

Estudi de la implicació de la
lectina fixadora de manosa en el
risc i evolució de la infecció per
citomegalovirus
Beca Pumarola 2011

Gemma Sanclemente Juarros
Servei de Malalties Infeccioses
Unitat d'Infeccions en Trasplantament
Hospital Clínic Barcelona
Congrés SCMIIMC Castelldefels 2013

SISTEMA IMMUNITARI

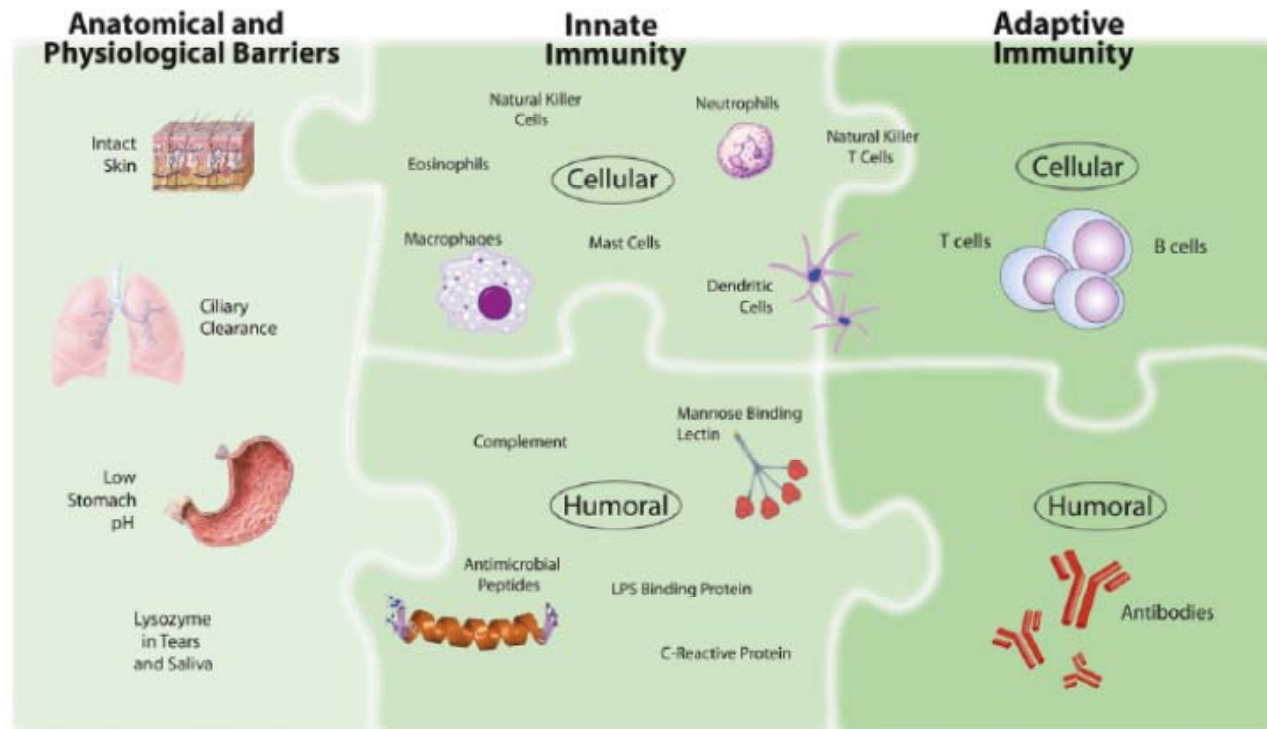
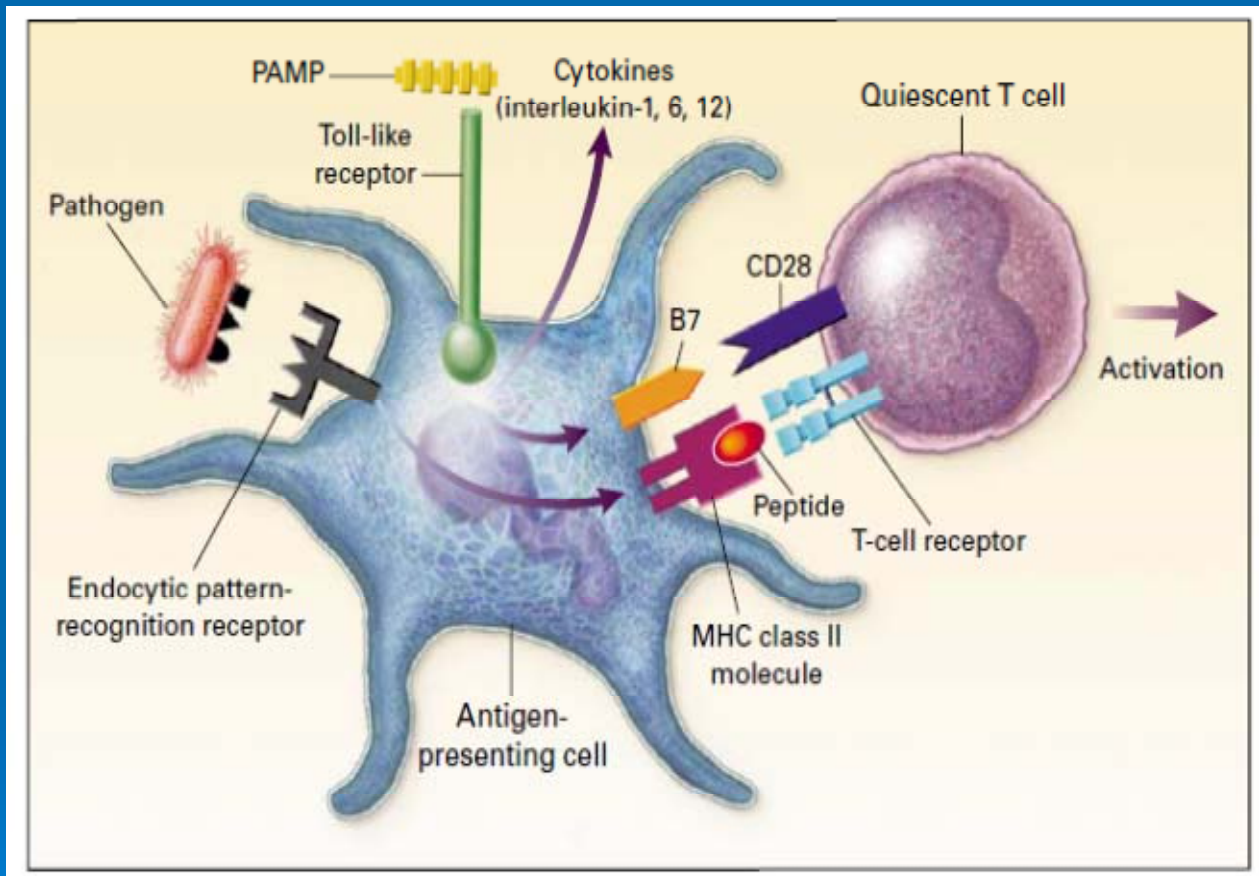


FIG 1. Integrated human immune system. The human microbial defense system can be simplistically viewed as consisting of 3 levels: (1) anatomic and physiologic barriers; (2) innate immunity; and (3) adaptive immunity. In common with many classification systems, some elements are difficult to categorize. For example, NK T cells and dendritic cells could be classified as being on the cusp of innate and adaptive immunity rather than being firmly in one camp.



Medzhitov R. NEJM 2000

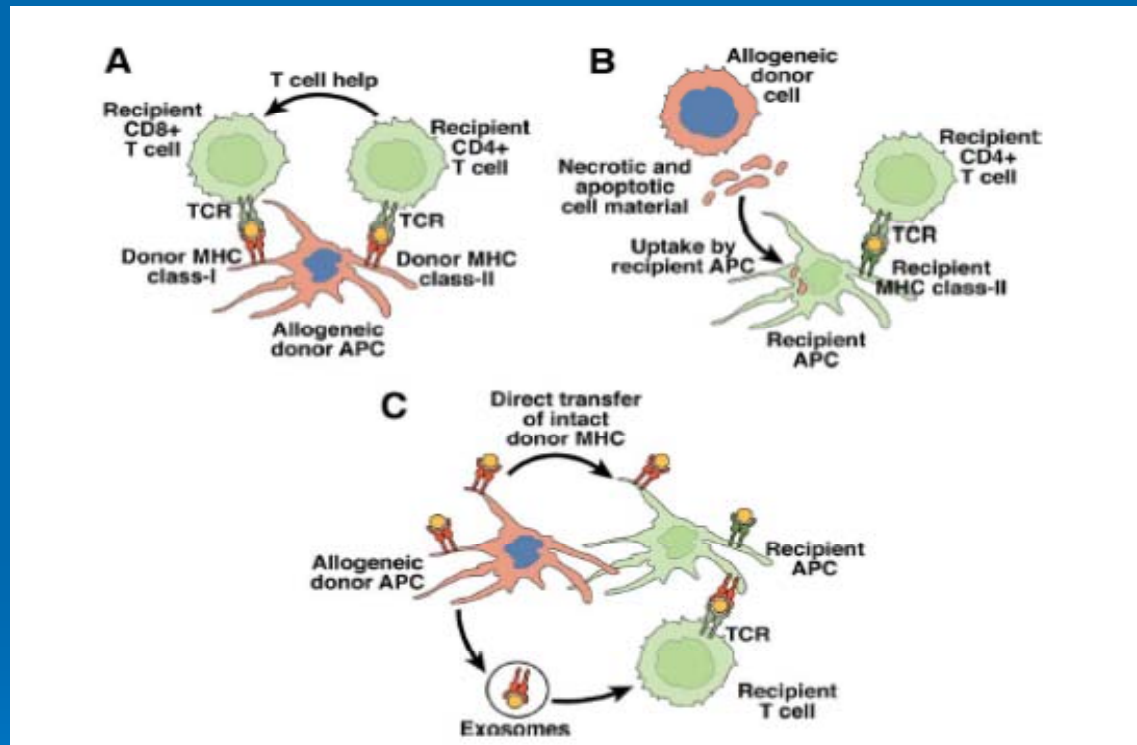
Immunosupressió



Rebuig

Infeccions

MECANISMES REBUIG

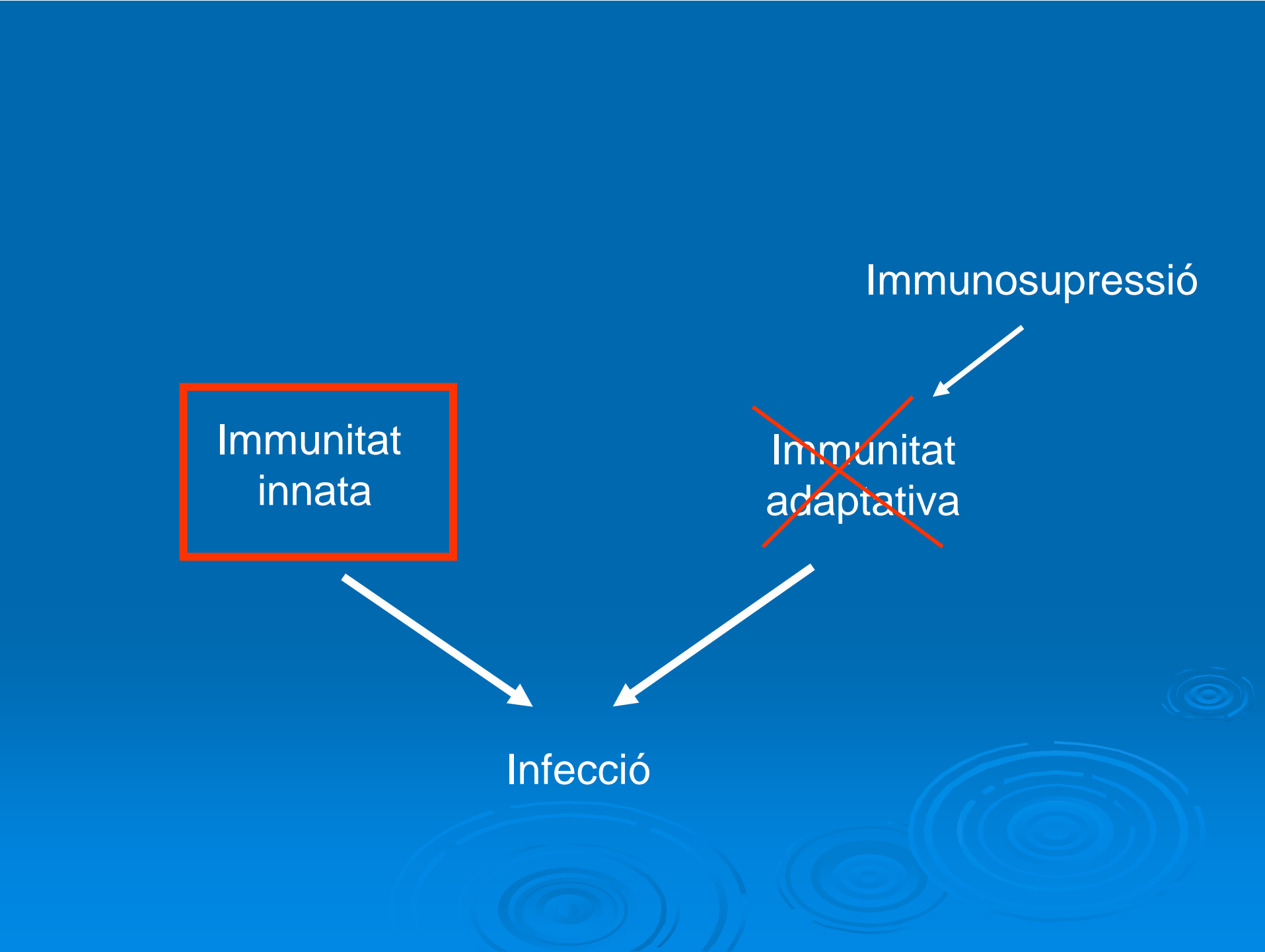


Immunitat
innata

~~Immunitat
adaptativa~~

Immunosupressió

Infecció



LECTINA FIXADORA DE MANOSA (MBL)

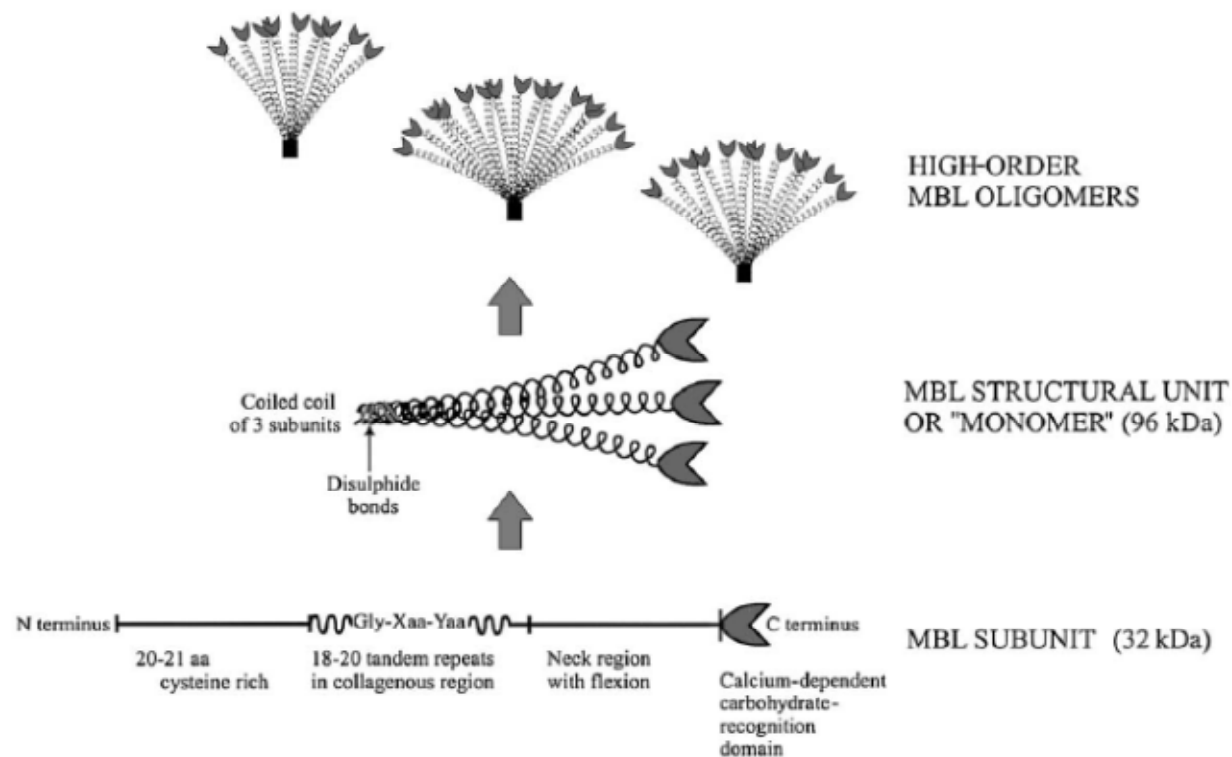
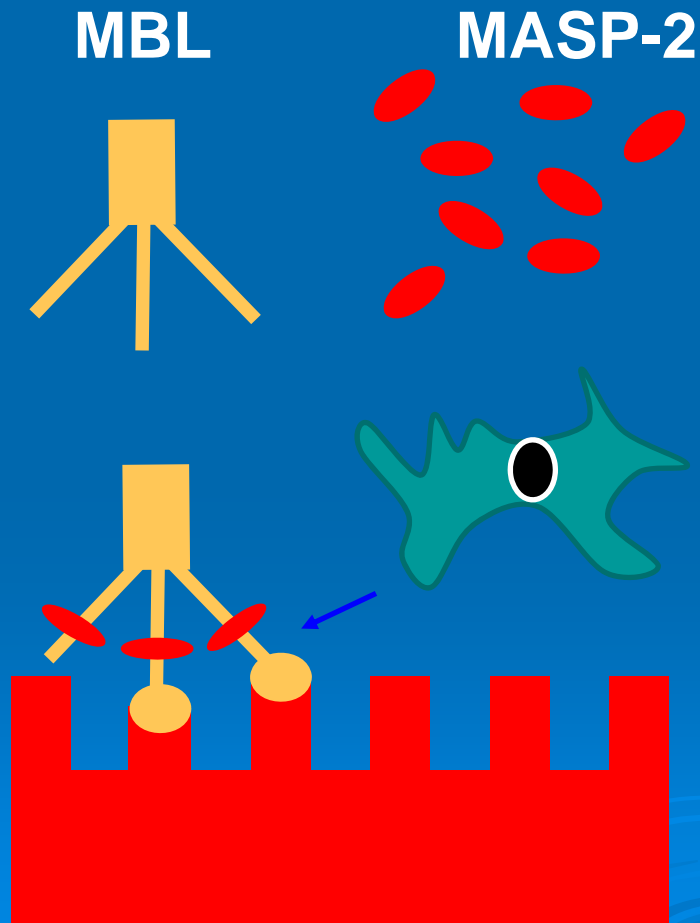


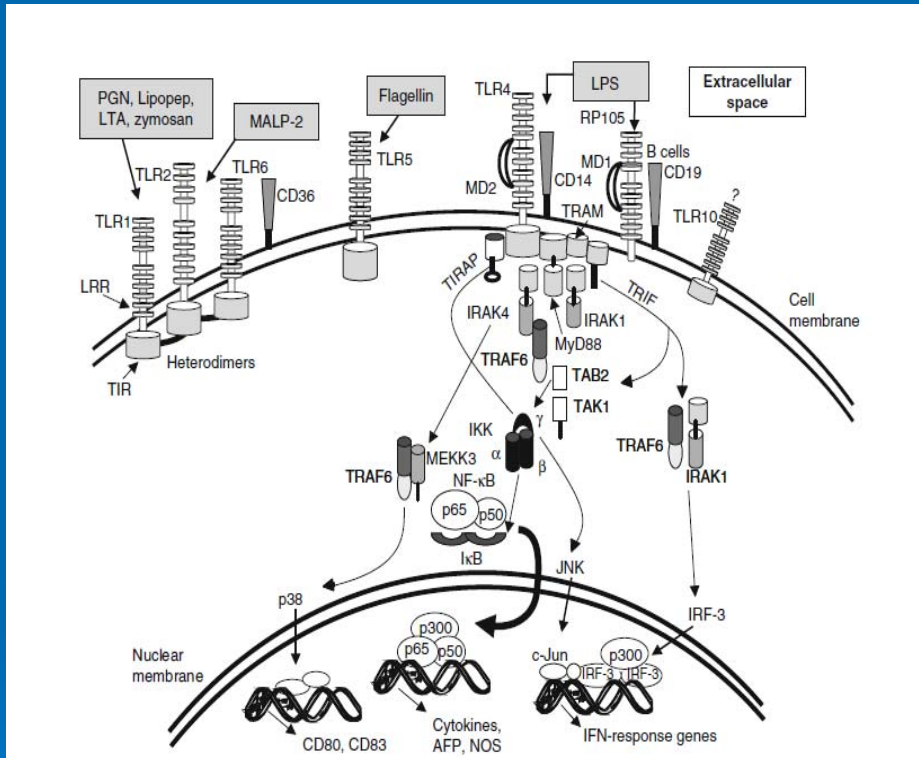
Figure 1. Mannose-binding lectin (MBL) subunit features and assembly into structural unit and high-order, functional MBL oligomers

FUNCIÓ DE MBL

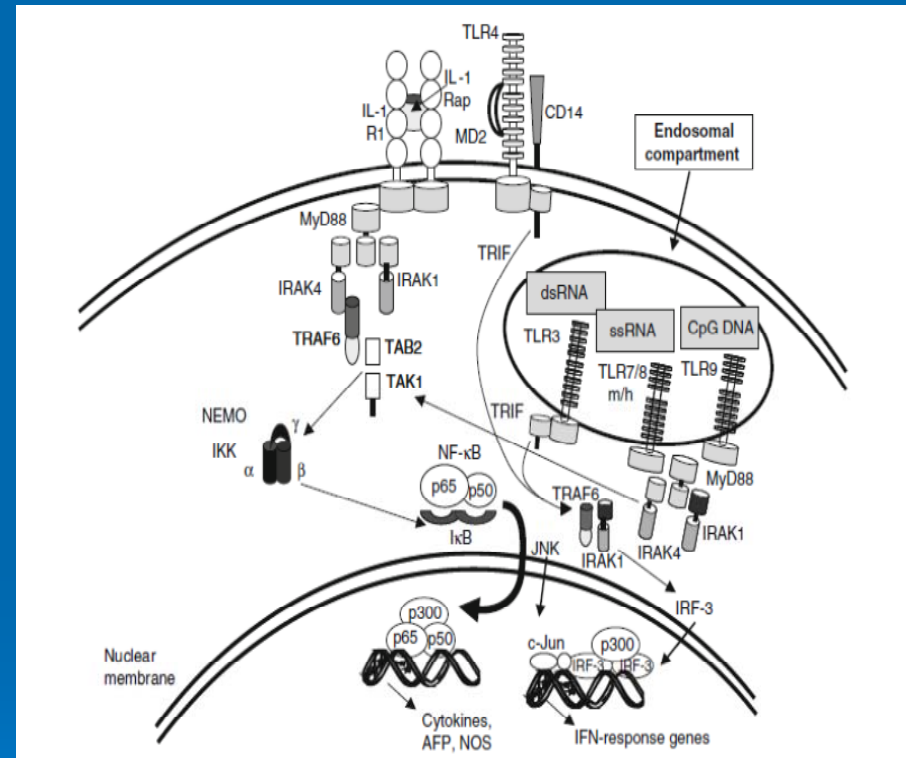


- MBL circulat es troba en forma oligomèrica (tetràmers i hexàmers)
- MBL circulat s'uneix a manose-associated serin proteases (MASP)
- El complex MBL-MASP reconeix la superfície del patogen i la unió indueix un canvi conformacional en MASP.
- MBL-MASP indueix:
 - Opsonofagocitosi directa
 - Activació del complement per la via de les lectines

RECEPTORS TIPUS TOLL (TLR)



TLR extracel-lulars



TLR intracel-lulars

OBJECTIUS

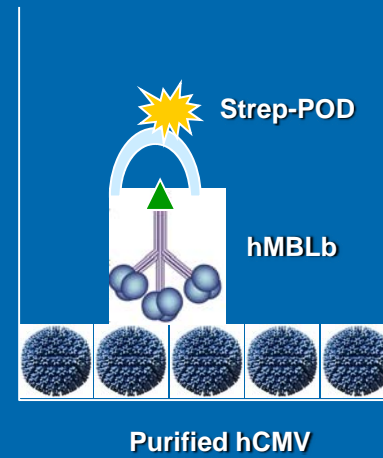
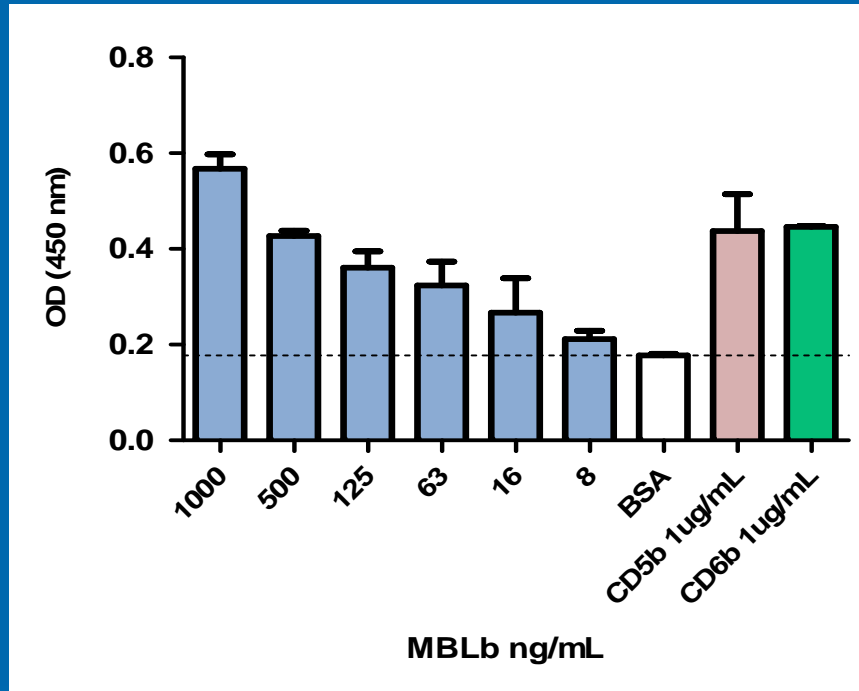
- Estudiar la incidència d'infeccions (bacterianes, virals i fúngiques) en relació a la presència de mutacions de diversos TLR i MBL en pacients amb trasplantament d'òrgan sòlid.
- Avaluar el pronòstic i gravetat de les infeccions post-trasplantament en funció de la presència de mutacions de TLR i MBL.
- Anàlisi in vitro del reconeixement de CMV per part de MBL.

ESTUDI IN VITRO

Interacció de MBL i CMV



hCMV-hMBL



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0,589	0,435	0,344	0,337	0,359	0,581*	0,318	0,224	0,249	0,175	0,383	0,445	450nm
B	0,546	0,419	0,383	0,385	0,289	0,366	0,216	0,199	0,226	0,18	0,492	0,448	

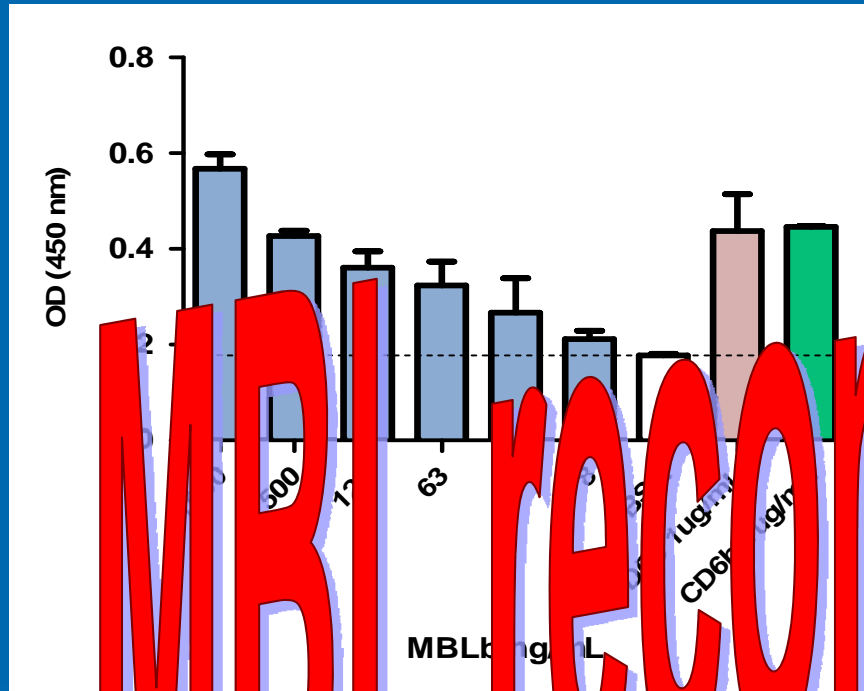
MBLb 1ug/mL

BSA
5%

CD5b

CD6b

hCMV-hMBL



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,589	0,435	0,344	0,337	0,359	0,581*	0,318	0,224	0,249	0,175	0,383	0,445
B	0,546	0,419	0,383	0,385	0,289	0,366	0,216	0,199	0,226	0,18	0,492	0,448

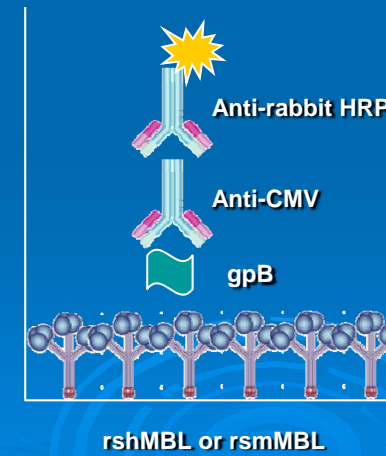
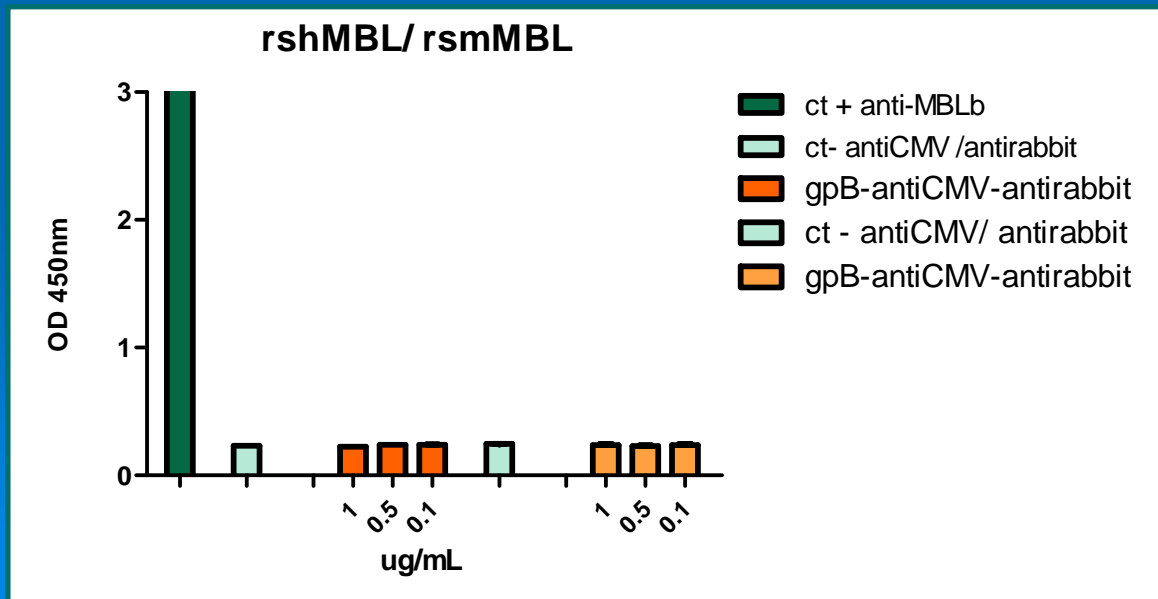
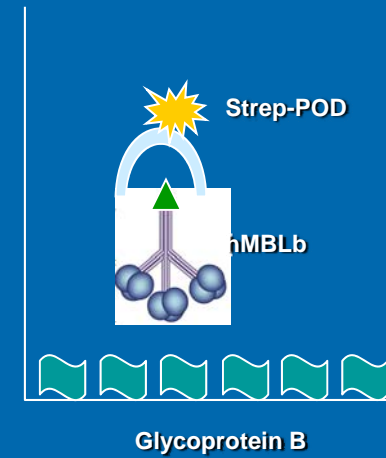
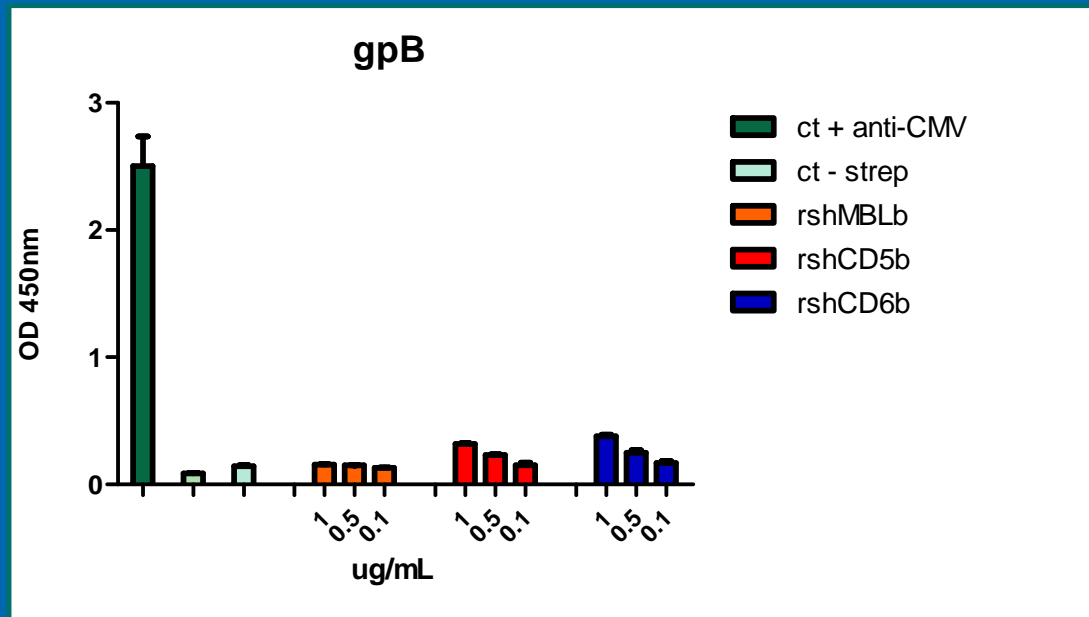
450nm

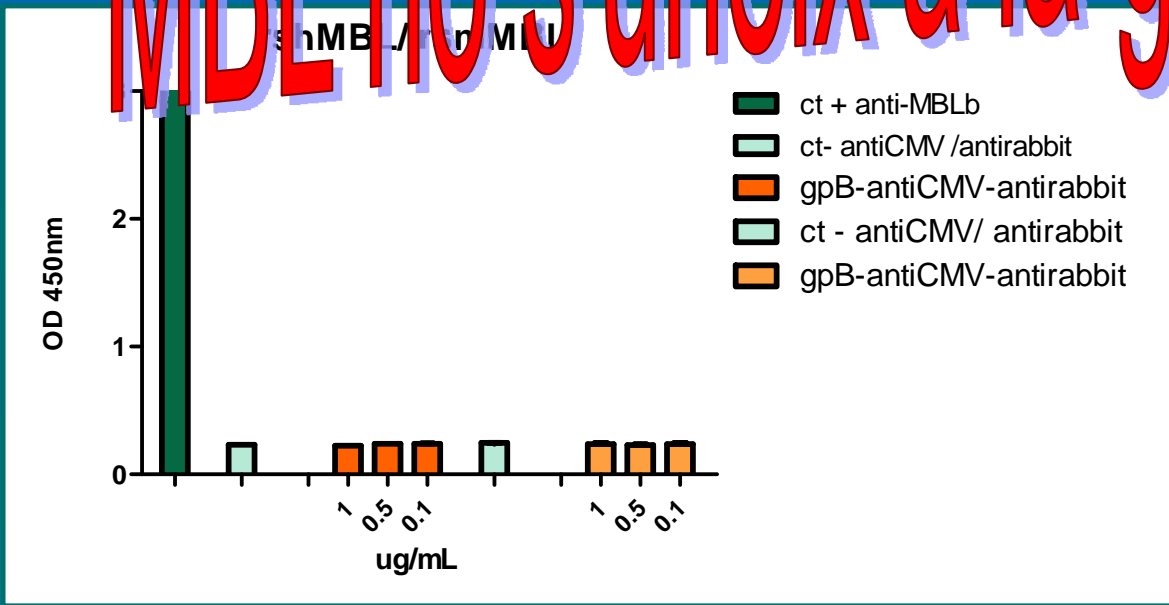
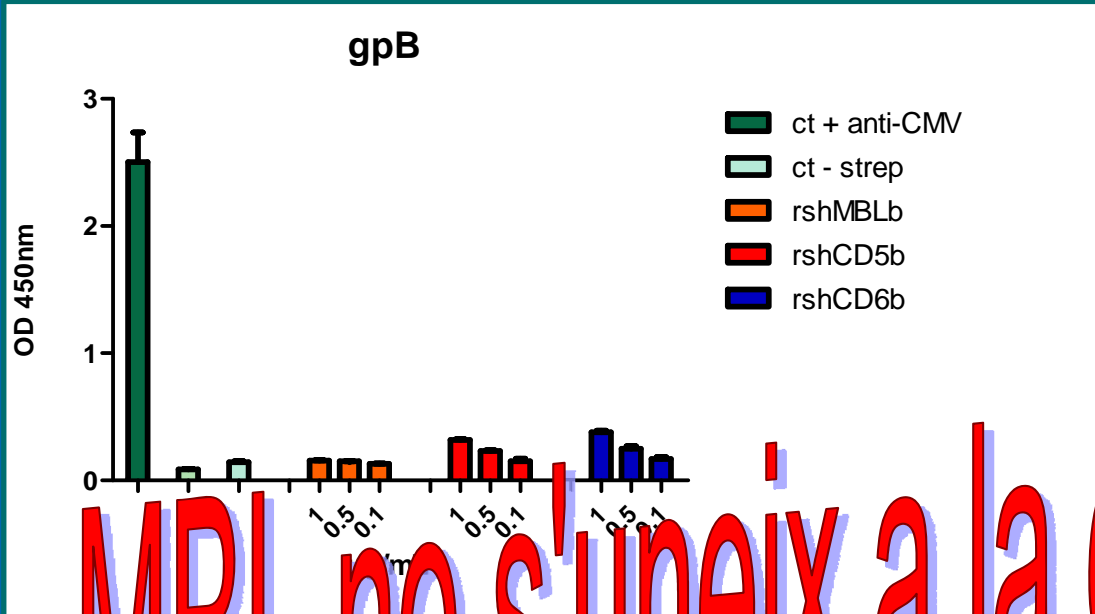
MBLb 1ug/mL

BSA
5%

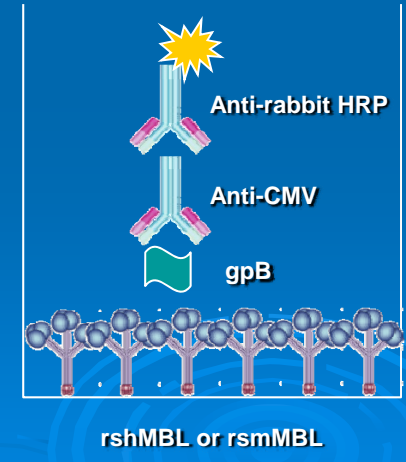
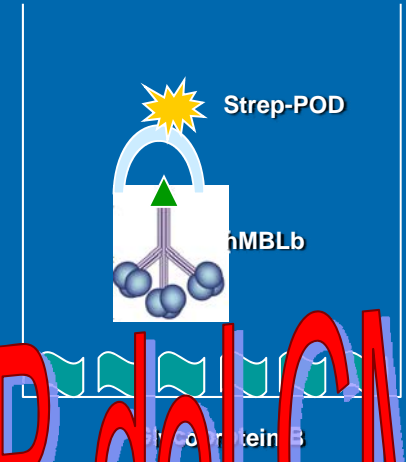
CD5b

CD6b





MBL no s'uneix a la gpB del CMV



ESTUDI CLÍNIC



DISSENY

- Individus >18 anys que se sotmetin a un trasplantament d'òrgan sòlid (excepte pulmonar).
- S'obté mostra sanguínia en el post-trasplantament immediat i s'emmagatzema a -80°C.
- Extracció de DNA i genotipat de diversos *TLR* (*TLR3*, *TLR4*, *TLR9*) i *MBL2* mitjançant una PCR basada en la seqüència.
- Seguiment clínic de com a mínim 1 any o fins la pèrdua de l'empelt o la defunció del pacient.

- Es disposa de 230 mostres de sang i 230 mostres de plasma de 115 pacients trasplantats d'òrgan sòlid durant 1 any.
 - Renal: 48%
 - Hepàtic: 36%
 - Renopancreàtic: 6%
 - Cardíac: 5%
 - Pàncrees aïllat: 3%
 - Hepato-renal: 2%
- En marxa determinació de polimorfismes de *TLR3*, *TLR4* i *TLR9*.
- Pendants d'iniciar la determinació de *MBL2* de pacients trasplantats renals (no hepàtics perquè el genotip depèn del donant).

RESULTATS

- 63 pacients
- Edat mitja: 53.44 anys (DE 10.9)
- 43 ♂ (68%)
- Tipus de trasplantament:
 - Renals: 24 (38%)
 - Hepàtics: 31 (49%)
 - Cardiac: 2 (3%)
 - Doble trasplantament: 4 (7%)
 - Pàncrees aïllat: 2 (3%)
- Tipus de donant:
 - Cadàver: 52 (83%), dels quals 7 en assistència
 - Viu: 11 (17%), dels quals 3 ABO incompatible.
- Pèrdua de l'empelt: 2 (3%)
- Mort: 6 (9.5%), dels quals 3 de causa infecciosa (2 aspergil·losis i una sepsi per *E. coli* BLEA).

INFECCIONS BACTERIANES

- 33 pacients (52%) van presentar com a mínim una infecció bacteriana en el primer any post-trasplantament. Per temps d'aparició:
 - 49% el primer mes
 - 39% entre el primer i el sisè mes.
 - 12% a partir del 6è mes.
- 80 episodis d'infecció bacteriana. Focus més freqüents:
 - Urinari 49%
 - Intraabdominal 16%
 - Respiratori: 12.5%
- Microorganismes més freqüents:
 - *E. coli*: 16%. 46% productors de BLEA.
 - *P. aeruginosa*: 15%. 58% soques multirresistents
 - *Enterococcus*: 11% (78% *E. faecalis*, 22% *E. faecium*)
 - Polimicrobianes: 17.5%.

INFECCIONS VIRALS

- 13% pacients infeccions virals no CMV
 - 3 infeccions per VHS (2 herpes orals i 1 gingivoestomatitis)
 - 3 viruries per BK (una nefropatia diagnosticada per biòpsia)
 - 1 grip A
 - 1 infecció per VVZ (amb retinitis bilateral)
- 29% infecció per CMV
 - 72% replicació asimptomàtica
 - 22% síndrome viral
 - 6% malaltia focal (pancreatitis de l'empelt)

INFECCIONS FÚNGIQUES

- 3 infeccions fúngiques invasives:
 - 2 *Aspergillus fumigatus*
 - 1 Infecció intraabdominal per *Candida albicans*
- Els dos pacients amb aspergil·losi invasiva van morir en relació a la infecció.

POLIMORFISME TLR3 (Leu412Phe)

Tipus infecció	Genotip silvestre (20)	Genotip variant (43)	P
Infecció global	11 (55%)	29 (67%)	0.34
Bacteriana	9 (45%)	24 (56%)	0.4
Viral	5 (25%)	16 (37%)	0.4
Infecció CMV	4 (20%)	14 (33%)	0.3
Infecció fúngica	-	3 (7%)	0.5
Infecció oportunist	5 (25%)	17 (40%)	0.26

➤ No diferències en funció de la presència de genotip variant heterozigot o homozigot

POLIMORFISMES DE TLR4 (Asp299Gly i Thr399Ile)

Tipus infecció	Genotip silvestre (52)	Genotip variant (11)	P
Infecció global	31 (60%)	9 (82%)	0.3
Bacteriana	25 (48%)	8 (73%)	0.14
Viral	18 (35%)	3 (27%)	0.46
Infecció CMV	17 (37%)	1 (9%)	0.15
Infecció fúngica	2 (4%)	1 (9%)	0.44
Infecció oportunista	18 (35%)	4 (36%)	1

POLIMORFISMES DE TLR9 (posicions -1486, -1237 i 2848)

Tipus infecció	Genotip silvestre (20)	Genotip variant (43)	P
Infecció global	13 (65%)	27 (63%)	0.9
Bacteriana	11 (55%)	22 (51%)	0.77
Viral	6 (30%)	15 (35%)	0.78
Infecció CMV	5 (25%)	13 (30%)	0.67
Infecció fúngica	-	3 (7%)	0.55
Infecció oportunista	6 (30%)	16 (37%)	0.6

➤ Major tendència a infecció fúngica en pacients amb genotip variant homozigot en posició 2848 (P=0.09)

CONCLUSIONS

- CMV és un lligand de MBL en l'estudi in vitro. No sabem quina és l'estructura viral reconeguda (gpB sembla que no).
- Tendència a major incidència d'infeccions bacterianes i virals en pacients amb polimorfisme de TLR4, tot i que tenen menys infecció per CMV.
- Tendència a major incidència d'infeccions fúngiques en pacients amb polimorfisme de TLR9 en posició 2848 de forma homozigota.

LÍNIES D'ACTUACIÓ

- Estudi in vitro: analitzar si el lligand de MBL és la glicoproteïna H del CMV.
- Continuar la determinació de polimorfismes de TLR i MBL de les mostres de les quals ja disposem. Esperem tenir tota la informació a mitjans de 2014.
- Iniciat estudi multicèntric de determinació de polimorfismes de TLR i MBL en trasplantats renals D+/R- i la relació amb la infecció per CMV. Inclosos 6 pacients en l'estudi. Pendent d'inici de reclutament de pacients en altres centres.

AGRAÏMENTS

Malalties Infeccioses

Carlos Cervera
Asunción Moreno

Immunologia

Maria Teresa Arias
Francisco Lozano

Microbiologia

Francesc Marco
M^a Ángeles Marcos
Manel Almela

Trasplantament renal

Frederic Cofán
María José Ricart

Trasplantament hepàtic

Miguel Navasa

Trasplantament Cardíac

Félix Pérez-Villa
Montse Cardona

ARTICLES PUBLICATS

TRANSPLANT
INFECTIOUS DISEASE

Late-onset *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in solid organ transplant recipients

Journal:	<i>Transplant Infectious Disease</i>
Manuscript ID:	TID-13-S-008.R1
Wiley - Manuscript type:	Short Communication
Date Submitted by the Author:	13-Jun-2013
Complete List of Authors:	Perez-Ordoño, Luis; Hospital Clinic, Infectious Diseases Hoyo, Irma; Hospital Clinic, Infectious Diseases Sanclemente, Gemma; Hospital Clinic, Infectious Diseases Ricart, Maria; Hospital Clinic, Renal Transplant Unit Cofán, Federico; Hospital Clinic, Renal Transplant Unit Perez-Villa, Felix; Hospital Clinic, Heart Transplant Unit Puig de la Bellacasa, Jordi; Hospital Clinic, Microbiology Moreno, Asunción; Hospital Clinic de Barcelona, Infectious Diseases Cervera, Carlos; Hospital Clinic, Infectious Diseases
Keywords:	<i>Pneumocystis jirovecii</i> , Late-onset opportunistic infection, Solid organ transplantation, Lymphopenia, Rituximab

Funding Source: This work has been supported by the "Red Española de Investigación en Patología Infecciosa" (REIPI, RD06/0008/1013). Dr. Sanclemente has received a research grant ([Agustí Pumarola grant](#)) from the Catalan Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology.



mycoses

Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases

Original article

Incidence and outcome of early *Candida* peritonitis after liver and pancreas transplantation

Michele Bartoletti,¹ Carlos Cervera,¹ Irma Hoyo,¹ Laura Linares,¹ Gemma Sanclemente,¹ Jordi Bosch,^{2,3} Francesc Marco,^{2,3} Federico Cofán,⁴ María José Ricart,⁴ Miquel Navasa^{5,6} and Asunción Moreno¹

¹Service of Infectious Diseases, Hospital Clinic of Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain, ²Department of Clinical Microbiology, Hospital Clinic, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain, ³Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Hospital Clinic-Universitat de Barcelona), Barcelona, Spain, ⁴Renal Transplant Unit, Hospital Clinic of Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain, ⁵Liver Transplant Unit, Hospital Clinic of Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain and ⁶Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Barcelona, Spain

Correspondence: A. Moreno, Infectious Diseases Service, Hospital Clinic, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain.
Tel.: +34 93 2275586. Fax: +34 93 4514438.
E-mail: amoreno@clinic.ub.es

This article has received the support of the Spanish Network of Infectious Diseases (REIPI) and Spanish Group for the Study of Infection in Transplant patients (GESITRA). Dr Sanclemente has received a grant from the Hospital clinic and the Catalan Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SCMIMC).

Submitted for publication 4 April 2012

Revised 15 June 2012

Accepted for publication 4 July 2012

➤ Impact of donor and recipient innate immune receptors genetic variants on liver post-transplant infections. World J Gastroenterol. Article d'encàrrec.