios realizados en redes de alcantarillado de nuestro país (Sosa, 2012).

La frecuencia de los subtipos y subgrupos de virus BK se podría estimar de acuerdo con la geografía de origen de la población estudiada, bajo teorías de comigración desarrolladas por otros autores (ShanZhong, 2009) (Yoshiaki, 2009).

El genotipo Ib-1 prevalece en el sudeste de Asia (ShanZhong, 2009) (Huai-Ying, 2007), mientras que Ib2 es prominente en Europa.

A pesar de que una proporción importante de los habitantes de la provincia de Buenos Aires descendientes de inmigrantes europeos, el genotipo Ib1 de origen asiático, se encontró en la misma proporción. Estos hallazgos coinciden con los publicados en Brasil (Zalona, 2011)

Como ha sido presentado por otros autores, el genotipo de origen familiar podría ser reemplazado por genotipos presentes en la comunidad (Yoshiaki, 2007). La transmisión horizontal del virus podría comenzar antes de la llegada de inmigrantes a Sudamérica.

Cabe mencionar que 6 de los 9 receptores con viremia presentaron el genotipo Ib1, un hallazgo para ser considerado al definir el seguimiento en este tipo de huéspedes.

Conclusiones

La detección de viruria y viremia permite una adaptación temprana del tratamiento inmunosupresor, un hecho importante para controlar la progresión hacia la nefropatía.

No hemos encontrado otros informes de estudios moleculares de prevalencia de BKV en receptores de trasplante renal en Argentina.

Nuestros hallazgos sugieren que las frecuencias genotípicas no pueden predecirse de acuerdo con el origen migratorio de la población en estudio y que la genotipificación podría estar relacionada con la evolución de la enfermedad en el receptor.

Bibliografía

1. Hirsch H. H. et al. (2009) "Infectious Diseases Community of Practice" *American Journal of Transplantation*, 9 (Suppl 4), S136–S146
2. Boom R. et al. (1990) "Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids" *Journal of Clinical Microbiology*, 495-503
3. Takasaka T. et al. (2004) "Subtypes of BK Virus prevalent in Japan and variation in their transcriptional control region". *Journal of General Virology*, 85, 2821 – 2827
4. Saitou N, et al. (1987) "The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees". *Mol Biol Evol*, 4, 406-425
5. Schiavelli R et al. (2014) "First Epidemiologic Study in Argentina of the Prevalence of BK Virus in Kidney Transplant Patients". *Transplantation Proceedings*, 46, 3010-3014

6. Sosa M, et al. (2012) "Detección y genotipificación filogenética de cepas de poliomavirusbk en muestras de aguas residuales de Córdoba, Argentina". *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 69, (supl.2), 119-120
7. ShanZhong et al.(2009)"Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race". *Journal of General Virology* , 90, 144-152
8. Yoshiaki Yogo et al. (2009) "Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications" *Rev. Med. Virol*, 19, 185-199
9. Huai-Ying Zheng et al. (2007)"Relationships between BK virus lineages and human populations" *Microbes and Infection*, 204-213
10. Zalona AC et al. (2011)"Molecular characterization of BK polyomavirus subtypes in renal transplant recipients in Brazil" *J Med Virol.*, 83(8), 1401-5
11. Yoshiaki Yogo et al. (2007) "Occurrence of the European subgroup of subtype I BK polyomavirus in Japanese-Americans suggests transmission outside the family". *J Virol*, 81, 13254-13258.