



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

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>



Universitat Autònoma
de Barcelona

Programa de doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

**BIOMARCADORES ASOCIADOS A COMPLICACIONES
DEL POSTOPERATORIO INMEDIATO Y TARDÍO QUE
CONDICIONAN EL REINGRESO EN LA UNIDAD DE
CUIDADOS INTENSIVOS DEL PACIENTE
TRASPLANTADO DE PULMÓN.**

Tesis doctoral presentada por Christopher Alan Mazo Torre

para optar al grado de Doctor.

Directores:

Dr. Jordi Rello Condomines

Dra. Teresa Pont Castellana

Dr. Antonio Román Broto

Tutor: Dr. Jordi Rello Condomines

Barcelona, 2019

Los directores: el Dr. Jordi Rello Condomines, la Dra. Teresa Pont Castellana y el Dr. Antonio Román Broto, certifican que Christopher Alan Mazo Torre, quien presenta ***“BIOMARCADORES ASOCIADOS A COMPLICACIONES DEL POSTOPERATORIO INMEDIATO Y TARDÍO QUE CONDICIONAN EL REINGRESO EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL PACIENTE TRASPLANTADO DE PULMÓN”***, completado bajo su dirección, cumple con la metodología obligatoria y requerimientos científicos, y autorizan su presentación para la defensa ante el panel correspondiente.

*“Si no quieres sufrir no ames,
pero si no amas, ¿para qué quieres vivir?”*

San Agustín de Hipona

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis reúne los resultados del trabajo de varios años, sin embargo yo considero que es algo más, es el producto de un proceso de vivencia y transformación que ocurre en una persona durante el doctorado. Esto, en mi caso me ha llevado a un escalón más alto de madurez como científico, médico, y finalmente humano. No considero a la medicina una profesión a la que uno dedica un tiempo, sino un modo de vida al que te entregas y te moldea como ser humano, cuando descubres la maravilla biológica del cuerpo humano y vives el inmensurable privilegio de poder aliviar el dolor físico y acompañar al paciente en su sufrimiento humano.

A continuación, pretendo enumerar de forma concisa y resumida cada persona y/o elemento clave que ha permitido la presentación de esta tesis, siguiendo un orden cronológico, más no necesariamente de importancia. Por favor, considerar cualquier ausencia de agradecimiento como un ejemplo de imperfección humana en lugar de ingratitud y/o falta de humildad.

Agradezco a:

- Esa instancia superior a nuestro entendimiento que ha deseado y decidido que yo pueda existir y gozar del milagro de la vida.
- Mis padres que me han amado, protegido y guiado desde el inicio de mi existencia. El resto de mi familia por el apoyo y cariño, en especial mi tía Mary, que siempre ha estado a mi lado como apoyo incondicional. Aida, mi compañera fiel de camino de vida, y madre de mi hija, sobre lo cual no digo más, porque las palabras no pueden expresar lo que existe entre nosotros tres, que sin duda es el epicentro de mi existencia. Salomé, gracias por existir, pues con eso ya me lo has dado todo.
- Mi alma mater, la Universidad Central de Venezuela, que me reveló las maravillas y me enamoró de la medicina.
- Mis directores de tesis, sin los cuales esto no hubiese sido posible, Antonio Román, Teresa Pont y Jordi Rello. Antonio, gracias por el apoyo, tu confianza y disposición positiva. Teresa, gracias por ayudarme a ser un mejor médico, más integral y humano. Jordi, además has sido mi tutor incondicional en este camino, gracias por enseñarme “EL CÓMO SE DEBE HACER” desde el primer paso, eres un modelo de resiliencia y tenacidad; y gracias por creer en mí, incluso más allá de lo que yo creía en mi mismo.
- Todos mis compañeros durante mi ejercicio profesional hasta la fecha, porque me han dado el apoyo o el desafío que me ha servido de energía impulsora para llegar hasta aquí.
- Mis grandes amigos Sergio y Adriana, por su amistad incondicional, como perfecto refugio.

- Bárbara Borgatta, que además de amiga, ha sido una excelente compañera profesional para poder superar las adversidades que me he encontrado en el camino.
- La comunidad de Monjes de Montserrat por tener siempre la puerta abierta, en especial mi increíble amigo y hermano Josep Enric, modelo y referente de ser humano a seguir. Josep Enric Parellada, me hizo ver durante la evolución de mi doctorado que todo gira en torno al amor al prójimo y si a eso se interpone cualquier otro interés individual, simplemente estamos perdidos y todo lo realizado no habrá valido de nada. “Solo nos llevaremos aquello que hemos dado”.
- Cada uno de los pacientes con los que he tenido el privilegio de compartir directamente y los que indirectamente han formado parte de este tiempo y trabajo. En el contexto del trasplante, es imposible no hacer especial mención a aquellos héroes anónimos y sus familias, solidarios y altruistas que antes de cruzar el umbral de la muerte estuvieron dispuestos a donar sus órganos. Dicho acto me reaviva la fe en el ser humano y en la existencia del verdadero amor, que da sin pretender nada a cambio.

Nada es exclusivamente propio. Hasta la gran idea que nace en nuestra mente, de la cual estamos tan orgullosos, es producto de las influencias de nuestro entorno, incluidas aquellas que llamamos negativas.

ABREVIATURAS

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation / Evaluación de la fisiología aguda y salud crónica.

BTB: Biopsia transbronquial.

CVF: Capacidad vital forzada.

DPI: Disfunción primaria del injerto.

FIO₂: Fracción inspirada de oxígeno.

HLA: Human leucocyte antigen / Antígenos leucocitarios humanos.

IL-6: Interleucina-6.

IL-8: Interleucina-8.

IL-10: Interleucina-10.

IRA: Insuficiencia respiratoria aguda.

ISHLT: International Society for Heart and Lung Transplantation / Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón

LBA: Lavado broncoalveolar.

PaO₂: Presión parcial de oxígeno en la sangre arterial.

PCR: Reacción en cadena de polimerasa multiplex.

PCT: Procalcitonina.

RIQ: Rango intercuartil.

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment / Evaluación secuencial de insuficiencia de órganos.

UCI: Unidad de cuidados intensivos.

VEMS: Volumen espiratorio máximo en un segundo.

VMI: Ventilación mecánica invasiva.

ÍNDICE

Prefacio	13
Resumen	15
1. Introducción	19
2. Justificación de la unidad temática de la tesis	23
3. Hipótesis	25
4. Objetivos	27
4.1. Principal	27
4.2. Secundarios	27
5. Métodos	29
5.1. Estudio 1	29
5.1.1. Población y diseño de estudio	29
5.1.2. Determinación del grado de disfunción primaria del injerto	29
5.1.3. Medición de biomarcadores	29
5.1.4. Análisis de resultados	30
5.1.5. Análisis estadístico	30
5.1.6. Ética	31
5.1.7. Financiación y logística	31
5.1.8. Manuscrito del Estudio N° 1	33
5.2 Estudio 2	41

5.2.1. Población y diseño de estudio	41
5.2.2. Recolección de datos epidemiológicos	42
5.2.3. Neumonía	42
5.2.4. Definiciones y diagnóstico diferencial	43
5.2.5. Análisis estadístico	44
5.2.6. Ética	45
5.2.7. Financiación y logística	45
5.2.8. Manuscrito del Estudio N° 2	47
6. Resumen global de resultados	61
6.1 Estudio 1	61
6.2 Estudio 2	62
7. Discusión	63
8. Conclusiones	67
9. Líneas de futuro	69
10. Bibliografía	71

PREFACIO

La disertación de la presente tesis doctoral por compendio de publicaciones, se ha organizado estructuralmente de acuerdo con las recomendaciones recogidas en el *Marco Regulador para los Estudios de Doctorado RD 99/2011* de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Según el artículo 358 de dicho marco se recomienda que la tesis tenga el siguiente formato:

1. La tesis doctoral ha de constar, como mínimo, de una introducción al tema de estudio, de los objetivos que se pretenden alcanzar, de una exposición de la investigación realizada como parte fundamental, de la discusión de los resultados obtenidos, de las conclusiones y de la bibliografía. Además, puede incluir tantos anexos como se considere conveniente. La tesis doctoral puede contener artículos publicados, incluidos tanto en la parte fundamental como en los anexos.

2. En la portada de la tesis se ha de hacer constar que se trata de una tesis doctoral, el título y subtítulo, si procede, el autor, el director, el tutor académico, el nombre del programa de doctorado, el departamento o instituto de investigación, la universidad y el año del depósito de la tesis doctoral. En caso de tesis doctorales que consten de más de un volumen, se ha de indicar claramente el número del volumen.

Los artículos publicados contenidos en esta tesis han sido admitidos previamente por la Comissió d'Estudis de Postgrau (Comisión de Estudios de Posgrado).

RESUMEN

This thesis includes two studies that make new contributions to the knowledge on the causes, prognosis and management of acute respiratory failure in the patient with lung transplantation (LT).

Study 1 was designed to evaluate the association of procalcitonin (PCT), IL-6-8-10 plasma levels at 24h, 48h and 72h in adults after LT with ICU-mortality, oxygenation, diagnosis and severity of primary graft dysfunction (PGD), and one-year graft function after LT. One hundred LT patients were enrolled consecutively at ICU admission following LT in Vall d'Hebron University Hospital (Barcelona) and followed until one year after the transplant.

Higher PCT levels at 24h were associated with lower PaO₂ / F_IO₂ ratio and Grade 3 PGD over the first 72h after LT ($p < 0.05$). PCT at 24h was higher in the 9 patients who died (2.90 vs 1.47 ng/mL, $p < 0.05$), with AUC = 0.74 for predicting ICU-mortality. All patients with PCT < 2 ng/ml at 24h following LT, survived in the ICU ($p < 0.05$). PCT and IL-10 at 48h were correlated with FEV₁ ($\rho = -0.35$) and FVC ($\rho = -0.29$) one year after LT. ($p < 0.05$).

This was the first prospective study showing an association between the PCT plasma levels in the post-operative period (72h) and graft function at 72h after LT. Results showed that a breakpoint of PCT < 2 ng/mL within 24h has a high predictive value to exclude grade 3 PGD at 72h and for ICU-survival. Moreover, both PCT and IL-10 within 48 hours were associated with significantly better graft function one year after surgery.

Study 2 aimed to assess the main causes of intensive care readmissions (ICUr) in LT adults and to identify independent predictors of ICU-mortality (primary end-point). This Spanish 5-centre prospective cohort study enrolled all LT adults with ICUr after post-LT ICU discharge, between 2012 and 2016. Patients were followed until hospital discharge or death.

One hundred and fifty-three LT recipients presented 174 ICUr a median of six months [IQR 2-25] post-LT. Chronic lung allograft dysfunction (CLAD) was reported in 39

(25.5%) recipients, 13 of whom (all exitus) had restrictive allograft syndrome (RAS). Acute respiratory failure (ARF) (110, 71.9%) was the main condition requiring ICUr. Graft rejection (six, 5% acute) caused only 12 (11%) admissions whereas pneumonia (56, 36.6%) was the main cause (50 admitted for ARF and 6 for shock), with *P. aeruginosa* (50% multidrug-resistant) being the predominant pathogen. Fifty-five (35.9%) and 69 (45.1%) recipients died in the ICU and the hospital respectively. Bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) stage-2 (adjusted-OR: 7.2 (1-65.7)), BOS stage-3 (aOR: 13.7 (2.5-95.3)), RAS (aOR: >50) and pneumonia at ICUr (aOR: 2.5 (1-7.1)) were identified in multivariate analyses as independent predictors of ICU mortality. Only eight (5%) patients had positive donor-specific antibodies (DSA) prior to ICUr, and this variable did not affect the model.

This was the largest prospective, multi-centre cohort study to date on LT recipients in the ICU beyond the post-operative period. ARF was the main condition requiring ICUr in LT recipients, and was associated with high mortality. Importantly, bacterial pneumonia was identified as the main cause of ICUr (and an independent risk factor for ICU-mortality), with *P. aeruginosa* being the main pathogen. Aspergillosis, *P. jiroveci* and respiratory virus pulmonary infections (including influenza) were unlikely causes of severe ARF. Graft rejection was relatively infrequent (only 5% of patients were admitted for acute allograft rejection), and presence of DSA before ICU admission did not influence outcomes. In contrast, CLAD was identified as a significant predictor of death; survival was inversely correlated with severity of obstruction in the BOS phenotype, and the RAS phenotype should be considered as an indication for palliative care.

Esta tesis incluye dos estudios que hacen nuevas contribuciones al conocimiento sobre las causas, el pronóstico y el manejo de la insuficiencia respiratoria aguda en el paciente con trasplante de pulmón.

El estudio 1 evalúa la asociación de los niveles plasmáticos de procalcitonina (PCT), IL-6-8-10 a las 24h, 48h y 72h en adultos después del trasplante, con la mortalidad en la UCI, la oxigenación, el diagnóstico y la gravedad de la disfunción primaria del injerto (DPI) y la función de injerto un año después del trasplante. Se incluyeron consecutivamente, 100 pacientes al ingresar en la UCI después del trasplante pulmonar en el Hospital Universitario Vall d'Hebron y fueron seguidos por un año.

Unos niveles más elevados PCT a las 24h se asoció con una relación PaO₂ / FIO₂ más baja y la persistencia de DPI grado 3 a las 72h después del trasplante ($p < 0.05$). La PCT a las 24h fue mayor en los 9 pacientes fallecidos (2,90 frente a 1,47 ng/ml, $p < 0,05$), con un AUC = 0,74 para predecir la mortalidad en la UCI. Todos los pacientes con PCT < 2 ng/ml a las 24h del trasplante, sobrevivieron en la UCI ($p < 0,05$). La PCT y la IL-10 a las 48h se correlacionaron con el VEMS ($\rho = -0.35$) y la CVF ($\rho = -0.29$) al año del trasplante. ($p < 0,05$).

Este fue el primer estudio prospectivo en mostrar una asociación entre los niveles plasmáticos de PCT durante el período postoperatorio (72h) y la función del injerto a las 72h del trasplante. Se demostró que un punto de corte de PCT < 2 ng/ml dentro de las primeras 24h tiene un alto valor para excluir la DPI grado 3 a las 72h y para predecir la supervivencia en la UCI. Además, tanto la PCT como la IL-10 a las 48h se asociaron con una función del injerto significativamente mejor un año después de la cirugía.

El estudio 2 pretende identificar las principales causas de reingreso y los predictores independientes de mortalidad en la UCI de adultos trasplantados de pulmón (objetivo principal). Se incluyeron prospectivamente a todos los adultos trasplantados que reingresaron en la UCI después del alta postoperatoria entre 2012 y 2016, en los 5 principales centros de trasplante de España. Los pacientes fueron seguidos hasta el alta hospitalaria o la muerte.

Ciento cincuenta y tres trasplantados presentaron 174 reingresos en la UCI con una mediana de seis meses [RIQ 2-25] posterior al trasplante. Treinta y nueve (25.5%) receptores presentaron disfunción crónica del injerto (DCI), 13 de los cuales (todos fallecieron) tenían síndrome restrictivo del injerto (SRI). La insuficiencia respiratoria aguda (110, 71,9%) fue el principal condicionante de reingreso en UCI. El rechazo del injerto (seis, 5% agudo) causó solo 12 (11%) reingresos, mientras que la neumonía (56, 36,6%) fue la causa principal (50 ingresaron por insuficiencia respiratoria y 6 por shock), siendo *P. aeruginosa* (50% multirresistentes) el patógeno predominante. Cincuenta y cinco (35.9%) receptores murieron en la UCI y 69 (45.1%) en el hospital. En el análisis multivariante, el síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS) estadio 2 (OR ajustado: 7.2 (1-65.7)), BOS estadio-3 (aOR: 13.7 (2.5-95.3)), SRI (aOR: > 50) y la neumonía al ingreso en la UCI (aOR : 2.5 (1-7.1)) se identificaron como predictores independientes de

mortalidad en la UCI. Solo ocho (5%) pacientes tenían anticuerpos específicos anti-HLA del donante positivos, previo al reingreso en la UCI, y esta variable no afectó al modelo.

Este ha sido el estudio de cohorte prospectivo multicéntrico más grande hecho hasta la fecha, sobre trasplantados de pulmón que reingresan en la UCI más allá del período postoperatorio. La insuficiencia respiratoria aguda fue el principal condicionante de reingreso en la UCI de estos pacientes y se asoció con una alta mortalidad. La neumonía bacteriana se identificó como la causa principal reingreso (y un factor de riesgo independiente de mortalidad) en la UCI, siendo *P. aeruginosa* el principal patógeno, mientras la aspergilosis, *P. jiroveci* y los virus respiratorios (incluida la gripe) fueron causas poco prevalentes. El rechazo del injerto fue relativamente infrecuente (solo el 5% de los pacientes ingresaron por rechazo agudo del injerto), y la presencia de anticuerpos específicos anti-HLA del donante antes de la admisión en la UCI no influyó en los resultados. En contraste, la DCI se identificó como un predictor significativo de muerte; la supervivencia se correlacionó inversamente con la gravedad de la obstrucción en el fenotipo obstructivo, y el fenotipo restrictivo debe considerarse como una indicación para cuidados paliativos.

1. INTRODUCCIÓN

El 11 de Junio de 1963, James D. Hardy, en Jackson (Mississippi, USA) efectuó el primer trasplante de pulmón de la historia. El paciente falleció a los 16 días del trasplante [1]. La primera cirugía de trasplante que tuvo éxito fue el trasplante de corazón-pulmón, realizado por el Dr. Bruce Reitz, de la Universidad de Stanford en 1981. No fue hasta 1983, cuando el Dr. Joel Cooper con el grupo de Toronto realizó el primer trasplante unipulmonar y en 1986 el primer bipulmonar exitosos [2]. Esta técnica se ha implantado como terapia de elección para muchas patologías terminales, con una actividad mundial creciente que reportó en 2016, 5.497 trasplantes pulmonares. En España se trasplantó el primer pulmón en el hospital Gregorio Marañón de Madrid en 1990. Sin embargo no se han vuelto a realizar trasplantes pulmonares en dicho centro. También en 1990, se realizó el primer trasplante pulmonar con éxito de España, en Barcelona, con el inicio del programa de trasplante pulmonar del Hospital Vall d'Hebron, que permanece activo, sobrepasando los 100 trasplantes al año en 2018 [3]. Hoy esta intervención se realiza en España en 7 centros a razón de unos 360 al año [4].

El trasplante pulmonar, de todos los órganos sólidos, es el que tiene menor supervivencia. Los 28.531 pacientes trasplantados de pulmón registrados en el mundo entre 2009 y 2016 han presentado una mediana de supervivencia de 6.5 años. Las principales causas de muerte después del trasplante de pulmón en adultos reportadas desde 1990 hasta junio de 2017 fueron: la infección y el "fracaso del injerto" en el primer año posterior al trasplante, mientras que en los años posteriores predomina la muerte por disfunción crónica del injerto pulmonar [5].

La disfunción primaria del injerto (DPI) es la principal causa de mortalidad y morbilidad en el postoperatorio temprano después de un trasplante pulmonar y se ha identificado como factor de riesgo para el desarrollo posterior del síndrome de bronquiolitis obliterante [6, 7]. No obstante, la DPI tiene una expresión clínica similar a otras complicaciones que también producen insuficiencia respiratoria como son la infección respiratoria o el rechazo agudo. Por lo tanto, es necesaria la identificación de

algún biomarcador que ayude a orientar el diagnóstico etiológico en este escenario, siendo además de gran valor poder predecir la función del injerto a largo plazo.

Estudios recientes han evaluado el papel de algunas citocinas tales como interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10) en el proceso fisiopatológico de la lesión por isquemia-reperfusión que produce la DPI [8, 9].

La procalcitonina (PCT) es un pro-péptido de la calcitonina que se libera en respuesta a las endotoxinas de la pared celular bacteriana [10]. La PCT también se incrementa en situaciones clínicas no asociadas con infecciones, incluidas cirugías mayores, quemaduras o traumatismos [11-19]. En los receptores de otros trasplantes de órgano sólido, se ha demostrado que la PCT es una herramienta útil para la detección de infecciones [20, 21], pero faltan datos sobre su papel en los pacientes con trasplante pulmonar [22]. La PCT puede modificarse por varios factores, entre los que se incluyen hipoxia celular, procedimientos quirúrgicos recientes, bypass cardiopulmonar, presencia de enfermedad subyacente del órgano terminal, inmunosupresión de mantenimiento y tipo de agentes inmunosupresores, lo que hace que su uso e interpretación sean más complejos en pacientes trasplantados y más aún, en el subgrupo pulmonar [16-20, 23-33].

En vista de que el número de trasplantes de pulmón ha ido aumentando progresivamente y su supervivencia ha mejorado, también ha habido un aumento progresivo en el número de reingresos de pacientes trasplantados de pulmón en unidades de cuidados intensivos (UCI); por esto el interés de los médicos especialistas en cuidados intensivos ha ido más allá del período postoperatorio temprano, extendiéndose a aquellos que prestan asistencia en centros sin un programa de trasplante pulmonar [34, 35]. La supervivencia a largo plazo de estos pacientes depende principalmente de la ausencia de disfunción crónica del injerto [36], en cualquiera de sus dos fenotipos: obstructivo y restrictivo [37-39], que también influyen en la calidad de vida. Por lo tanto, las cuestiones de interés, que afectan a todos los médicos que atienden a un paciente trasplantado de pulmón en situación crítica, incluyen: si la disfunción crónica del injerto debería influir en los criterios de ingreso en la UCI, qué algoritmo diagnóstico se debe seguir, si se debe asociar un antimicrobiano empírico y cuál al tratamiento, o si se debe administrar

inmunoglobulinas o realizar técnicas como plasmaféresis (para el rechazo mediado por anticuerpos específicos anti-HLA del donante).

La insuficiencia respiratoria aguda (IRA) y la sepsis se han descrito como las afecciones más frecuentes que condicionan la necesidad de reingreso en UCI en pacientes con un trasplante pulmonar [40-45]. Sin embargo, pocos estudios, principalmente retrospectivos, unicéntricos y con muestras reducidas, han reportado los factores que determinan el reingreso en UCI y su pronóstico en este subgrupo único de pacientes inmunocomprometidos. Por lo tanto, es de suma importancia lograr dibujar una imagen instantánea actualizada de esta condición emergente con mortalidad elevada.

2. JUSTIFICACIÓN DE LA UNIDAD TEMÁTICA DE LA TESIS.

La insuficiencia respiratoria aguda es la piedra angular en el bienestar y supervivencia a corto y largo plazo de los pacientes que se han sometido a un trasplante de pulmón, como se ha comentado anteriormente.

La DPI está bien identificada como la principal causa de IRA en el postoperatorio inmediato. Cuando esta condición persiste de manera grave a las 72 horas después del trasplante, el paciente tiene una mayor probabilidad de morir. El primer estudio ha identificado un nuevo papel en el postoperatorio inmediato, de un biomarcador añadiendo conocimiento, que facilita el diagnóstico diferencial, la predicción del grado de severidad que alcanzará la DPI a las 72 horas y su impacto en la supervivencia del paciente. Además también revela dos biomarcadores que se relacionan con la función del injerto a largo plazo.

Una vez superado el postoperatorio y el paciente trasplantado de pulmón es dado de alta de la UCI, poco tiempo después o incluso pasados varios años, una proporción no despreciable de pacientes tienen el infortunio de requerir reingresar en la UCI. El especialista que atiende a este paciente en la UCI, se encuentra nuevamente con el mismo individuo pero con una situación clínica diferente, y se enfrenta a una epidemiología nueva, aún no bien estudiada en la que se desconocen los factores pronósticos que pueden orientar la toma de decisiones. El segundo estudio identifica a la IRA como el problema principal; describe el perfil del paciente que requiere reingreso en UCI e identifica y pondera por primera vez marcadores pronósticos de mortalidad en dicho escenario (neumonía, fenotipos obstructivo y restrictivo de disfunción crónica del injerto), con gran aplicabilidad en la práctica clínica relacionada a este perfil de pacientes.

3. HIPÓTESIS

La Medicina Personalizada en el trasplante de pulmón permitirá, entre otros beneficios, mejorar la precisión en la predicción de complicaciones y un tratamiento individualizado más eficaz y eficiente.

4. OBJETIVOS

4.1. PRINCIPAL:

- Determinar cuáles son las principales causas de reingreso en UCI de los pacientes trasplantados de pulmón. Específicamente, establecer la prevalencia y relevancia del rechazo agudo del injerto pulmonar, tanto celular como mediado por anticuerpos anti-HLA específicos del donante, como causa de IRA que requiera del reingreso en UCI.

4.2. SECUNDARIOS:

- Establecer la relación entre los niveles de PCT, IL-6, IL-8 e IL-10 medidos en la UCI en los días uno, dos y tres después del trasplante pulmonar con la oxigenación en las primeras 72 horas y los diferentes grados de disfunción primaria del injerto.
- Evaluar la capacidad pronóstica de los niveles de PCT, IL-6, IL-8 e IL-10 medidos en la UCI en los días uno, dos y tres después del trasplante pulmonar para predecir la mortalidad en la UCI y la función del injerto un año después del trasplante.
- Identificar los predictores de mortalidad en UCI y hospitalaria de los pacientes trasplantados de pulmón que requieren reingresar en UCI.

5. MÉTODOS

5.1. ESTUDIO 1

5.1.1. Población y diseño de estudio

Estudio prospectivo, que incluye a 100 adultos ingresados consecutivamente en la UCI del Hospital Universitario Vall d'Hebron después de realizarles un trasplante pulmonar. Se recogen todos los datos demográficos, clínicos y de recolección de muestras de sangre que se extrajeron a las 24, 48 y 72 horas después del trasplante [46].

5.1.2. Determinación del grado de disfunción primaria del injerto

El grado de DPI se determinó utilizando la definición de consenso de la International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [47]. Las imágenes de las radiografías del tórax y las gasometrías de sangre arterial se evaluaron en el momento de la admisión en la UCI (T0) y a las 24, 48 y 72 horas después del trasplante pulmonar. Dos médicos diferentes examinaron las imágenes de las radiografías de tórax para evaluar la presencia de infiltrados difusos en los pulmones trasplantados. La gravedad de la DPI se clasificó de manera ciega con respecto a todos los valores de biomarcadores y de la relación entre la presión parcial de oxígeno en sangre arterial (PaO_2) y la fracción de oxígeno inspirado (FIO_2). La DPI de grado 3 se definió como una relación $\text{PaO}_2 / \text{FIO}_2$ de <200 mmHg.

5.1.3. Medición de biomarcadores

Las muestras de sangre se recogieron en tubos de EDTA estériles (Vacutainer, Becton Dickinson, Cockeysville, Md). Los tubos se centrifugaron inmediatamente y el plasma

sobrenadante se retiró y congeló hasta que se analizaron las muestras. Los niveles plasmáticos de PCT se determinaron con B • R • A • H • M • S KRYPTOR / KRYPTOR compacto, basado en la Tecnología TRACE (Emisión de Criptato Amplificado Resuelto en el Tiempo). El test tiene un límite de detección de 0.02 ng/mL con una probabilidad del 95%, sensibilidad de 0.06 ng/mL (rango de referencia superior de 0.5 ng/mL en sujetos sanos). Las ILs se analizaron utilizando kits de ensayo de inmunoadsorción ligados a enzimas en sandwich (Human IL-6 Kit, Life Technologies, parte del grupo Life Sciences Solutions de Thermo Fisher Scientific. Carlsbad, California, Los Estados Unidos de América) y (Human IL-8 y 10 Kit, Tebu-bio, Francia).

5.1.4. Análisis de resultados

Los pacientes fueron seguidos durante un año después del trasplante pulmonar. Se registraron la causa de la muerte y el tiempo desde el trasplante hasta la muerte. La principal variable a determinar fue la función temprana del injerto, clasificándose según los diferentes grados de disfunción primaria comentados. Los puntos secundarios a determinar fueron la mortalidad en la UCI, la mortalidad y la función del injerto al año del trasplante: volumen espiratorio máximo en un segundo (VEMS) y capacidad vital forzada (CVF) al año del trasplante.

5.1.5. Análisis estadístico

Las variables continuas se expresaron como media y desviación estándar o mediana y rango intercuartil (RIQ). Las variables categóricas se expresaron como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se compararon con la prueba de T de Student o la prueba de Mann-Whitney, según corresponda. Las diferencias entre las variables categóricas se evaluaron con la prueba de χ^2 o la prueba exacta de Fisher. Se calcularon la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP), el valor predictivo negativo (VPN) y los valores del índice de Youden J [48]. Los valores de corte óptimos se obtuvieron a partir de las mejores relaciones de sensibilidad/especificidad. Se consideró una $p < 0,05$ bilateral como el nivel de significación estadística. Para determinar la

asociación entre disfunción primaria del injerto y la relación PaO₂/FIO₂, se utilizó el coeficiente de correlación de rango de Spearman. La relación de los niveles de PCT a las 24 horas con disfunción primaria del injerto de grado 3 a las 72 horas después del trasplante pulmonar se evaluó mediante regresión logística. Se evaluaron la edad y el género del receptor, el tipo de trasplante pulmonar (unilateral versus bilateral), la enfermedad pulmonar antes del trasplante, la utilización de circulación extracorpórea durante la cirugía, el tiempo de isquemia fría y la transfusión de concentrados de hematíes como posibles factores de confusión. La inclusión de estas variables en el análisis multivariante se basó en la literatura previamente existente, evitando el sobreajuste (es decir, limitando la inclusión de una variable por cada 5 a 10 casos) y teniendo en cuenta los resultados exploratorios del análisis univariante basado en la probabilidad de mejora y los criterios de información de Akaike. Calculamos la probabilidad predicha de los niveles plasmáticos de PCT, como variable categórica (< 2 / ≥ 2 ng/ml), para el grado 3 de DPI ajustando los modelos de regresión logística. Todos los análisis se realizaron utilizando un programa estadístico (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

5.1.6. Ética

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Vall d'Hebron (código de referencia PR_AG_279-2013). Se obtuvo consentimiento informado de los familiares de cada paciente al ingresar en la UCI.

5.1.7. Financiación y logística

Este estudio fue financiado en parte por el Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES) del Instituto de Salud Carlos III. Becas competitiva FIS 11/01122 otorgadas al CRIPS. (Fondos FEDER).

5.1.8. Manuscrito del Estudio N° 1

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

Procalcitonin Accurately Predicts Lung Transplant Adults With Low Risk of Pulmonary Graft Dysfunction and Intensive Care Mortality.

Journal of Critical Care. 2018 Apr;44:142-147.

DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.10.047. PMID: 29112904

5.2. ESTUDIO 2

5.2.1. Población y diseño de estudio

Se realizó un estudio observacional, multicéntrico y prospectivo (reclutamiento entre agosto de 2012 y junio de 2016) en cinco hospitales universitarios españoles de atención terciaria con programas de trasplante pulmonar bien establecidos. La muestra seleccionada representa el 73,2% de los trasplantes pulmonares realizados en España durante el periodo de estudio.

La población del estudio comprendió a todos los receptores adultos de un trasplante pulmonar consecutivos que requirieron reingreso en UCI (> 7 días después del alta de UCI para cuidado postoperatorio del trasplante) durante el período de estudio (4 años). Los sujetos fueron identificados en el momento del reingreso en UCI. Los criterios para reingreso en UCI incluyeron la necesidad de ventilación mecánica invasiva (VMI) o ventilación mecánica no invasiva, y/o monitorización hemodinámica invasiva. Los pacientes fueron seguidos hasta el alta hospitalaria o la muerte. Los pacientes recibieron el mismo régimen inmunosupresor como tratamiento estándar: 500 mg de metilprednisolona por vía intravenosa antes de la reperusión de cada injerto y 125 mg/8 horas durante las primeras 24 horas del postoperatorio, seguidos de descenso progresivo oral estándar con prednisona; 1,5 gr/12 horas de micofenolato mofetilo; y tacrolimus (titulado para niveles plasmáticos de 10-15 ng/ml durante las primeras 2 semanas y 8-12 ng/ml a partir de entonces). Los episodios de rechazo se trataron con 1 gr/día de metilprednisolona por vía intravenosa durante 3 días, seguido de una disminución gradual.

Todos los pacientes también recibieron profilaxis con trimetoprim/sulfametoxazol contra la infección por *Pneumocystis jiroveci* (960 mg 3 veces por semana). Si el receptor o el donante resultaron positivos para Citomegalovirus, se administró ganciclovir IV (5 mg/kg/12 horas durante 5 días), seguido de 900 mg de valganciclovir por vía oral una vez al día durante 3 meses. Además, todos los pacientes recibieron profilaxis contra la infección por *Aspergillus* con 200 mg/12 horas de itraconazol o 24 mg/72 horas de anfotericina B liposomal nebulizada durante 6 meses. Se administró vacuna contra la influenza con una dosis adyuvante (refuerzo). Los protocolos de profilaxis no incluyen terapia con efecto antipseudomona.

5.2.2. Recolección de datos epidemiológicos

Los datos recogidos fueron edad; sexo; diagnóstico pretrasplante; tipo de trasplante pulmonar (simple o bilateral); tiempo transcurrido desde el trasplante hasta reingreso en UCI; biomarcadores relacionados con disfunción crónica del injerto y rechazo agudo del injerto: volumen espiratorio máximo en un segundo (VEMS), capacidad vital forzada (CVF), presencia de anticuerpos específicos anti-HLA del donante antes del reingreso en UCI, patrón histopatológico e inmunotinción C4d en biopsias transbronquiales (BTB); historia de rechazo agudo y/o disfunción crónica del injerto, incluidos los diferentes fenotipos y su gravedad; indicación de reingreso en UCI; puntuación de APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II a las 24 horas después de reingreso en UCI; puntaje en la escala SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) al reingreso en UCI; fuente y etiología de la infección; necesidad y duración de ventilación mecánica invasiva; requerimiento de vasopresores; tiempo de estancia en la UCI y el hospital; mortalidad en UCI; mortalidad hospitalaria; causa de la muerte. No se registraron los datos del período perioperatorio inmediato.

5.2.3. Neumonía

El diagnóstico de neumonía se definió como aparición de un nuevo infiltrado radiográfico, recuento de $\geq 10^4$ unidades formadoras de colonias/ml (para patógenos no oportunistas) en el líquido de LBA y al menos dos de las siguientes condiciones: fiebre (temperatura $> 38.5^\circ \text{C}$), recuento de leucocitos $< 4,000$ o $> 11,000/\text{mm}^3$ y secreciones purulentas [49]. El tratamiento antibiótico empírico estándar consistía en meropenem más amikacina, ajustados en las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. El diagnóstico estándar incluyó hemocultivos, fibrobroncoscopia con LBA y toma de BTB para cultivos estándar para identificar patógenos bacterianos convencionales, incluidos *Nocardia sp.*, y hongos filamentosos. La reacción en cadena de polimerasa multiplex (PCR) para 13 virus respiratorios se realizó en muestras respiratorias. Las búsquedas de *P. jiroveci*, PCR para citomegalovirus (CMV) y galactomanano se realizaron en muestras de LBA.

5.2.4. Definiciones y diagnóstico diferencial

Las indicaciones para reingreso en UCI se clasificaron como IRA, shock, atención postoperatoria y otras. La IRA se definió como $\text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$ o $\text{SpO}_2 < 90\%$ respirando aire ambiente, o taquipnea $> 30/\text{minuto}$, dificultad respiratoria, disnea en reposo o cianosis. El diagnóstico diferencial de IRA incluyó neumonía, rechazo celular agudo, rechazo mediado por anticuerpos, disfunción crónica del injerto exacerbada, edema pulmonar agudo, hemorragia intraalveolar, atelectasia y complicaciones mecánicas. El rechazo celular agudo se definió según el análisis histopatológico de la BTB, evaluado por un patólogo especializado en trasplante pulmonar y calificado de acuerdo con las directrices de la ISHLT de 2007 [50]. De forma sistemática, siempre se realizó fibrobroncoscopia de forma precoz al ingreso para tomar muestra de LBA, seguido de BTB para la detección temprana del rechazo celular agudo, excepto en los casos que estuviese contraindicado por la gravedad de la insuficiencia respiratoria. El rechazo mediado por anticuerpos se definió como disfunción del injerto, presencia confirmada de anticuerpos específicos anti-HLA del donante en suero [50] y estudio histopatológico compatible con rechazo mediado por anticuerpos [51]. La sepsis y el shock séptico se definieron según los criterios de sepsis-2 [52]. La disfunción primaria del injerto y su grado se determinaron utilizando la definición ISHLT [53]. Los pacientes se clasificaron como disfunción crónica del injerto si cumplían con los criterios ISHLT [54]. La susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos se probó mediante difusión en disco, y las cepas resistentes se verificaron mediante el método de difusión en gradiente. Las concentraciones inhibitorias mínimas se clasificaron utilizando los puntos de corte del Comité Europeo sobre Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana [55]. Los criterios de resistencia múltiple y extensa a antibióticos se referencian a otro estudio [56]. El daño renal agudo se determinó utilizando el Segundo Consenso Internacional de la Iniciativa de Calidad de Diálisis Aguda [57]. La enfermedad renal crónica se definió como daño renal o tasa de filtración glomerular (TFG) $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ durante ≥ 3 meses, independientemente de la causa, estimada a partir de la creatinina sérica calibrada y estimaciones de ecuaciones como la modificación de la dieta en Ecuación del estudio de la enfermedad renal o la fórmula de Cockcroft-Gault [58].

5.2.5. Análisis estadístico

Las variables continuas se describieron como medianas [RIQ: 25% - 75%] y las variables categóricas como recuentos y porcentajes. Se compararon varios pares de variables clínicas utilizando correlaciones de Pearson y Spearman. Los pacientes se clasificaron según su estado (es decir, sobrevivientes y no sobrevivientes de la UCI y del hospital). Las variables clínicas en ambos grupos de pacientes se compararon mediante la prueba de la χ^2 para las variables categóricas (o la prueba exacta de Fisher si la frecuencia absoluta era menor a 5) y la prueba de la U de Mann-Whitney para las variables cuantitativas. Los valores de p se ajustaron utilizando el método de Benjamini-Hochberg para tratar problemas de comparaciones múltiples derivadas de múltiples pruebas.

Para analizar los factores predictivos de mortalidad en UCI (objetivo principal) y mortalidad hospitalaria (objetivo secundario), se utilizaron modelos de regresión logística; se ajustaron modelos univariados, y luego los que mostraron correlación con un nivel de 5% o más se introdujeron en un modelo de regresión multivariable agrupado por centro, con una selección de variables basada en el criterio de Akaike, con las excepciones de dos variables no categorizadas (puntuaciones en las escalas APACHE II y SOFA), que se excluyeron porque se consideraron redundantes. Se mantuvo un valor de $p < 0.05$ para mantener las variables en el modelo final. Los datos faltantes no fueron imputados en el análisis. Dado que la proporción de no sobrevivientes con neumonía fue del 54,5%, la proporción de sobrevivientes con neumonía fue del 26,5% y el número de pacientes incluidos fue de 153, el poder estadístico del estudio se estimó en 92,8%.

Se desarrollaron modelos de regresión logística (utilizando las variables con $p < 0.05$ en el análisis comparativo, previamente informado en la literatura o sugerido como hipótesis). Todos los valores de p informados son de 2 caras; $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. Basándonos en el modelo final, evaluamos la discriminación (a través del índice-c) y la calibración (utilizando estadísticas de Hosmer-Lemeshow). Las curvas de Kaplan-Meier se desarrollaron utilizando la prueba de log-rank. Todos los análisis se realizaron en R, versión 3.4.1 (R Core Team, 2017) [59].

5.2.6. Ética

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Vall d'Hebron (PR (AG) 101/2012). La necesidad de consentimiento no se aplicó debido a la naturaleza observacional del estudio.

5.2.7. Financiación y Logística

Este estudio fue financiado en parte por el Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES) del Instituto de Salud Carlos III. Beca competitiva PI14/1296 otorgadas al CRIPS. (Fondos FEDER). Trabajo colaborativo de diseño transversal liderado desde el nodo 18 del CIBERES.

5.2.8. Manuscrito del Estudio N° 2.

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).
DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

Pneumonia versus Graft Dysfunction as the cause of acute respiratory failure after Lung Transplant: A 4-year multicenter prospective study in 153 adults requiring intensive care (ICU) admission.

European Respiratory Journal. 2019 Oct 1;54(3).

DOI: 10.1183/13993003.01512-2018. PMID: 31346003

6. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADOS

6.1. ESTUDIO 1

La procalcitonina predice con exactitud aquellos adultos con trasplante pulmonar que presentan bajo riesgo de DPI y de fallecer en la UCI.

- Se incluyeron 100 pacientes en el análisis de resultados.
- Se observó mayor mortalidad en los pacientes que persistían con DPI grado 3 a las 72 horas del trasplante.
- Los niveles plasmáticos de PCT a las 24 horas del trasplante fueron significativamente mayores en los pacientes que murieron en la UCI con respecto a aquellos que sobrevivieron.
- Todos los pacientes con niveles de PCT < 2 ng/ml a las 24 horas del trasplante sobrevivieron y fueron dados de alta de la UCI.
- Se identificó una asociación significativa entre los niveles plasmáticos de PCT y el índice de oxigenación PaO_2/FIO_2 a las 24, 48 y 72 horas del trasplante.
- Los niveles de PCT a las 24 horas del trasplante estuvieron significativamente asociados con el grado de DPI a las 72 horas.
- La determinación de niveles de PCT < 2 ng/ml a las 24 horas del trasplante se asoció de forma independiente en el modelo de regresión logística (excepto por la aplicación de circulación extracorpórea durante el trasplante) con bajo riesgo de DPI grado 3 a las 72 horas del trasplante.
- Los niveles de PCT e IL-10 a las 24, 48, y 72 horas del trasplante se correlacionaron significativamente con las mediciones de VEMS 1 un año después.
- Los niveles de IL-10 a las 48 horas se correlacionaron significativamente con las mediciones de CVF un año después.

6.2. ESTUDIO 2

Neumonía versus disfunción del injerto como causas de insuficiencia respiratoria aguda después del trasplante pulmonar: un estudio multicéntrico prospectivo de 153 pacientes que requieren ingresar en la Unidad de Cuidados Intensivos.

- Se registraron 174 reingresos en UCI, en 153 adultos trasplantados de pulmón, a una mediana de 6 meses después del trasplante.
- Treinta y nueve (25.5%) pacientes tenían diagnóstico de disfunción crónica del injerto al momento del ingreso en UCI, trece de ellos con fenotipo restrictivo.
- La IRA fue la primera indicación de ingreso en UCI (72%).
- La neumonía fue la primera causa de: ingreso en UCI, IRA, indicación de ventilación mecánica invasiva y sepsis.
- *Pseudomonas aeruginosa* (50% multirresistentes) fue el patógeno que más frecuentemente se identificó en las neumonías al ingreso en UCI.
- El síndrome de bronquiolitis obliterante estadio 2 y 3 y el síndrome de disfunción restrictiva del injerto al ingreso se identificaron como marcadores predictores independientes de mortalidad en UCI en el análisis multivariante.
- La neumonía al ingreso se identificó como predictor independiente de mortalidad en UCI en el análisis multivariante. Por otra parte la identificación de anticuerpos específicos anti-HLA del donante no se identificó estadísticamente, como biomarcador capaz de predecir el pronóstico de los pacientes trasplantados de pulmón que requirieron reingreso en UCI.

7. DISCUSIÓN

Ambos estudios hacen nuevas aportaciones al conocimiento actualmente existente sobre las causas, pronóstico y manejo de la insuficiencia respiratoria aguda, tanto en el postoperatorio inmediato como tardío del trasplante pulmonar.

Esta ha sido la primera vez que mediante un estudio prospectivo se demuestra una asociación entre los niveles plasmáticos de PCT en el período postoperatorio (72 horas) y la función del injerto a las 72 horas después del trasplante. Los resultados del primer estudio de esta tesis mostraron que un punto de corte en la medición de PCT < 2 ng/ml a las 24 horas del trasplante tiene un alto valor predictivo para excluir disfunción primaria del injerto grado 3 a las 72 horas y la mortalidad en la UCI. También ha sido la primera vez, que se ha identificado una asociación de los niveles plasmáticos de PCT e IL-10 a las 48 horas del trasplante con la función de injerto un año después de la cirugía.

Dicho estudio solo incluye adultos, de manera que no aporta información que pueda ser aplicada con seguridad a pacientes pediátricos, debido a que se desconoce si la interpretación de los biomarcadores estudiados puede ser traspolada del paciente adulto al pediátrico. Sin embargo, los resultados en adultos invitan a una interpretación más cuidadosa de la información que aportan estos biomarcadores en el postoperatorio de un trasplante pulmonar. En el caso de la PCT, que ha sido considerada un marcador de infección en otros escenarios, en el escenario del trasplante pulmonar obliga a una reflexión mucho más ponderada e individualizada. Por lo tanto, los resultados aportan información que potencia el ejercicio de una medicina más precisa.

Aunque el primer estudio fue realizado en un solo centro, éste fue diseñado con el fin de detectar resultados estadísticamente significativos que sean comparables con otros centros que realizan trasplante pulmonar. Por otra parte, analiza una muestra de pacientes superior a la de estudios previos con diseño similar, en un centro con una experiencia sólida que sobrepasa los 100 trasplantes al año.

Una de las limitaciones del estudio fue que no se determinaron los niveles de biomarcadores previos a la cirugía, lo que habría proporcionado niveles de referencia y permitido calcular la variación de los niveles en lugar de puntos de corte, ya que el valor

óptimo de punto de corte dependiendo del escenario clínico sigue siendo un tema de debate. Este es un elemento de gran importancia, ya que la respuesta inflamatoria no solo depende del tipo y la intensidad de la lesión, sino también de la respuesta idiosincrásica del individuo. No obstante, el estudio fue capaz de identificar un punto de corte que sirva de piedra angular en el análisis clínico para la toma de decisiones y el establecimiento de un pronóstico.

Para el análisis de los receptores de un trasplante pulmonar que requieren de cuidados intensivos nuevamente, más allá del postoperatorio, se desarrolló el mayor estudio de cohorte prospectivo y multicéntrico conocido hasta la fecha. Es importante destacar que la neumonía bacteriana se identificó como la causa principal de reingreso en UCI (y un factor de riesgo independiente para la mortalidad en UCI), siendo *Pseudomonas aeruginosa* el principal patógeno identificado. Las infecciones pulmonares por aspergilosis, *P. jiroveci* y virus respiratorios (incluida la gripe) fueron causas poco probables de insuficiencia respiratoria aguda. El rechazo del injerto fue una causa relativamente infrecuente de insuficiencia respiratoria aguda (solo el 5% de los pacientes ingresaron por rechazo agudo del injerto) y la presencia de anticuerpos específicos anti-HLA del donante antes del ingreso en la UCI no influyó significativamente en los resultados. En contraste, la disfunción crónica del injerto fue identificada como un predictor significativo de muerte; la supervivencia se correlacionó inversamente con la gravedad de la obstrucción en el fenotipo obstructivo, y en el fenotipo restrictivo todos los pacientes murieron en la UCI, excepto uno que murió posteriormente antes de ser dado de alta del hospital, por lo que este fenotipo puede considerarse como una indicación para los cuidados paliativos en lugar de intensivos.

En la cohorte de estudio aproximadamente el 22% de los receptores fueron readmitidos en la UCI en el primer mes y el 50% en los seis meses posteriores al trasplante pulmonar. Esto introduce un sesgo potencial, ya que un período de tiempo tan corto no permite la identificación de reducciones en las mediciones de las pruebas funcionales respiratorias (VEMS y CVF) y por tanto el diagnóstico de disfunción crónica del injerto. Por otra parte, en la fase temprana después del trasplante, no se suele establecer el diagnóstico del síndrome de bronquiolitis obliterante, pues habitualmente se requiere varios meses de postoperatorio para saber cuál es el nivel máximo de función del injerto. Adicionalmente, después de identificar un deterioro funcional, se requiere de tiempo suficiente para

determinar si éste tiene algún componente de reversibilidad. La mayoría de los casos de bronquiolitis obliterante se manifiestan después del primer año del trasplante.

En el estudio de pacientes trasplantados de pulmón que son readmitidos en UCI, se realizó un reclutamiento prospectivo y multicéntrico, que representa el 73.2% de la cifra total de trasplantes pulmonares realizados durante el periodo de reclutamiento en España (uno de los países líderes de donación y trasplante del mundo). A pesar de que en este estudio existe heterogeneidad en el tamaño muestral de los diferentes centros, el modelo multivariado fue controlado y ajustado por centro. Los hallazgos de este estudio son relevantes y aplicables en cualquier UCI del mundo desarrollado, incluso en centros que no cuenten con un programa de trasplante pulmonar, los cuales también deben estar interesados en este tópico, ya que hoy en día los pacientes trasplantados de pulmón pueden alcanzar una calidad de vida y autonomía que les permite vivir o viajar fuera de la región donde se han trasplantado.

Los pacientes se incluyeron durante un período de cuatro años, y no se pueden aplicar las definiciones de sepsis 3 que aparecen después del inicio de recogida de datos. El carácter reducido del trasplante pulmonar dentro de la población general obliga un periodo prolongado de reclutamiento para alcanzar una muestra representativa. Situación que en este caso no se ha visto marcada por ningún cambio relevante en la estrategia de diagnóstico o manejo de estos pacientes que pueda ser considerado un inconveniente en el análisis de los resultados.

Los datos sobre el tratamiento perioperatorio de estos pacientes no se registraron y desconocemos su posible asociación con el reingreso en UCI y la mortalidad. No obstante, la mediana de tiempo transcurrido desde el trasplante hasta el reingreso fue de 6 meses, por lo que es poco probable que esto tenga alguna influencia. Por otra parte, el seguimiento realizado en el estudio, más allá de la estancia en UCI provee información valiosa al profesional responsable del cuidado de pacientes trasplantados de pulmón que se encuentra en estado crítico y requieren ingresar en UCI. Un ejemplo, es la dramática tasa de mortalidad registrada en los pacientes que requieren un segundo o tercer reingreso en UCI. Así, este estudio no solo identifica las causas de ingreso y factores pronósticos del paciente trasplantado de pulmón que requiere ingresar en la UCI, sino que también pone en evidencia, con cifras objetivas, la alta fragilidad de estos pacientes después del paso por la UCI.

8. CONCLUSIONES

- La neumonía, mayoritariamente causada por *Pseudomonas aeruginosa*, es la principal causa de reingreso en UCI de pacientes trasplantados de pulmón, ya sea por insuficiencia respiratoria o sepsis. Además, la neumonía es un predictor independiente de mortalidad en UCI y hospitalaria en estos pacientes.
- El rechazo agudo del injerto pulmonar, tanto celular como mediado por anticuerpos, es una causa poco frecuente de insuficiencia respiratoria aguda que conduzca al reingreso en UCI.
- Los niveles plasmáticos de PCT en el postoperatorio inmediato del trasplante pulmonar están asociados con la capacidad de oxigenación del injerto pulmonar durante las primeras 72 horas.
- La determinación de los niveles plasmáticos de PCT a las 24 horas del trasplante tienen valor pronóstico, ya que es capaz de identificar los pacientes con bajo riesgo de presentar disfunción primaria del injerto grado tres a las 72 horas y de morir de forma precoz en la UCI.
- Los niveles plasmáticos tanto de PCT como IL-10 durante las primeras 48 horas después del trasplante pueden ayudar a identificar pacientes con más riesgo de disfunción crónica del injerto, al estar asociados con las pruebas funcionales respiratorias un año después del trasplante.
- La existencia de disfunción crónica del injerto al reingreso en UCI es un indicador de mal pronóstico al estar asociada de forma independiente con la mortalidad en UCI y hospitalaria, mostrando peor pronóstico aquellos pacientes con un fenotipo restrictivo.

9. LÍNEAS DE FUTURO

Los hallazgos del primer estudio plantean por primera vez al biomarcador PCT en el escenario del postoperatorio temprano de un trasplante pulmonar como un marcador de la función del injerto y la posibilidad de supervivencia, y resalta los factores que modifican su interpretación como marcador de infección. Además, plantea a dicho biomarcador junto con la IL-10 como factor predictor de la función del injerto a largo plazo. Dichos hallazgos redefinen al biomarcador PCT en el paciente trasplantado de pulmón y suman una herramienta que facilita el diagnóstico diferencial de la IRA tras el trasplante pulmonar.

Dado los resultados, del primer estudio de esta tesis, se ha iniciado un proyecto que estudia a los biomarcadores IL-6, IL-8, IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) tanto en los receptores como en los donantes pulmonares para conocer el papel que juega el donante, y los diferentes procesos de muerte y donación en el patrón de respuesta inflamatoria y el impacto final en el desarrollo y severidad de la DPI.

Un proyecto ya en marcha pretende evaluar la influencia del acondicionamiento del injerto pulmonar con sevoflurano durante la extracción en el donante, en la modulación de la respuesta inflamatoria implicada en el desarrollo de DPI. Se analizará IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α en las distintas etapas del trasplante.

Se ha diseñado otro proyecto que pretende evaluar la influencia del tratamiento del receptor pulmonar con estatinas, en la modulación de la respuesta inflamatoria implicada en el desarrollo de DPI. Se analizará IL-6, IL-8, IL-10 y FNT- α en las distintas etapas del trasplante.

La identificación en el segundo estudio de la influencia en el pronóstico de los diferentes fenotipos de disfunción crónica del injerto, refuerza la hipótesis de que estos son la expresión clínica de diferentes alteraciones bioquímicas y estructurales del parénquima pulmonar que ocurren previamente al deterioro en la función del injerto. Estos mecanismos no están bien estudiados, por lo que los siguientes pasos en investigación deben buscar identificar biomarcadores que permitan detectar cuando dichos procesos se ponen en marcha haciendo un diagnóstico previo al que aporta el estudio histológico o de la función pulmonar, ya que en la mayoría de los casos un cambio estructural no es reversible o poco

modificable. Adicionalmente, podrían aportar información de las diferencias entre los desencadenantes y las distintas respuestas que hasta ahora están englobadas en un solo síndrome conocido como disfunción crónica del injerto, permitiendo aumentar la precisión en el manejo individualizado de cada paciente e incluso permitir aplicar medidas preventivas que eviten o retrasen la enfermedad.

Siguiendo la línea de investigación del estudio de los pacientes que requieren reingreso en la UCI, se han determinado los niveles de diversos biomarcadores con un perfil que tenga potencialidad para ser una herramienta de utilidad en el diagnóstico y pronóstico de estos pacientes al momento inicial del ingreso.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en ambos estudios revelando la infección del injerto como problema fundamental y un perfil microbiológico muy bien definido; se ha puesto en marcha otro proyecto que estudia las características epidemiológicas, del proceso y técnica de donación, y el perfil microbiológico de los donantes, para valorar su potencial impacto en los resultados de los receptores.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr, et al. Lung homotransplantation in man. *JAMA*, 186 (1963), pp. 1065-1074.
2. Veith FJ, Kamholz SL, Mollenkopf FP, et al. Montefusco CM. *Transplantation*, 35 (1983), pp. 271-278
3. Actividad en donación y trasplante. Organización Catalana de Trasplantes (OCATT). <http://trasplantaments.gencat.cat/es/detall/article/Activitat-donacio>. Última vez visitado en junio de 2019.
4. Actividad en donación y trasplante. Organización Nacional de Trasplantes (ONT). <http://www.ont.es/infesp/Memorias/Actividad%20de%20Donaci%C3%B3n%20y%20Trasplante%20Pulmonar.pdf>. Última vez visitado en junio de 2019.
5. Chambers D, Cherikh W, Goldfarb S. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fifth adult lung and heart-lung transplant report—2018; Focus theme: Multiorgan Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2018; 37: 1169–1183.
6. Christie JD, Carby M, Bag R, et al. ISHLT Working group on primary lung graft dysfunction. Report of the ISHLT working group on primary lung graft dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for heart and lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24:1454-1459.
7. De Perrot, Liu M, Waddell TK, et al. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 490-511.
8. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, et al. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 211–215.
9. Shah RJ, Bellamy SL, Localio AR, et al. A panel of lung injury biomarkers enhances the definition of primary graft dysfunction (PGD) after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2012 Sep; 31(9): 942-949.
10. Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forychi ZF, et al. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26 (Suppl 2): S148-S152.
11. Hammer S, Fraunberger P, Meiser B, et al. Procalcitonin, a new indicator for non-viral

- infections in heart, lung or liver transplant patients. *Ann Transplant* 1999; 4: 5-9.
12. Desmard M, Benbara A, Boudinet S, et al. Post-operative kinetics of procalcitonin after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2015; 34: 189–194.
 13. Kuse ER, Jaeger K. Procalcitonin increase after anti-CD3 monoclonal antibody therapy does not indicate infectious disease. *Transpl Int.* 2001; 14(1): 55.
 14. Madershahian N1, Wittwer T, Strauch J, et al. Kinetic of procalcitonin in the early postoperative course following heart transplantation. *J Card Surg.* 2008 Sep-Oct; 23(5): 468-473.
 15. Zazula R, Prucha M, Tyll T, et al. Induction of procalcitonin in liver transplant patients treated with anti-thymocyte globulin. *Crit Care.* 2007; 11(6): R131.
 16. Coelho MC, Tannuri U, Tannuri AC, et al. Is procalcitonin useful to differentiate rejection from bacterial infection in the early post-operative period of liver transplantation in children? *Pediatr Transplant* 2009 Dec; 13(8): 1004-1006.
 17. Eyraud D, Ben Ayed S, Tanguy ML, et al. Procalcitonin in liver transplantation: are high levels due to donors or recipients? *Crit Care.* 2008; 12(4): R85.
 18. Kunz D, Pross M, König W, et al. Diagnostic relevance of procalcitonin, IL-6 and cellular immune status in the early phase after liver transplantation. *Transplant Proc* 1998 Aug; 30(5): 2398-2399.
 19. Perrakis A, Yedibela S, Schellerer V, et al. Procalcitonin in the setting of complicated postoperative course after liver transplantation. *Transplant Proc* 2010 Dec; 42(10): 4187-4190.
 20. Hammer S, Fraunberger P, Meiser B, et al. Procalcitonin, a new indicator for non-viral infections in heart, lung or liver transplant patients. *Ann Transplant* 1999; 4: 5-9.
 21. Prat C, Ricart P, Ruyra X, et al. Serum concentrations of procalcitonin after cardiac surgery. *J Card Surg.* 2008 Nov-Dec; 23(6): 627-632.

22. Foushee JA, Hope NH, Grace EE. Applying biomarkers to clinical practice: a guide for utilizing procalcitonin assays. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 2560-2569.
23. Adamik B, Kübler-Kielb J, Golebiowska B, et al. Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications *Intensive Care Med.* 2000 Sep; 26(9): 1259-1267.
24. Kallel S, Abid M, Jarraya A, et al. Kinetics, diagnostic and prognostic value of procalcitonin after cardiac surgery. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012; 70: 567–580.
25. Baron EJ1, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) (a). *Clin Infect Dis.* 2013 Aug; 57(4): e22-e121.
26. Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med.* 2008 Mar; 36(3): 941-952.
27. Sabat R1, Höflich C, Döcke WD, et al. Massive elevation of procalcitonin plasma levels in the absence of infection in kidney transplant patients treated with pan-T-cell anti-bodies. *Intensive Care Med.* 2001 Jun; 27(6): 987-991.
28. Yu XY, Wang Y, Zhong H, et al. Diagnostic value of serum procalcitonin in solid organ transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Transplant Proc.* 2014 Jan-Feb; 46(1): 26-32.
29. De Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, et al. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med.* 2008 Mar; 34(3): 518-522.
30. Hammer S, Fraunberger P, Meiser B, et al. Procalcitonin, a new indicator for nonviral

- infections in heart, lung or liver transplant patients. *Ann Transplant*. 1999;4(2):5-9.
31. Hammer S, Meisner F, Dirschedl P, Fraunberger P, et al. Procalcitonin for differential diagnosis of graft rejection and infection in patients with heart and/or lung grafts. *Intensive Care Med*. 2000 Mar; 26 Suppl 2: S182-186.
 32. Sabat R1, Höflich C, Döcke WD, et al. Massive elevation of procalcitonin plasma levels in the absence of infection in kidney transplant patients treated with pan-T-cell anti-bodies. *Intensive Care Med*. 2001 Jun; 27(6): 987-991.
 33. Yu XY, Wang Y, Zhong H, et al. Diagnostic value of serum procalcitonin in solid organ transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Transplant Proc*. 2014 Jan-Feb; 46(1): 26-32.
 34. Rello J. Lung transplant: An emerging challenge in the ICU. *Med Intensiva* 2012; 36: 504–505.
 35. Fuehner T, Greer M, Welte T, et al. The lung transplant patient in the ICU. *Curr Opin Crit Care* 2012; 18 (5): 472-478.
 36. Verleden GM, Vos R, Vanaudenaerde B, et al. Current views on chronic rejection after lung transplantation. *Transpl Int* 2015; 28: 1131–1139.
 37. Gauthier JM, Hachem RR, Kreisel D. Update on Chronic Lung Allograft Dysfunction. *Curr Transplant reports* 2016; 3: 185–191.
 38. Verleden SE, Vos R, Vanaudenaerde BM, et al. Chronic lung allograft dysfunction phenotypes and treatment. *J Thorac Dis* 2017; 9: 2650–2659.
 39. Hodge S, Holmes M, Banerjee B, et al. Posttransplant bronchiolitis obliterans syndrome is associated with bronchial epithelial to mesenchymal transition. *Am J Transplant* 2009; 9(4): 727-733.
 40. Pietrantonio C, Minai OA, Yu NC, et al. Respiratory failure and sepsis are the major causes of ICU admissions and mortality in survivors of lung transplants. *Chest* 2003;

123: 504–509.

41. González-Castro A, Suberviola B, Llorca J, et al. Prognosis Factors in Lung Transplant Recipients Readmitted to the Intensive Care Unit. *Transplant Proc* 2007; 39: 2420–2421.
42. Cohen J, Singer P, Raviv Y, et al. Outcome of lung transplant recipients requiring readmission to the intensive care unit. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30: 54–58.
43. Hadjiliadis D, Steele MP, Govert JA, et al. Outcome of Lung Transplant Patients Admitted to the Medical ICU. *Chest* 2004; 125: 1040–1045.
44. Banga A, Sahoo D, Lane CR, et al. Characteristics and Outcomes of Patients With Lung Transplantation Requiring Admission to the Medical ICU. *Chest* 2014; 146: 590–599.
45. Maurer JR, Tullis E, Grossman RF, et al. Infections complications following isolated lung transplantation. *Chest* 1992; 101: 1056-1059.
46. Riera J, Senna A, Cubero M, Roman A, Rello J. Primary graft dysfunction and mortality following lung transplantation: A role for proadrenomedullin plasma levels. *Am J Transplant*. 2015; 16(2): 634-639.
47. Yusen RD, Edwards LB, Dipchand AI, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Lung and Heart–Lung Transplant Report—2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35: 1170–1184.
48. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988; 837-845
49. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America (2005) Guidelines

- for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 388–416.
50. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2007 Dec; 26 (12): 1229–1242.
 51. Berry G, Burke M, Andersen C, et al. Pathology of pulmonary antibody-mediated rejection: 2012 update from the Pathology Council of the ISHLT. *J Heart Lung Transplant*. 2013; 32(1):14-21.
 52. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250–1256.
 53. Christie JD, Carby M, Bag R, et al. ISHLT Working group on primary lung graft dysfunction. Report of the ISHLT working group on primary lung graft dysfunction part II: definition. A consensus statement of the international society for heart and lung transplantation, *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1454–1459.
 54. Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-eighth Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report—2011. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30: 1104–1122.
 55. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2016) Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, versions 1.3 and 2.0. Available online at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed 20 June 2016.
 56. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, 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: 268–281.

57. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8: R204–R212.
58. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* Jun 2005; 67(6): 2089-2100.
59. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria. 2017. URL: <http://www.R-project.org>.