



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**

Drielly Rodrigues Moura Izaias

**PREVALÊNCIA DE HERPÉVÍRUS TIPO 4, 5 E 6 EM
TRANSPLANTADOS RENAIIS**

BRASÍLIA, DF.

2022

Drielly Rodrigues Moura Izaias

**PREVALÊNCIA DE HERPÉVÍRUS TIPO 4, 5 E 6 EM
TRANSPLANTADOS RENAIIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial ao Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília para obtenção do título de mestre.

Orientador(a): Rodrigo Haddad

BRASÍLIA, DF

2022

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rp Rodrigues Moura Izaias, Drielly
PREVALÊNCIA DE HERPERVÍRUS TIPO 4, 5 E 6 EM
TRANSPLANTADOS RENAIIS / Drielly Rodrigues Moura Izaias;
orientador Rodrigo Haddad. -- Brasília, 2023.
68 p.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) --
Universidade de Brasília, 2023.

1. Herpesvirus em transplantados renais. 2.
Citomegalovirus em transplantados renais. 3. Epstein-barr em
transplantados renais. 4. Herpesvirus tipo 6 em
transplantados renais. I. Haddad, Rodrigo, orient. II.
Título.

Drielly Rodrigues Moura Izaias

**PREVALÊNCIA DE HERPÉVÍRUS TIPO 4, 5 E 6 EM
TRANSPLANTADOS RENAIIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial ao Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília para obtenção do título de mestre.

Orientador(a): Rodrigo Haddad

Trabalho Aprovado em ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Orientador
Prof. Dr. Rodrigo Haddad - UnB

Membro externo
Dr. Svetoslav Nanev Slavov – Instituto Butatan

Membro PPGMT
Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araujo - NMT

Membro suplente
Prof. Dr. Alex Leite Pereira - UnB

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre estar presente em minha vida, dando todo direcionamento e entendimento que necessito, por me fazer prosseguir mesmo no meio de tanta adversidade, em Isaías 41:10 diz: “Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.” Em todos os dias, eu consigo vivenciar essa promessa.

Gostaria de agradecer a minha família (Naldo, Cida, Danyel e Deborah) eles são a base que Deus colocou em minha vida, sem eles nada que conquistei até hoje seria possível, obrigada por tanto amor e motivação.

Ao meu querido esposo Anderson, que sempre esteve comigo na alegria e na tristeza, obrigada por ser o meu refúgio e motivação, sou grata por tudo que alcançamos e por tudo que iremos alcançar.

Agradeço ao meu orientador Rodrigo Haddad, que tem sido um pai acadêmico em minha vida, sempre estendendo a mão quando tudo parecia estar perdido. Agradeço toda a sua confiança e todos os ensinamentos ao longo desses anos. Obrigada por todo apoio, incentivo e oportunidades. Minha grande admiração por todo seu conhecimento e disposição.

Agradeço a toda equipe do Hospital Universitário de Brasília (HUB) por todo suporte fornecido, pelas trocas de experiências, pela convivência sempre alegre, por tornarem meu dia a dia muito mais prazeroso.

A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho: MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 Estrutura dos vírus da família Herpesviridae, f. 13
- Fig. 2 Esquema ilustrativo do fenômeno de latência em herpesvírus humano, f. 15
- Fig. 3 Ciclo do Epstein-barr vírus, f. 17
- Fig. 4 Ciclo de replicação do citomegalovírus, f. 20
- Fig. 5 Relação de positivos para CMV de acordo com o tempo pós transplante, f. 31
- Fig. 6 Positivos para CMV x tempo pós transplante, f. 32
- Fig. 7 Esquema de imunossupressor utilizado, f. 33
- Fig. 8 Imunossupressor x positivos para CMV, f. 34
- Fig. 9 Esquema de imunossupressão usados para os 34 pacientes positivos para CMV, f. 35
- Fig. 10 Esquema de imunossupressão x positivos para CMV de 0 a 180 dias pós transplante, f. 36
- Fig. 11 Imunossupressor x positivos para CMV de 0 a 180 dias pós transplante, f. 37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Tipos de herpesvírus humanos, f.14

TABELA 2 – Sondas, iniciadores e protocolos da reação utilizada, f. 28

TABELA 3 – Sequência 5' – 3' das sondas e iniciadores utilizados, f. 28

TABELA 4 – Características demográficas e prevalência de CMV, EBV e HHV-6, f. 30

LISTA DE ABREVIações

CMV	Citomegalovírus
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EBV	Vírus Epstein-Barr
HHV	Herpesvírus Humano
HUB	Hospital Universitário de Brasília
MI	Mononucleose Infecciosa
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VZV	Vírus da Varicela Zóster
DLPT	Doenças Linfoproliferativas Pós- transplante
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TOS	Transplante de Órgãos Sólidos
CTS	Collaborative Transplant Study
HLA	Antígenos Leucocitários Humanos
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa
ATG	Globulina Antitimocitária

ÓRGÃO FINANCIADOR

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal, processo SEI GDF
Número 0019300000932/2019-14

ÍNDICE

1. Introdução	f. 13
1.1 Herpesvírus Humanos	f. 13
1.2 Epstein-barr	f. 16
1.3 Citomegalovírus	f. 18
1.4 Herpesvírus Humano tipo 6	f. 19
1.5 Transplantes Renais	f. 21
2. Justificativa	f. 23
3. Objetivos	f. 24
3.1 Objetivo Geral	f. 24
3.2 Objetivo Específico	f. 24
4. Métodos	f. 25
4.1 Risco e benefícios para os pacientes	f. 25
4.2 Critérios de inclusão	f. 26
4.3 Considerações éticas	f. 26
4.4 Coleta de sangue periférica	f. 26
4.5 Extração do material genético	f. 26
4.6 PCR em tempo real	f. 27
4.7 Dados dos pacientes	f. 28
4.8 Estatística	f. 29
5. Resultados	f. 29
6. Discussão	f. 37
7. Conclusão	f. 45
8. Referência	f. 46
9. Artigo para publicação	f. 56
Introdução	f.57
Método	f. 57
Resultado	f 59
Discussão	f. 64
Referência	f. 66

RESUMO

Os herpesvírus humanos, dentre eles o Citomegalovírus (CMV), o vírus Epstein Barr (EBV) e o Herpesvirus humano do tipo 6 (HHV-6), são considerados importantes agentes patogênicos em pacientes imunossuprimidos, quando se trata de pacientes receptores de transplantes renais. A infecção por esses vírus pode trazer sérios problemas ao paciente transplantado, podendo gerar episódios de rejeição e perda do enxerto. Não há estudos de prevalência dos herpesvírus humanos CMV, EBV e HHV-6 em pacientes transplantados no Distrito Federal. Diante disso, este estudo objetivou avaliar a prevalência desses herpesvírus em amostras de plasma de 170 pacientes transplantados renais acompanhados no Hospital Universitário de Brasília. Ainda, a prevalência encontrada foi analisada frente ao gênero, tempo pós-transplante e esquema de tratamento com imunossuppressores. Após extração de ácidos nucleicos do plasma, as amostras foram testadas por meio de PCR em tempo real para cada um dos vírus estudados. Os resultados demonstraram uma prevalência de 20% (34/170) para o CMV, 1,7% (3/170) para o EBV e 0,6% (1/170) para o HHV-6. Não houve diferença estatística na prevalência de nenhum vírus avaliado entre homens e mulheres. Ainda, foi observado que a prevalência do CMV diminuiu de acordo com o tempo pós-transplante, e que o esquema de imunossupressão parece influenciar no aparecimento da infecção; enquanto os imunossuppressores sirolimo e everolimo parecem exercer um efeito protetor contra a infecção pelo CMV, os imunossuppressores micofenolato e o tacrolimo parecem favorecer a infecção. Os resultados desse trabalho permitem conhecer a prevalência desses herpesvírus em pacientes transplantados renais do Distrito Federal, e poderão servir de base para definição de protocolos que visem a prevenção dessas infecções nessa população.

Palavras-chaves: Herpesvírus, Transplante Renal, Citomegalovírus, Epstein-Barr, Herpesvírus Humano do tipo 6

ABSTRACT

Human herpesviruses, including Cytomegalovirus (CMV), Epstein Bar virus (EBV, and human Herpesvirus type 6 (HHV-6), are considered important pathogenic agents in immunosuppressed patients, especially when it comes to kidney transplant recipients. Infection with these viruses can cause serious problems for the transplanted patient, and may lead to episodes of rejection and graft loss. There are no studies on the prevalence of human herpesviruses CMV, EBV and HHV-6 in transplanted patients in the Federal District. The study aimed to evaluate the prevalence of these herpesviruses in plasma samples from 170 kidney transplant patients monitored at the University Hospital of Brasília. Also, the prevalence found was correlated with gender, post-transplantation time and treatment regimen with immunosuppressants. After extraction of nucleic acids from the plasma, the samples were tested by means of real-time PCR for each of the studied viruses. The results showed a prevalence of 20% (34/170) for CMV, 1.7% (3/170) for EBV and 0.6% (1/170) for HHV-6. There was no statistical difference in the prevalence of any virus evaluated between men and women. Furthermore, it was observed that the prevalence of CMV decreases with time post-transplantation, and that the immunosuppression scheme seems to influence the appearance of the infection; while the immunosuppressants sirolimus and everolimus seem to exert a protective effect against CMV infection, the mycophenolate and tacrolimus favor the infection. The results of this work allow knowing the real prevalence of these herpesviruses in kidney transplant patients in the Federal District and may help to define protocols aimed at preventing these infections in this population.

Keywords: Herpesvirus, Kidney Transplantation, Cytomegalovirus, Epstein-Barr, Human Herpesvirus type 6

1. INTRODUÇÃO

1.1. Herpesvírus Humanos:

Os Herpesvírus Humanos (HHV) integram a família *Herpesviridae* (MADIGAN et al., 2010; RAMOS et al., 2021) e têm como seu hospedeiro, unicamente, o homem (SANTOS et al., 2012). Tratam-se de partículas virais constituídas por um nucleoide formado pelo genoma e algumas proteínas (Figura1). Essas partículas se encontram envolvidas por capsídeo icosaédrico, tegumento de estrutura fibrilar e envelope constituído por bicamada lipídica de origem celular e glicoproteínas virais (FERREIRA et al., 2010).

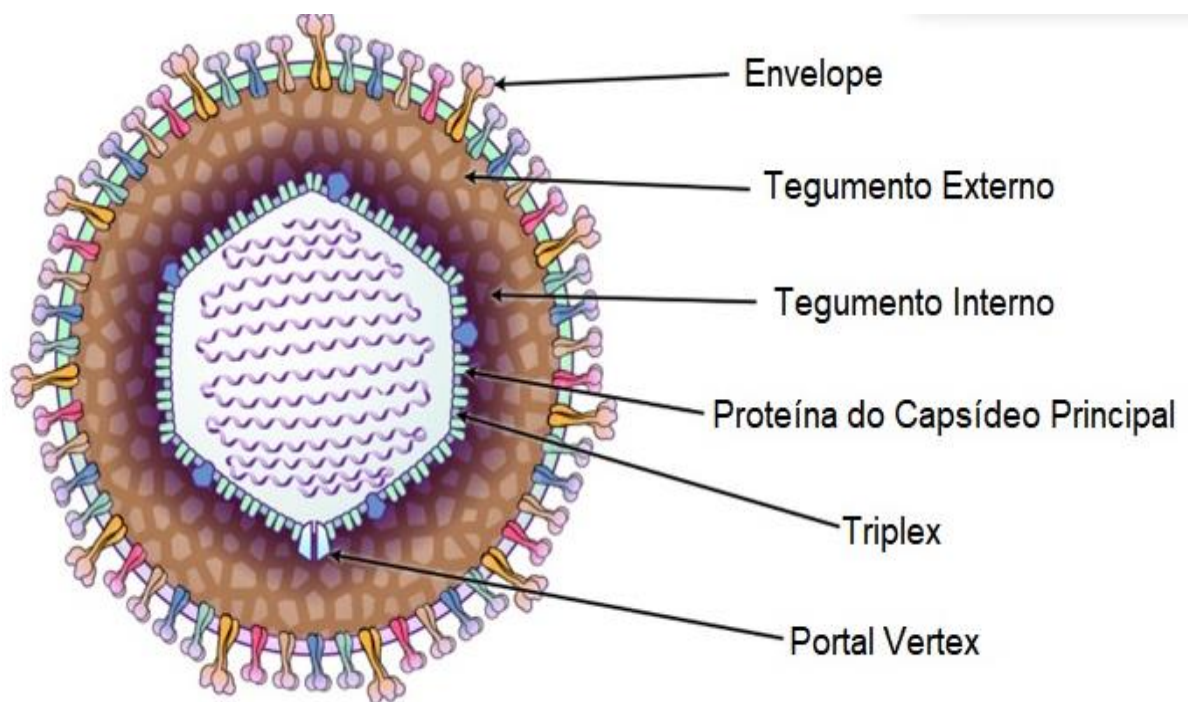


Figura 1: Estrutura dos vírus da família *Herpesviridae*

Três subfamílias compõem a família *Herpesviridae* (tabela 1), diferenciando-se pelo poder patogênico dos diferentes tipos desse vírus, bem como suas particularidades virais e estruturais (SANTOS et al., 2012). Ao todo, são 8 diferentes tipos de HHV divididos nessas 3 subfamílias: 1)

Alphaherpesviridae (α -herpesviridae) – que compreende os Herpesvírus Simples tipo I e II (HHV-1 e HHV-2) e o Vírus da Varicela Zóster (VZV ou HHV-3); 2) *Betaherpesviridae* (β -herpesviridae) – que compreende Citomegalovírus (CMV ou HHV-5), Herpesvírus tipo 6 (HHV-6) e Herpesvírus tipo 7 (HHV-7); 3) *Gammaherpesvirus* (γ -herpesviridae) – que compreende o Vírus Epstein-Barr (EBV ou HHV-4) e Herpesvírus tipo 8 (HHV-8) (MADIGAN et al., 2010).

Subfamília	Nome Taxonômico	Nome Comum
<i>Alphaherpesviridae</i>	HHV – 1	Herpes Simples 1 (HSV - 1)
	HHV – 2	Herpes Simples 2 (HSV - 2)
	HHV – 3	Vírus Varicela - Zóster (VZV)
<i>Betaherpesviridae</i>	HHV – 5	Citomegalovírus (CMV)
	HHV -6	Herpesvírus tipo 6 variantes A ou B
	HHV – 7	Herpesvírus tipo 7
<i>Gammaherpesvirus</i>	HHV - 4	Vírus Epstein-Barr (EBV)
	HHV – 8	Sarcoma de Kaposi (KSHV)

Tabela 1: Tipos de herpesvírus humanos

Os HHVs possuem grande difusão, são latentes e, uma vez que ocorre a infecção, perduram no organismo do indivíduo por toda a sua vida (FERREIRA et al., 2010). Assim, no primeiro contato desses vírus com o organismo humano, eles permanecerão latentes, podendo ser reativados em certos períodos devido a diferentes circunstâncias, como estresse, gravidez, imunossupressão, neoplasias, transplante de órgão sólido, entre outros. Assim, novos episódios de sinais e sintomas podem ocorrer (MENDRONE JUNIOR, 2010; LOBATO-SILVA, 2016).

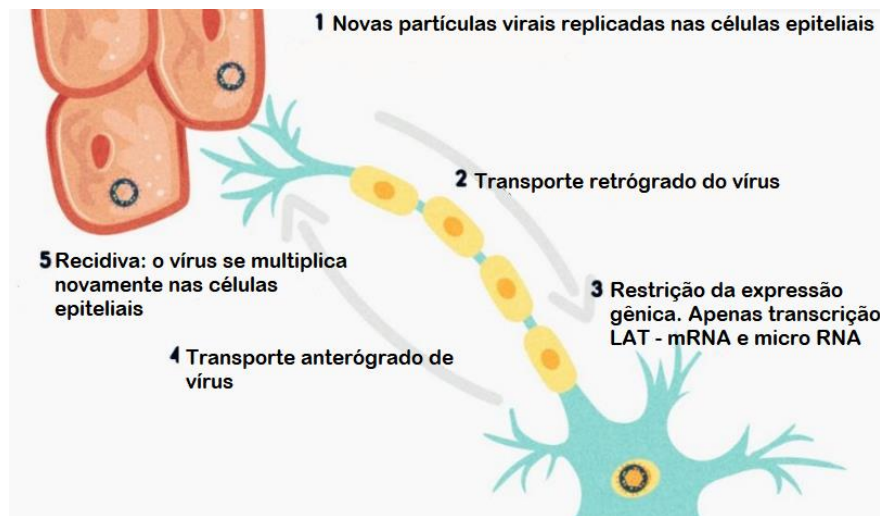


Figura 2: Esquema ilustrativo do fenômeno de latência em herpesvírus humano (Adaptado de (MORENO; JESÚS; GUERRA, 2021))

Em suma, os HHVs, como todos os vírus, necessitam de células para reproduzirem-se. O contato direto ou indireto de fluidos contaminados entre indivíduos que portam as partículas virais com indivíduos que não as possuem contribui para a propagação e reprodução dos HHV (SILVERMAN et al., 2004; MENDRONE JUNIOR, 2010). A contaminação ocorre, então, de forma inter-humana, através de contatos íntimos (saliva, sêmen, secreções vaginais, urina, fezes, sangue, lágrima e, até mesmo, leite materno), levando as secreções biológicas a atuarem como vetores (MENDRONE JUNIOR, 2010; OLIVER et al., 2013).

Havendo a infecções da célula, os vírions provocam uma infecção primária, levando à ocorrência de sintomas em graus e tipos variados. O aparecimento dos sintomas vai depender do tipo de vírus e da resposta imune do hospedeiro, podendo os vírus, permanecerem em estado de latência e permanecer no citosol como um epissoma (molécula de DNA extracromossômica) por grandes períodos até que seja novamente reativado (SILVERMAN et al., 2004; TRINDADE et al., 2007; YPIRANGA & MORAES, 2009).

Uma característica importante dos herpesvírus é o estabelecimento de um período de latência que geralmente ocorre após uma fase de replicação lítica ativa. Assim, durante o ciclo infeccioso, os genes virais passam a se

expressar levando a uma grande disseminação viral, que é amplamente reprimida durante a fase de latência (ROCHA et al., 2012).

Quando estão em período de latência, os herpesvírus podem ser reativados quando há no organismo diferentes estímulos como estresse, imunodepressão, radiação, neoplasias malignas, gravidez entre outros impulsos, que impedem o funcionamento ideal de glóbulos brancos, diminuindo a eficiência do sistema imunológico (ABBAS et al., 2007; TRINDADE et al., 2007; SILVERMAN et al., 2004). Isso provoca a reinfecção das células do hospedeiro (TRINDADE et al., 2007; SILVERMAN et al., 2004).

É importante ressaltar que a reativação de algumas espécies de HHVs que se encontram em estado de latência possui uma relação direta com o estado de imunodepressão dos indivíduos submetidos a transplante renal (PENELLO et al., 2010). Dentre essas espécies, existem algumas que são mais relevantes nesse grupo de indivíduos, como por exemplo, os HHVs do tipo 4 (EBV), 5 (CMV) e 6.

1.2. Vírus Epstein-Barr

O Vírus Epstein-Barr (EBV ou HHV-4) é um membro da subfamília γ -herpesviridae, constituído de DNA linear de fita dupla de 170-175 kb, sendo transmitido, principalmente, por transferência salivar de células B infectadas com EBV. A transmissão também pode ocorrer por aerossol (KERR, 2019). Esse vírus se caracteriza por estabelecer uma infecção latente ao longo da vida nos linfócitos B. Sua primeira infecção é mais frequente na infância, sendo uma infecção leve e que, normalmente, não apresenta sintomas. Quando ocorre na adolescência, porém, essa infecção leva à mononucleose infecciosa (MI) em 30 a 70% dos casos. Tal infecção é tão comum que, na idade adulta, estima-se que 90 a 95% da população já teve uma infecção por EBV (BOLIS et al., 2015; CADENA et al., 2021; KERR, 2019).

O EBV normalmente tem sua propagação através da saliva, passa para o epitélio das amígdalas e inicia-se a fase lítica da infecção – replicação viral –. Os linfócitos B quando são infectados se tornam linfoblastos ativados e se deslocam para o folículo do linfonodo para começar uma reação no centro

germinativo do folículo. A partir daí todas as proteínas de crescimento latentes são expressas e regulam adversamente o crescimento do EBV, iniciando o processo de saída das células do centro germinativo como linfócitos B de memória. A fase de Latência 0 começa nos linfócitos B de memória e tem como principal característica a interrupção da produção de todas as proteínas virais. Também pode ocorrer dos linfócitos B de memória infectados retornarem para as amígdalas, onde provocam mais replicação e disseminação viral e infectar outros linfócitos B. Na primo-infecção, os linfócitos T são os responsáveis para fazer a eliminação das células recém-infectadas e pelo controle da infecção. Porém, durante o período de latência, o EBV fica escondido do sistema imunológico, pois permanece nos linfócitos B de memória de forma inativa, sem expressar nenhuma proteína viral. A reativação viral ocorre quando os linfócitos B de memória infectados de forma latente inicia um novo ciclo viral, onde as partículas virais se replicam e infectam novas células (Figura 2) (SMATTI et al., 2018).

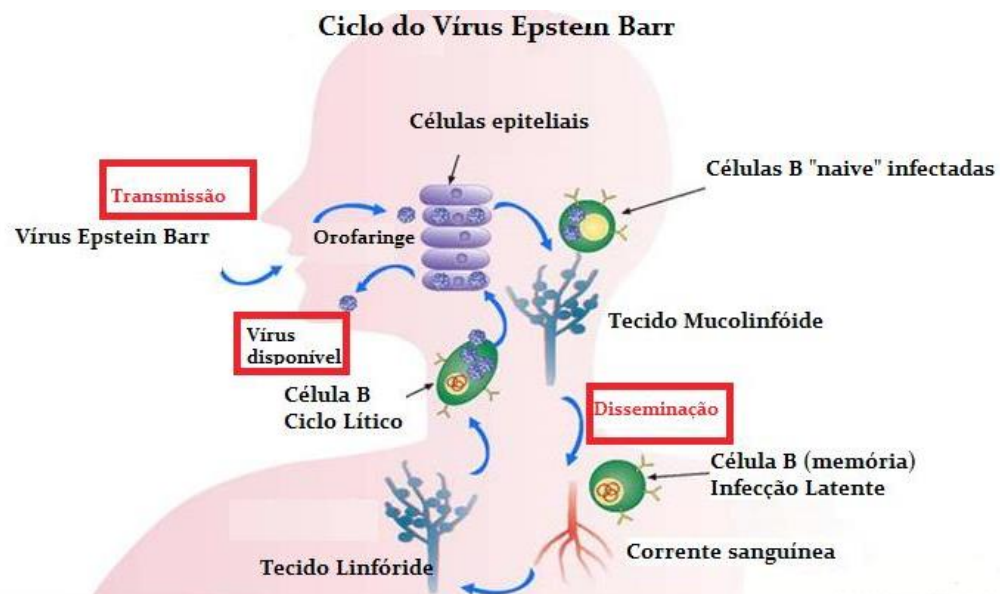


Figura 3: Ciclo do EBV

Quando o indivíduo é imunocomprometido, a reativação do EBV pode ser fatal levando a patologias graves como as Doenças Linfoproliferativas Pós- transplante (DLPT), que podem variar de proliferação benigna à linfomas malignos (CAILLARD S et al., 2006). Cerca de 80% das DLPT que estão

associadas ao EBV tem origem nos linfócitos B, entre 10 a 15% têm origem em linfócitos T e aproximadamente 1% em células Natural Killer, causando uma proliferação descontrolada dessas células. O estado de imunossupressão é o principal fator para desenvolver a enfermidade (TEREZA LAFAYETTE, 2015). Os tipos de manifestação clínica do EBV nesses indivíduos variam de acordo com tipo de órgão transplantado, do tempo de manifestação pós-transplante e da natureza da linfoproliferação. Os sintomas da doença variam desde sintomas comuns – febre, mal estar e fadiga – podendo chegar à perda do enxerto. A DLPT, atualmente é a causa mais comum de neoplasia pós transplante de órgãos sólidos em crianças e a segunda causa mais comum em adultos (JADE LE, 2016).

1.3. Citomegalovírus

O citomegalovírus (CMV ou HHV-5) é um β -herpes-vírus que pertence à família dos *Herpesviridae*, e é o maior herpesvírus humano conhecido, com 150 a 200nm de diâmetro. Geralmente a primeira infecção ocorre durante a infância, sendo a soroprevalência de 70 a 90% da população adulta, no caso de indivíduos em situações de imunodepressão pode ocorrer a reativação, como a SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida) e no transplante de órgão sólido. A infecção pelo CMV é a principal complicação infecciosa no transplante de rim, sendo motivo de alta morbimortalidade (REQUIÃO-MOURA et al., 2015).

O CMV pode ser transmitido através da saliva, urina, contato sexual, transferência placentária, transplante de células tronco hematopoiéticas, transplante de órgãos sólidos, entre outras secreções corporais contaminadas (CROUGH et al., 2009). Quando ocorre a ativação pelo CMV, pode ser classificada em duas formas conforme a sua manifestação clínica: infecção ou doença. Na infecção pelo CMV, existe a replicação viral inativa na ausência de sintomas, por outro lado a doença pelo CMV é definida pela síndrome clínica, onde o paciente apresenta sintomas como: astenia, mialgia, febre, trombocitopenia, leucopenia, alterações das enzimas hepáticas ou doenças

invasivas, quando existe evidência de inclusão viral em células de órgãos ou tecidos. Quando se trata de indivíduos imunocomprometidos o CMV pode ocasionar uma resposta imunoestimulatória geral e simultaneamente uma estimulação antigênica (REQUIÃO-MOURA et al., 2015)

O ciclo de replicação do CMV (figura 4), começa com a entrada do vírus na célula hospedeira através da junção entra a membrana da célula e o envelope viral. Este processo é mediado pelas glicoproteínas gB e gH virais. Após esse processo, inicia-se a liberação das proteínas do tegumento e do capsídeo no espaço intracelular (SHENK, 2008). Já dentro da célula hospedeira, o nucleocapsídeo vai em direção ao núcleo da célula e libera o DNA viral, prosseguindo para a transcrição do RNA viral e síntese de DNA, que desencadeia a ativação da produção dos genes iniciais imediatos (MOCARSKI, SHENK, PASS, 2007).

Da mesma forma que os outros herpesvírus, a expressão dos genes do CMV ocorre em 3 fases: a inicial imediata, a inicial e a tardia. Nas duas primeiras fases os genes codificam as proteínas não-estruturais do vírus (SISSONS, 1989). No decorrer da infecção ativa, ocorre a produção de proteínas da fase inicial imediata, que irão modular o meio celular e estimular a expressão dos genes da fase inicial. As proteínas da fase tardia compõem a estrutura do vírus e auxiliam na montagem e na saída das partículas recém-formadas (SAFFERT, PENKERT, KALEJTA, 2010).

A replicação do citomegalovírus abrange fases citoplasmáticas e nucleares, os processos de formação do capsídeo viral, síntese de DNA, empacotamento do genoma e a formação inicial do tegumento vão ocorrer no núcleo da célula infectada (BRITT, 2007). O processo de empacotamento do DNA viral gera a formação do nucleocapsídeo (TANDON, MOCARSKI, 2012), que se juntará ao tegumento e ao envelope viral no citoplasma da célula (Complexo de Golgi). Esta nova partícula viral deixa a célula hospedeira mediante o processo de exocitose, quando consegue seu envelope final (LEVINSON, 2010)

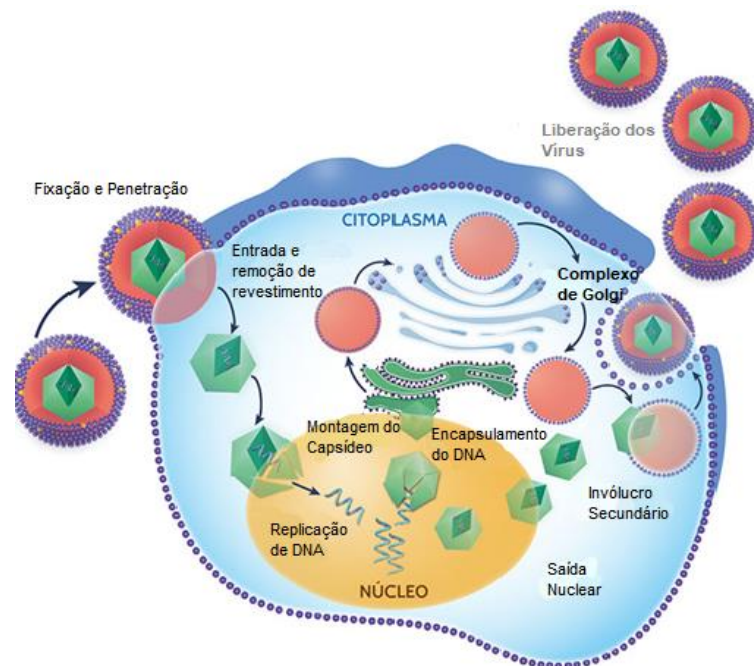


Figura 4: Ciclo de replicação do CMV. (Adaptado de Crough T y Khanna R. *Imunobiology of Human Cytomegalovirus: from bench to bedside. Clin Microbiol Rev.* 2009; 22(1): 76-98.)

O tipo de imunossupressão e o status sorológico para CMV do doador e do receptor são considerados fatores de risco e estão correlacionados com à doença por CMV após o transplante renal. Há o maior risco de desenvolvimento da doença quando existe a combinação de um doador positivo e de um receptor negativo. Isso pode levar a uma disfunção imunológica fortemente associada ao risco da rejeição do órgão transplantado. Da mesma forma, o tratamento da rejeição também aumenta de forma exponencial o risco da doença por CMV, motivo pelo qual os esquemas de profilaxia pós-transplante ou terapia preventiva são usadas (SANTOS et al., 2017).

1.4. Herpesvírus Humano-6

O herpesvírus humano-6 (HHV-6) é um membro da família β – herpesviridae, constituído por DNA de fita dupla, envolvido por um capsídeo icosaédrico, e foi isolado de pacientes com linfomas relacionados à SIDA, linfadenopatias e outros distúrbios linfoproliferativos. Estudos demonstraram

que o HHV-6 infecta seletivamente e se replica em linfócitos T, com preferência para o agrupamento de células T CD4 positivas (CD4+). Depois da descoberta inicial do HHV-6 e o isolamento de outras cepas, foi observado que os vírus HHV-6 poderiam ser separados em duas variantes distintas, o HHV-6A e o HHV-6B (DESPENSA & MEDVECZY, 2017)

O primeiro contato com o HHV-6 normalmente acontece entre os 6 meses e 2 anos de idade, após a perda de anticorpos maternos protetores, e a infecção congênita (transmissão intrauterina) tem aproximadamente 1% de relato. A infecção primária pode ocorrer em adultos sendo que o principal veículo de transmissão do vírus é a saliva. A transmissão através do transplante de órgãos é descrita com pouca frequência, e a transmissão por transfusão sanguínea e via amamentação nunca foram relatadas (AGUT, BONNAFOUS & GAUTHERET-DEJEAN, 2015.)

A manifestação clínica do herpesvírus tipo 6 pode variar da forma assintomática à febre, encefalite, supressão de medula óssea, pneumonite, petéquias, hepatite e, em casos de transplantados renais, o HHV-6 pode favorecer episódios de rejeição aguda, especialmente em receptores pediátricos de transplante renal. A associação entre HHV-6 e citomegalovírus foi descrita por alguns autores que relatam que a coinfeção com HHV-6 aumenta o risco de infecções sintomáticas pelo citomegalovírus, além de episódios de rejeição mais frequentes; da mesma forma, a doença pelo CMV também pode causar reativação do HHV-6 (SCHROEDER, et al., 2012)

1.5. Transplantes renais

O transplante é definido como a transferência de células, tecidos ou órgãos de um doador a um receptor objetivando a conservação da função do material transplantado ao receptor. De acordo com estudos feitos no Brasil, o transplante renal é a terapia mais custo-efetiva. Porém, o principal problema enfrentado nesses casos é a rejeição, que pode ser mediada por uma série de reações celulares ou humoral (SESSO et al., 1990). De acordo com os dados do DATASUS, no período de 2020 a 2021 foram realizados 8420

transplantes renais pelo SUS, incluindo doadores vivos, falecidos e transplantes simultâneos (rim e pâncreas). Destes, o Sudeste representa o maior número dos transplantes (4632); a região norte apresenta apenas 41 transplantes.

Em 2019 no Brasil, foram realizados 6283 transplantes renais, o que demonstra que o país possui um programa nacional de transplante de órgãos bem consolidado. Durante o período da Pandemia da Covid-19, o número de transplantes caiu significativamente, e o número de transplantes nos últimos 2 anos não reflete a real capacidade do país. (CRISTELLI; FERREIRA & MEDINA-PESTANA, 2021).

Os transplantes enfrentam interferência do grau de histocompatibilidade entre o doador e o receptor, visto que ao ser transplantado o paciente poderá ter a ativação da resposta imune, na qual as células de defesa do organismo do indivíduo poderão identificar as células incompatíveis do órgão transplantado e, de acordo com o grau de similaridade entre os tecidos, poderá ocorrer a rejeição imunológica. A rejeição do órgão transplantado pode ser classificada em três tipos, tendo em vista o tempo de rejeição: i) hiperaguda: ocorre de minutos ou horas após o transplante; ii) aguda: ocorrendo após uma semana e; iii) crônica: que pode ocorrer de duas semanas há anos (BARBOSA, et al., 2020; TIZO & MACEDO, 2015).

Visando a manutenção da efetivação do transplante é necessário a prescrição médica de terapias imunossupressoras aos receptores. O manejo de imunossupressão é composto principalmente por quatro classes de fármacos: glicocorticoide; inibidores de calcineurina (tacrolimo, ciclosporina); fármacos antiproliferativos e antimetabólicos (mofetil, azatioprina e micofenolato); e anticorpos (policlonais, monoclonais murinos, monoclonais quiméricos/humanizados). Por se tratar de medicamentos imunossupressores é de suma importância o acompanhamento médico dos receptores que fazem uso dessas terapias para assegurar o sucesso do órgão transplantados e

consequentemente prevenir futuras complicações associadas a essa forma de terapia (BARBOSA, et al., 2020; TIZO & MACEDO, 2015).

A terapia imunossupressora pode trazer várias consequências para o indivíduo receptor, como por exemplo: complicações metabólicas (obesidade, diabetes, dislipidemia), cardiovasculares (hipertensão), disfunção óssea, nefrotoxicidade, proteinúria, anemia, etc (TIZO & MACEDO, 2015). Além disso, a terapia imunossupressora interfere na resposta imunológica do organismo e é um precursor para infecções bacterianas, fúngicas e virais. Essa vacuidade dos medicamentos imunossupressores em receptores tem uma forte correlação com a alta taxa de incidência de morbimortalidade devido a complicações infecciosas em recém transplantados (STARCK, et al, 2020). Sabendo disso, cabe-se realizar o estudo aprofundado sobre os herpesvírus humanos em pacientes transplantados renais, observando a prevalência e fatores que possam estar relacionados à reativação viral, como, por exemplo, o tempo de transplante e o tipo de tratamento imunossupressor.

2. JUSTIFICATIVA

Os herpesvírus são considerados importantes agentes patogênicos em pacientes imunossuprimidos, principalmente quando se trata de pacientes receptores de transplantes renais, pois se faz necessário a utilização permanente de imunossupressores.

A imunossupressão apresenta relação direta com a incidência e a severidade de doenças infecciosas, como os HHVs. A detecção da presença de HHVs em pacientes receptores de transplantes renais, é importante para o controle dessa doença, pois tal reativação por uso constante de imunossupressores pode acarretar em graves problemas para os pacientes como: favorecer o aumento de infecções secundárias por fungos, bactérias, disfunção crônica do órgão transplantado, mielite, hepatite, mononucleose infecciosa, doença linfoproliferativa pós-transplante, rejeição do órgão transplantado e até mesmo morte do paciente.

Não há estudos de prevalência de herpesvírus em pacientes transplantados no Distrito Federal. Assim, o estudo dessa prevalência nos pacientes transplantados renais do Hospital Universitário de Brasília torna-se importante, pois os resultados obtidos neste estudo podem auxiliar no entendimento do efeito dessas infecções na saúde do paciente transplantado renal, a prevalência desse vírus nessa população e a definição de protocolos que auxiliem na prevenção de sintomas decorrentes da reativação viral. Diante disso, a prevalência de HHVs (EBV, CMV e HHV-6) apresentada nesses pacientes podem ser correlacionadas com dados de tratamento, tempo pós-transplante, gênero e idade.

Hipotetizamos que a infecção de diversos herpesvírus podem ocorrer em pacientes transplantados renais, principalmente devido à sua condição de imunossupressão, e que o tempo pós-transplante e o tipo de tratamento (uso de imunossupressores) são fatores importantes para a prevalência viral. Ainda, fatores como gênero e idade podem estar relacionados com o aparecimento da infecção por HHVs.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a prevalência dos Herpesvírus Humanos mais relevantes (EBV, CMV e HHV-6) em indivíduos imunocomprometidos submetidos a transplante renal no Hospital Universitário de Brasília, analisando as características dessa reativação com dados clínicos e demográficos, bem como tipo de tratamento e tempo pós-transplante.

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar a ocorrência de prevalência de Herpesvírus Humanos EBV, CMV e HHV-6 em transplantados renais do Hospital Universitário de Brasília;
- Observar a prevalência de Herpesvírus circulante nos pacientes submetidos a transplantes renais;
- Analisar os dados de prevalência viral e dados demográficos (gênero e idade);
- Relacionar dados da prevalência viral e protocolo terapêutico (imunossupressores utilizados) pelos pacientes após o transplante;
- Estudar os dados sobre a prevalência viral em relação ao tempo pós-transplante e uso de imunossupressores.

4. MÉTODOS

Trata-se de uma coorte clínica com a população de pacientes candidatos a transplante renal no Hospital Universitário de Brasília (HUB). Neste estudo foram coletadas informações demográficas e clínicas para fins de análise descritiva e exploratória frente aos achados etiológicos investigados.

Nesse estudo, foram colhidas em exames de rotina as amostras (plasma) de 170 pacientes submetidos a transplantes renais no HUB para investigação dos vírus EBV, CMV e HHV-6. Os exames foram feitos no próprio hospital onde foi realizado o transplante. Essas amostras foram utilizadas para avaliação epidemiológica e analisar com os dados de tratamento e tempo pós-transplante.

Como um convite aos possíveis participantes da pesquisa, utilizou-se o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para o alcance da manifestação clara de concordância com a participação na pesquisa.

4.1 Riscos e benefícios para os pacientes

Os resultados obtidos com esse estudo serviram para auxiliar no entendimento do efeito da reativação viral, sua problemática e suas possíveis consequências na saúde do paciente transplantado, bem como a prevalência desse vírus nessa população. A coleta das amostras utilizadas neste estudo não ofereceu nenhum tipo de risco aos pacientes, com exceção de alguns casos de hematomas e sangramentos no local da punção venosa.

Na etapa de realização do exame de rotina, o profissional responsável pela coleta contou com um tubo adicional que foi destinado à pesquisa. E quanto aos resultados obtidos, nenhum risco foi observado em questão de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual dos indivíduos que foram estudados. Mesmo que fossem detectados agentes virais nas amostras dos pacientes transplantados renais envolvidos no estudo, os resultados foram mantidos de forma confidencial e as amostras, identificadas numericamente de forma que os indivíduos não fossem reconhecidos por pessoas externas à pesquisa.

4.2 Critérios de inclusão

Foram incluídas 170 amostras de pacientes transplantados renais, maiores de idade, de ambos os sexos, atendidos no Hospital Universitário de Brasília.

4.3 Considerações éticas

Antes da coleta de sangue periférico, o TCLE foi apresentado aos possíveis participantes da pesquisa para a manifestação clara de concordância com a participação no estudo. O projeto já foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa em Seres Humanos (CAAE: 83811718.8.0000.8093).

4.4 Coleta de sangue periférico

A coleta foi realizada no Hospital Universitário de Brasília – HUB, no momento da coleta dos exames de rotina (dosagem de imunossupressores) dos pacientes no hospital onde foi realizado seu transplante, as amostras de sangue total venoso foram obtidas. Foram, porém, coletados um tubo contendo EDTA adicional desses pacientes para o presente estudo.

4.5 Extração do material genético

O material genético (DNA) viral foi extraído automaticamente com o uso do Maxwell® 16 Instrument e do kit Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, seguindo as instruções do fabricante. Após a extração, o material foi estocado a -80 °C. O DNA extraído foi quantificado e avaliado quanto à integridade e pureza por meio da leitura no espectrofotômetro Nanodrop One (Thermo Scientific) nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm.

4.6 PCR em tempo real

As análises de detecção molecular foram realizadas por PCR (Reação de Cadeia da Polimerase) em tempo real, o resultado é visualizado de imediato. O procedimento consiste em uma reação de amplificação em tempo real em uma microplaca com variação e controle de temperatura programável e um sistema de detecção de fluorescência óptica utilizado simultaneamente à reação em um termociclador. Isto é possível devido a adição de sondas fluorescentes nas reações de PCR. A amplificação do DNA-alvo é controlada durante o processo de qPCR. Conforme o DNA é amplificado, o nível de fluorescência cresce de forma proporcional.

O equipamento é capaz de detectar a fluorescência eventualmente produzida pela amostra e dessa forma a técnica possibilita acompanhar a reação e a apresentação dos resultados em tempo real. Através do monitoramento da taxa de aumento da fluorescência na reação de PCR, é possível, também determinar com precisão a quantidade de DNA-alvo presente na amostra original, para a realização da técnica foi utilizado o termociclador Quantistudio 5 (Thermo Scientific), disponível no Laboratório de Diagnóstico Molecular do Hospital Universitário de Brasília. Para isso, foram utilizados sondas e iniciadores (primers) específicos e condições de reação já consagrados na literatura, conforme pode ser observado nas tabelas 2 e 3.

Vírus	Reagentes	Quantidade	Condições da Reação	Referência
EBV	TaqMan Buffer	12,5 uL	50°C - 2 min 95°C - 10 min 40 ciclos: 95°C - 15seg 60°C - 1min	Fellner et al., 2014.
	Prime F	1,5 uL		
	Prime R	1,5 uL		
	Sonda	0,5 uL		
	DNA	5 uL		
	H ₂ O	4 uL		
HHV6	TaqMan Buffer	12,5 uL	50°C - 2 min 95°C - 10 min 40 ciclos: 95°C - 15seg 60°C - 1min	Gautheret-Dejean et al., 2003
	Prime F	2 uL		
	Prime R	2 uL		
	Sonda	1 uL		
	DNA	6 uL		
	H ₂ O	1,5 uL		
CMV	Master Mix	10 uL	50°C - 2 min 95°C - 10 min 40 ciclos: 95°C - 15seg 60°C - 1min	Abbott RealTime CMV, 2011.
	Wash	0,4 UI		
	Prime F	1,8 uL		
	Prime R	0,5 UI		
	Sonda	5,5 UI		

Tabela 2: Sondas, iniciadores e protocolo da reação utilizados.

Sonda/Iniciador	Sequência 5'-3'	Tipo	Escala
HHV6 Probe	AGCAGCTGGCGAAAAGTGCTGTGC	FAM-TAMRA	100uM
EBV Probe	TCAGCCCCTCCACCAGTGACAATTC	FAM-TAMRA	100uM
HCMV Probe	ACTGGGCAAAGACCTTCATGCAGATCTC	FAM-TAMRA	100uM
HHV6 F	GACAATCACATGCCTGGATAATG		25N

HHV6 R	TGTAAGCGTGTGGTAATGTACTAA	25N
EBV F	TCAACCTCTCCATGTCACTGAGA	25N
EBV R	TGGGTGAGCGGAGGTTAGTAA	25N
HCMV F	TCATCCACACTAGGAGAGCAGACT	25N
HCMV R	GCCAAGCGGCCTCTGAT	25N

Tabela 3: Sequência 5' - 3' das sondas e iniciadores utilizados.

4.7 Dados dos pacientes

Os dados dos pacientes foram obtidos a partir de seus prontuários, conforme a disponibilidade (prontuários físicos e/ou eletrônicos – Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários - AGHU). Foram obtidos dados de tipo de tratamento (imunossupressores utilizados), tempo pós transplante, gênero, idade e sintomas possivelmente decorrentes da reativação viral. Esses dados foram correlacionados com os dados de reativação de cada um dos três herpesvírus avaliados.

4.8 Análise Estatística

Para a análise estatística deste trabalho, foi utilizado o teste T de Student para avaliação da média de idade dos pacientes. Para a análise das prevalências da presença de CMV entre os grupos foi utilizado o teste qui-quadrado. O teste de Fisher foi utilizado nas análises que envolveram a prevalência de EBV, HHV-6 e para as análises que envolveram os medicamentos imunossupressores.

5. RESULTADOS

No período estudado, 170 pacientes foram submetidos à coleta de material para detecção de EBV, CMV e HHV-6. Desse universo de pacientes foram contabilizados 65 (38,23%) pacientes do sexo feminino e 105 (61,76%) pacientes do sexo masculino. Os homens apresentam uma média de idade de 49,97 anos ($\pm 13,31$) e

mulheres de 45,02 anos ($\pm 15,13$). Após análise molecular por PCR em tempo real das amostras obtidas dos pacientes transplantados renais observou-se que 20% (34/170) deles apresentaram resultado positivo para CMV, 1,7% para EBV e 0,6% para HHV-6. Apesar de uma maior porcentagem de pacientes positivos para CMV ser encontrada em homens quando comparado às mulheres (24,76% vs 15,38%), não houve diferença significativa de pacientes positivos em relação ao gênero. Também não houve diferença significativa em relação ao gênero para os demais vírus avaliados (EBV e HHV-6) (Tabela 4). Não houve diferença significativa em relação à idade de pacientes positivos e negativos para CMV. A média de idade dos pacientes transplantados que apresentaram positividade para CMV foi de 45,24 anos ($\pm 13,10$) e a dos pacientes negativos para CMV foi de 46,66 anos ($\pm 14,91$) ($p=0,6104$)

	Homens	Mulheres	Total	P valor
N	105 (61,76%)	65 (38,23%)	170 (100%)	-----
Média de Idade (\pmDP)	49,97 ($\pm 13,31$)	45,02 ($\pm 15,13$)	48 ($\pm 14,2$)	0,0265 *
CMV +	24 (24,76%)	10 (15,38%)	34 (20,0%)	0,2365**
EBV +	2 (1,9%)	1 (1,5%)	3 (1,7%)	1,000***
HHV-6 +	0 (0,00%)	1 (1,5%)	1 (0,6%)	0,3824***

DP: Desvio Padrão; * teste T de Student; **Teste qui-quadrado ***Teste de Fisher

Tabela 4: Características demográficas e prevalência de CMV, EBV e HHV-6

Ao se comparar a idade dos pacientes com a quantidade de positivos para citomegalovírus, percebe-se que quanto maior a idade dos pacientes menor a positividade para citomegalovírus. Não houve diferença estatística entre os grupos (figura 5).

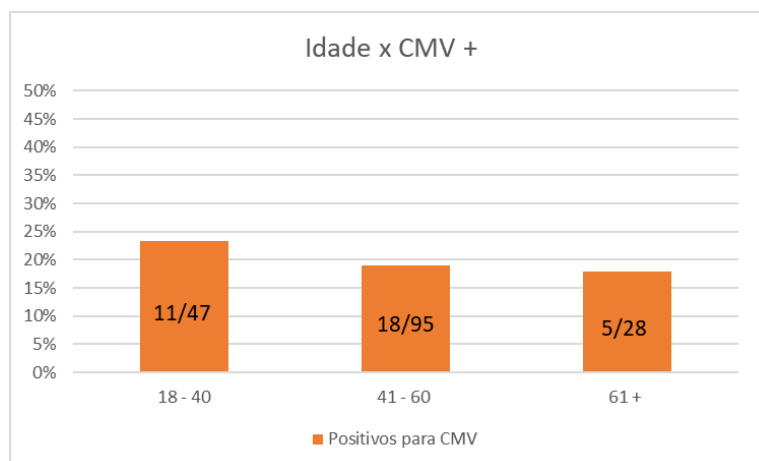


Figura 5: Idade dos pacientes x Positivos para CMV.

Conforme já demonstrado, observou-se 20% (34/170) dos pacientes avaliados foram positivos para CMV. Quando avaliados os pacientes em que a coleta de sangue ocorreu em até 180 dias pós-transplante (75,53 dias \pm 52,03), observou-se que 46,66% (14/30) apresentaram resultado positivo para o CMV; quando observado pacientes em que a coleta ocorreu no primeiro ano pós-transplante (112,12 dias \pm 79,57) observou-se que 45% (18/40) foram positivos. Quando observado os pacientes cujo as amostras foram colhidas em até 3 anos, 5 anos e 7 anos, foi observada a positividade em 30,76% (20/65), 28,08% (25/89) e 25,89% (29/112) (figura 6). Em relação aos demais vírus, a baixa taxa de positividade impediu que análise de tempo pós-transplante fosse realizada (somente 3 pacientes com amostra positiva para EBV e somente 1 paciente para HHV-6).

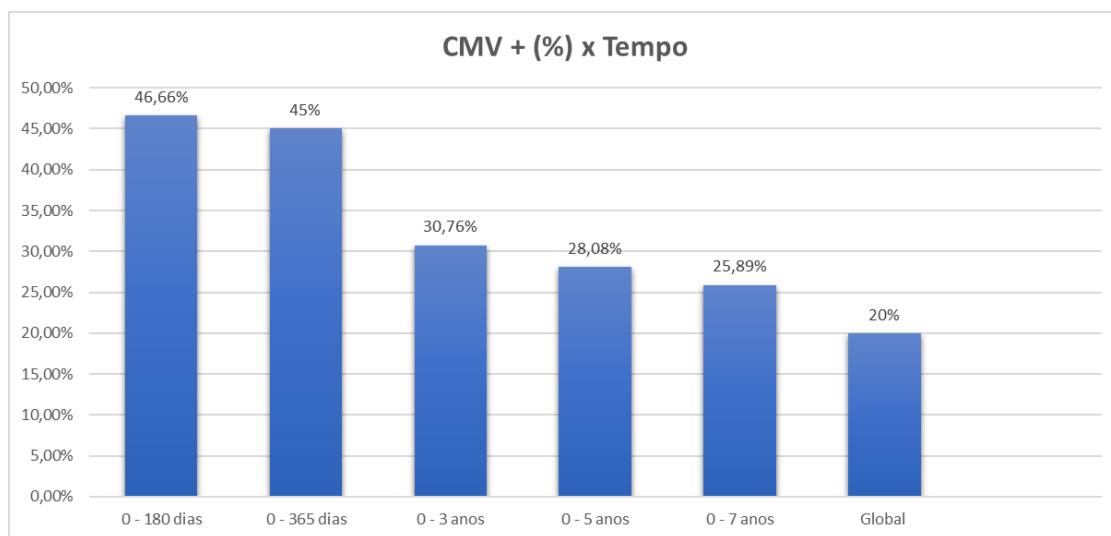


Figura 6: Relação de Positivos para CMV de acordo com o Tempo pós transplante.

Ao avaliar a positividade de CMV delimitando o tempo pós-transplante nas faixas de 0 a 180 dias, de 181 a 365 dias, de 1 ano a 3 anos, de 3 anos a 5 anos, de 5 anos a 7 anos e acima de 7 anos, observa-se que a positividade também foi decrescente; observou-se positividade para o CMV em 46,66% (14/30), 40% (4/10), 8% (2/25), 20% (5/25), 17,39% (4/23) e 10,16% (6/59) respectivamente (figura 7).

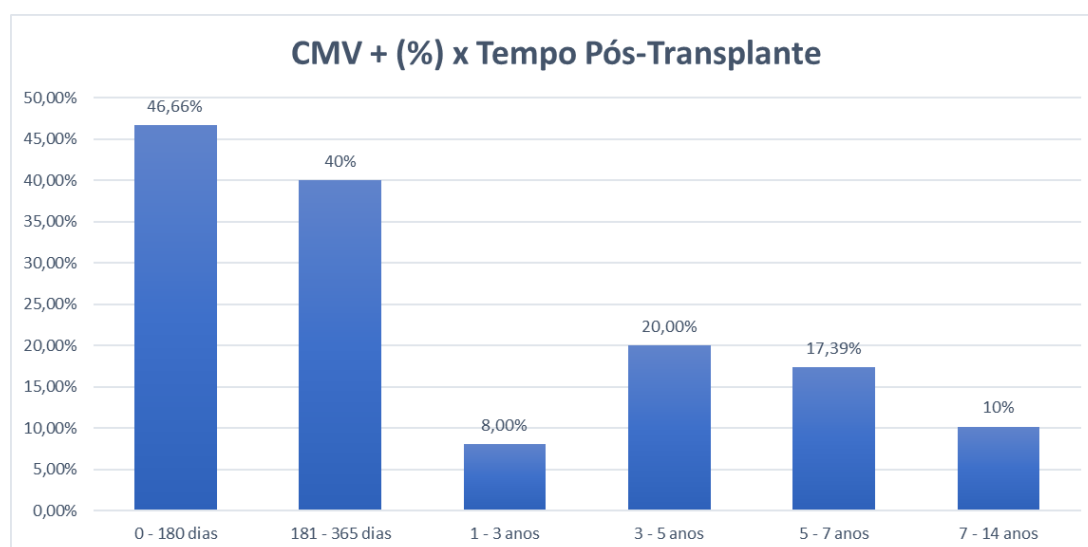


Figura 7: Positivos para CMV x Tempo pós - transplante.

Em relação aos medicamentos imunossupressores utilizados pelos transplantados, observamos que 113 pacientes usaram tacrolimo, 77 usaram sirolimo, 142 usaram prednisona, 50 usaram micofenolato, 7 usaram azatioprina e 6 usaram everolimo. A maior parte dos tratamentos refere-se a uma combinação desses imunossupressores (2 ou 3 diferentes imunossupressores) dentre os esquemas de tratamento utilizados foi observado que o tratamento envolvendo o uso de prednisona + tacrolimo + micofenolato foi utilizado em 51 pacientes, seguido de prednisona + tacrolimo + sirolimo (46 pacientes) e prednisona + sirolimo + micofenolato (26 pacientes). Outros esquemas terapêuticos (com 2 ou 3 imunossupressores) foram utilizados em menos de 5 pacientes por grupo. Vinte e seis pacientes não fizeram uso de imunossupressor (figura 8).

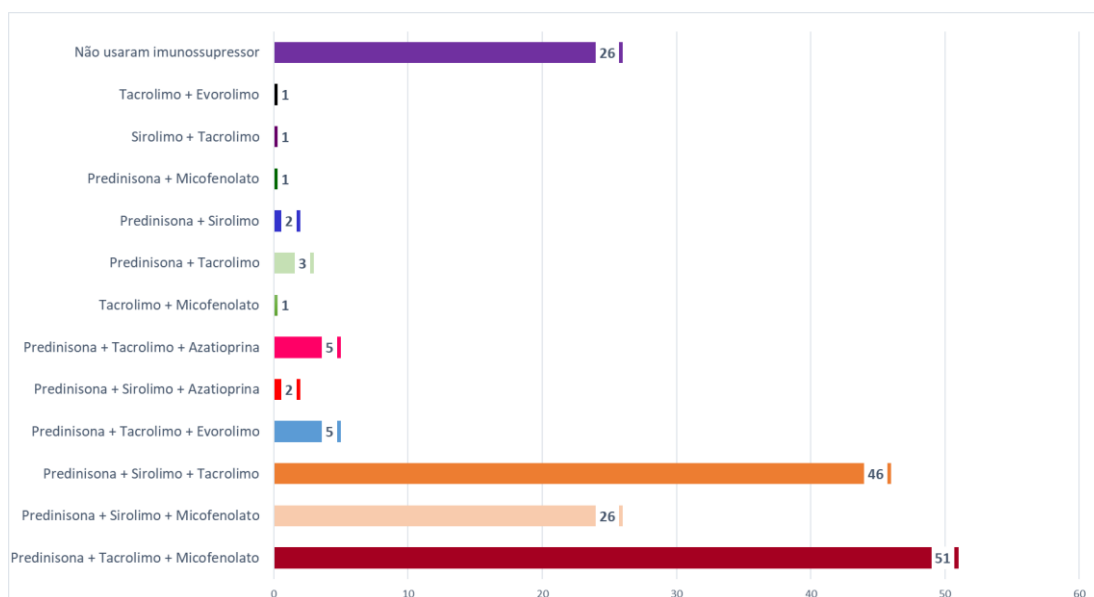


Figura 8: Esquema de imunossupressor utilizado.

Diante desse cenário, grupos com maiores números de indivíduos em tratamento foram avaliados quanto à positividade de CMV. Quando avaliado toda a população do estudo, observamos que pacientes que se utilizaram do esquema de tratamento envolvendo prednisona + tacrolimo + micofenolato apresentaram 23,52% de positividade para o CMV (12/51), seguido do esquema de tratamento envolvendo prednisona + tacrolimo + sirolimo

(19,56% - 9/46) e prednisona + sirolimo e micofenolato (3,84% - 1/26). Dos 26 pacientes que não utilizaram imunossupressor, 7 deles eram positivos para CMV.

Quando as frequências desses grupos foram comparadas (teste exato de Fisher), observamos diferença estatística entre o grupo de pacientes que utilizou prednisona + sirolimo + micofenolato vs grupo que não utilizou imunossupressor ($p=0,0496$), demonstrando que apesar da imunossupressão, este esquema poderia ter um efeito protetor contra a infecção pelo CMV. Ainda, quando observamos diferença significativa entre os grupos prednisona + tacrolimo + micofenolato vs prednisona + sirolimo + micofenolato ($p=0,0499$) percebemos que o efeito protetor poderia estar relacionado ao sirolimo, uma vez que o esquema envolvendo prednisona + tacrolimo + micofenolato não mostrou diferença para o grupo que não usou imunossupressor ($p=0,7840$). Por outro lado, o tacrolimo também poderia estar favorecendo a infecção pelo CMV (figura 9).

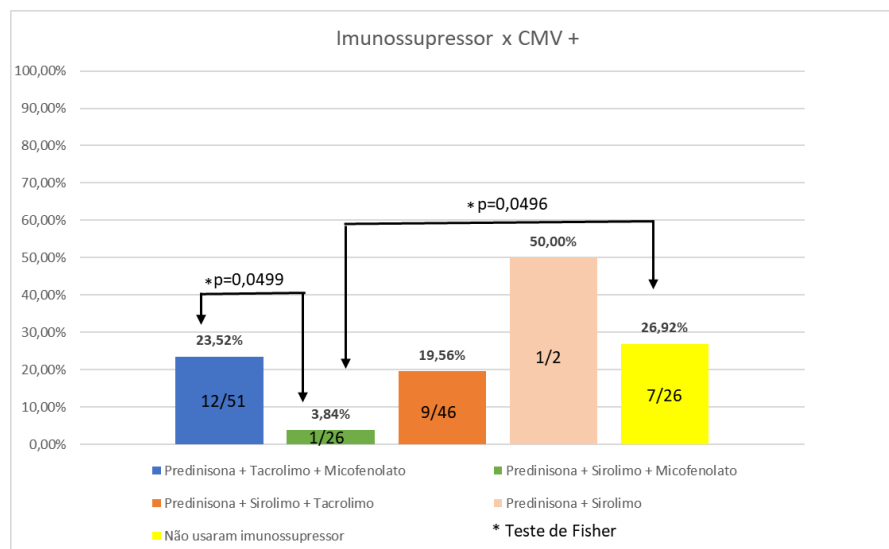


Figura 9: Imunossupressor x positivos para citomegalovírus.

Diante dessa observação, decidimos avaliar os pacientes de acordo com o uso de cada um dos imunossupressores isoladamente. A análise estatística não demonstrou diferença entre as frequências apresentadas, porém,

observou-se que o grupo em que o sirolimo foi utilizado apresentou menor porcentagem de pacientes positivos para CMV (14,29%) em relação ao grupo que não usou imunossupressor (26,92%) e em relação ao grupo que utilizou o tacrolimo (23,89%). Importante ressaltar, que nenhum paciente que se utilizou do everolimo apresentou positividade para o CMV (0/6). As maiores porcentagens de positividade para o CMV foram observadas em pacientes que fizeram uso de azatioprina (28,57%) e micofenolato (28,00%) (figura 10).

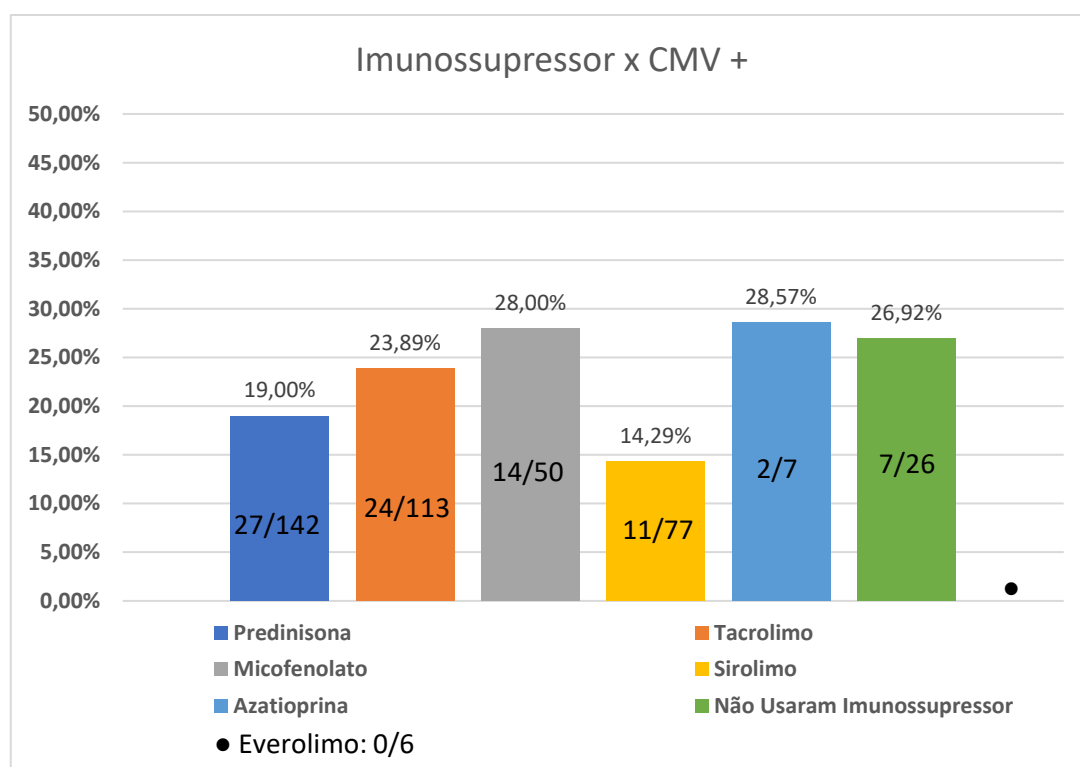


Figura 10: Esquema de imunossupressão usados para os 34 pacientes positivos para CMV.

Considerando que a positividade para CMV é mais frequente nos primeiros meses pós-transplante, decidimos avaliar a frequência de pacientes positivos de acordo com o esquema de tratamento para aqueles pacientes que coletaram amostras dentro dos 180 primeiros dias pós-transplante. Apesar do número reduzido de amostras coletadas nesse período, observamos que o esquema se utilizando prednisona + tacrolimo + sirolimo apresentou a menor porcentagem de pacientes positivos (14,29%).

Pacientes se utilizando de prednisona + tacrolimo + micofenolato, ou prednisona + sirolimo + micofenolato ou sem uso de imunossupressor apresentaram positividade de 50% para o CMV (figura 11).

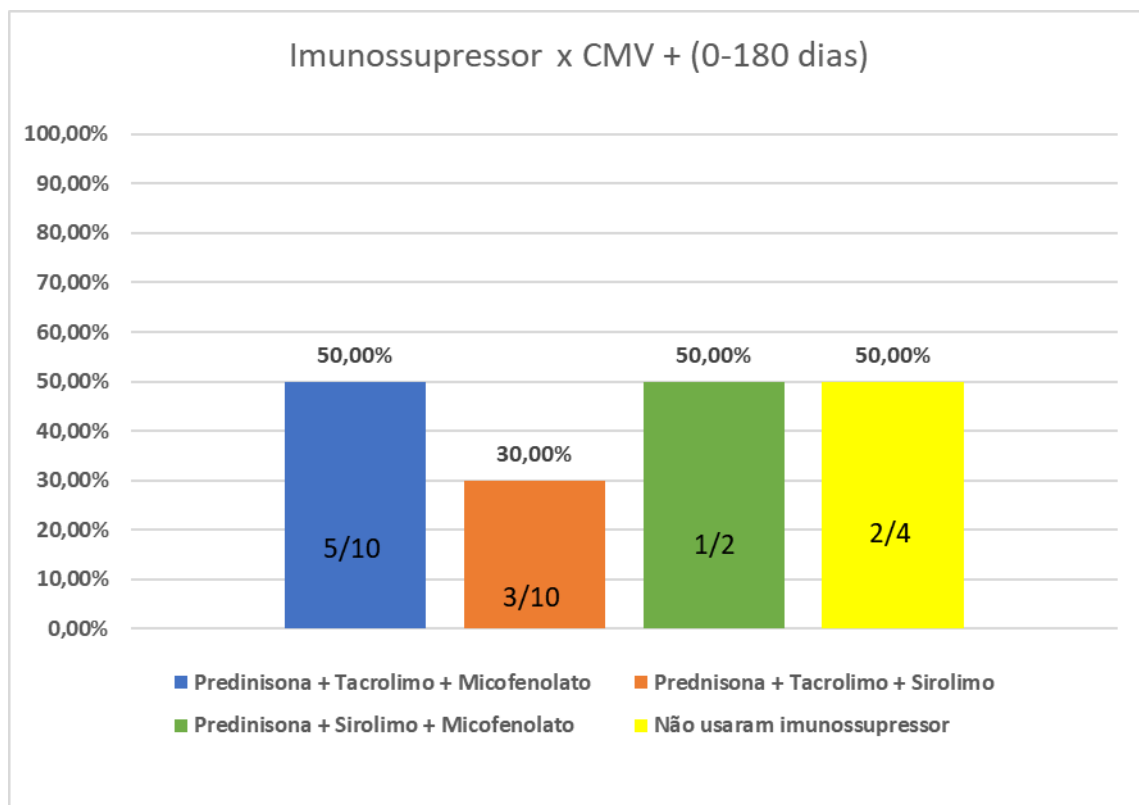


Figura 11: Esquema de imunossupressão x positivos para citomegalovírus de 0 a 180 dias pós transplante.

Por fim, avaliamos a positividade para o CMV de acordo com o uso de cada tipo de imunossupressor de forma isolada nos pacientes cuja amostras foram coletadas nos 180 primeiros dias (figura 12). Pacientes que fizeram o uso de sirolimo apresentaram a menor porcentagem de positividade para o CMV (30,76%). Pacientes com o uso de tacrolimo apresentaram positividade para o CMV de 40,9% enquanto aqueles que se utilizaram de prednisona e micofenolato apresentaram positividade para o CMV de 43,65% e 46,15% respectivamente. Pacientes sem o uso de imunossupressor apresentaram positividade de CMV de 75%. Não houve diferença estatística entre os grupos.

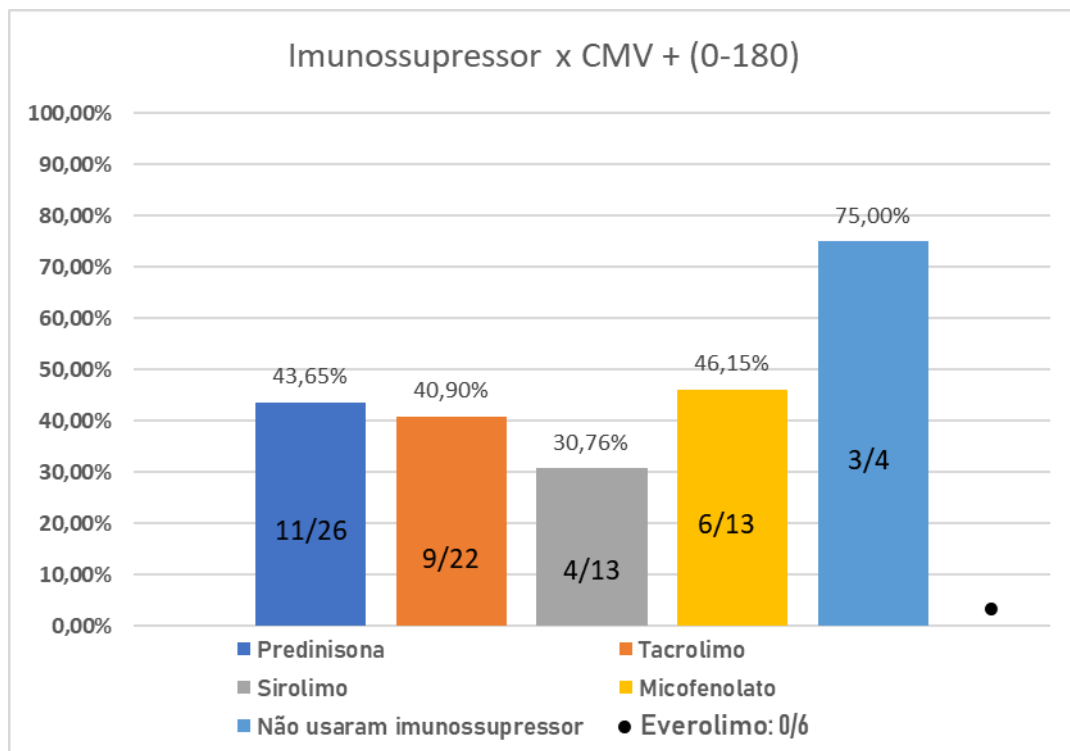


Figura 12: Imunossupressor x positivos para citomegalovírus de 0 a 180 dias pós transplante.

6. DISCUSSÃO

As características sociodemográficas dos pacientes foram analisadas para associação com os padrões de viremia para cada vírus. De acordo com os resultados, não houve diferença significativa entre a prevalência dos vírus estudados entre homens e mulheres. Na literatura há relatos de que a prevalência de EBV em mulheres é maior (RIBAS, 2019). De acordo com o observado neste estudo, há também relatos de que o gênero não influencia na positividade para CMV (ABOU-JAOUDE et al., 2021). Em relação a idade, observou-se que quanto maior a idade dos pacientes menor a positividade para citomegalovírus, porém sem diferença estatística entre os grupos. Há relatos de que, em transplantados renais, pacientes mais velhos (mais de 65 anos) possuem uma taxa de reativação de CMV maior quando comparado a um grupo de pacientes mais jovens (HEMMERSBACH-MILLER et al., 2020).

A infecção por CMV é comum após o transplante renal, principalmente em até os primeiros 100 dias. Os fatores que influenciam o desenvolvimento da infecção por CMV incluem o status sorológico para CMV do receptor e do doador, o uso de agentes depletos de linfócitos, nível de imunossupressão e tipo de doador (vivo ou falecido). De acordo com as orientações da KDIGO (*Kidney Disease: Improve Global Outcomes*) a profilaxia para CMV deve ser feita com valganciclovir ou ganciclovir, por até 3 meses pós-transplante e por 6 semanas depois do tratamento com globulina antitimocitária (ATG). Pacientes que tenham diagnóstico da doença citomegálica a recomendação é ter um acompanhamento semanal por qPCR ou antigenemia pp65, até o CMV não ser mais detectado no sangue (KDIGO, 2009).

A infecção por citomegalovírus nos indivíduos receptores de aloenxertos pode favorecer o aumento de infecções secundárias por fungos, bactérias e outros herpesvírus. Além disso, o CMV também pode aumentar os casos de rejeição aguda e disfunção crônica do órgão transplantado (REQUIÃO-MOURA et al., 2015). Existem várias proteínas codificadas pelo citomegalovírus que apresentam a habilidade imunomoduladora, o que pode suprimir o sistema imunológico ou intensificar o processo inflamatório (VANICHANAN et al., 2018). Um estudo com receptores de transplantes renais, comprovou que a infecção e a doença por citomegalovírus aumentam o risco de rejeição aguda em cerca de 1,6 a 2,5 vezes (SAGEDAL et al., 2002). Vários outros estudos já publicados também fazem a correlação de rejeição aguda com a infecção por CMV em receptores renais (BLAZQUEZ-7. NAVARRO et al., 2018; STERN et al., 2014; LEE et al., 2014). Apesar do acometimento renal pelo citomegalovírus ser raro, é observado diversas inclusões virais em glomérulos e em células epiteliais tubulares, com reação inflamatória local (MANFRO et al., 2014).

A infecção por CMV está entre as complicações mais frequentes após o transplante de órgãos sólidos (TOS) (STERN et al., 2014), com implicações para o manejo clínico e com grande impacto na morbidade, mortalidade e

sobrevida do enxerto (KOTTON, 2013). Apenas 10% dos pacientes transplantados são acometidos de infecção primária, sendo a maioria das infecções ocorrendo pela transmissão através do enxerto (D+/R-). Isso se dá uma vez que a maior parte dos pacientes tiveram seu primeiro contato com o vírus durante a infância, e após o transplante pode ocorrer reativação devido a imunossupressão. Nesses casos, podem ocorrer efeitos diretos e efeitos indiretos, com risco aumentado de infecções secundárias e risco aumentado para a rejeição aguda e disfunção renal crônica (REQUIÃO-MOURA et al., 2015).

Para que se possa reduzir o risco de eventos (efeitos diretos ou indiretos) que estão relacionados ao CMV se faz necessário a adesão de uma das duas seguintes estratégias: a profilaxia universal ou o tratamento preemptivo (KOTTON et al., 2018). A primeira estratégia é fundamentada em administrar ganciclovir oral ou valganciclovir para todos os pacientes em risco (R-/D+ e R+) por pelo menos três meses após o transplante e durante seis semanas para pacientes que receberam tratamento com anticorpo depletor de linfócitos (KDIGO, 2009). A exposição prolongada a medicamentos antivirais pode aumentar o risco de resistência, toxicidade, doença por CMV de início tardio, e um gasto elevado. Por outro lado, a profilaxia é menos trabalhosa, requer monitoramento menos intensivo e dispendioso, e tem sido associado a menos eventos relacionados ao CMV (HUMAR et al., 2010). Já no tratamento preemptivo, os pacientes são monitorados de forma sequencial e intensiva para identificação da replicação viral precoce (PCR ou por detecção antigenemia), antes que ocorra o aparecimento de sintomas ou invasão tecidual. Apenas os pacientes que tenha replicação viral recebem doses terapêuticas de tratamento antiviral. Esta estratégia se mostra efetiva nos pacientes com risco moderado (R+/D- e R-/D+) de desenvolver doença por CMV. Além disso, esse tratamento representa uma alternativa com redução de custos, e da toxicidade relacionada à exposição de medicamentos antivirais (RAZONABLE & RAYDEN, 2013).

Cada centro de transplante cria a logística mais adequada para realizar o manejo preemptivo, uma vez que depende da frequência de monitoramento necessário para realizar o diagnóstico do CMV (KOTTON & COLS., 2013). No Hospital Universitário de Brasília é realizado o monitoramento com PCR para CMV a cada 15 dias durante os 3 primeiros meses pós-transplante. Resumidamente, a terapia preemptiva não se propõe em prevenir a infecção, mas sim em evitar a doença por CMV. Visto que o sistema único de saúde (SUS) não fornece o valganciclovir, a grande maioria dos centros de transplante realiza o tratamento preemptivo, no entanto, até o momento, não se tem claramente definido o qual limite de carga viral ideal para se dar início ao tratamento preemptivo (REQUIÃO-MOURA, 2022).

Dentre os pacientes de nosso estudo, 30 pacientes foram avaliados dentro do período de 180 dias. A infecção pelo CMV foi observada em 46,66% dos pacientes no período avaliado. Em amostras colhidas em até 1 ano pós transplante a positividade foi de 45%. SCHEFFEL et al., (2015), descreve em seu estudo que a incidência e a severidade dos eventos infecciosos são maiores nos primeiros meses após o transplante, período em que a terapia imunossupressora também é mais intensa. Cerca de 80% dos receptores renais apresentam alguma complicação infecciosa durante o primeiro ano de acompanhamento.

Um estudo iraniano demonstrou que a doença por CMV é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes transplantados renais, e que a infecção geralmente ocorre nos primeiros três meses após o transplante. Este estudo destaca que o cuidado e o acompanhamento desses pacientes são cruciais nos primeiros 5 meses (BABAZADEH, A. et al., 2017). Outro estudo, também, confirmou que cerca de 60% dos receptores terão a infecção por CMV e mais que 20% irão desenvolver a doença sintomática. Devido ao avanço da imunossupressão possivelmente haverá uma variação tanto na ocorrência quanto no padrão das

infecções, sendo que 55% dos pacientes deste estudo desenvolveram a doença por CMV em ≤ 3 meses pós-transplante (CORDERO et al., 2012).

Ao se fazer o monitoramento do paciente por mais que 12 meses, GIAKOUSTIDIS et al. (2012) em seu estudo afirma que a incidência de doença por CMV de início tardio foi baixa após o primeiro ano pós-transplante e não foi letal. De fato, observou-se que há uma queda da porcentagem de pacientes positivos quando amostras colhidas em maiores períodos pós-transplante são incluídas nas análises. A porcentagem de pacientes positivos para CMV cai para 20% quando todas as amostras coletadas são incluídas (pacientes com amostras colhidas em até 14 anos pós transplante). Por outro lado, essa queda também pode ser influenciada pelo tratamento antiviral ministrado em pacientes que demonstram positividade para o CMV nos 6 primeiros meses pós-transplante.

A terapia de imunossupressão utilizada em transplantados tem como principal objetivo evitar que ocorra a rejeição do órgão transplantado, contribuindo com o aumento da perspectiva de vida do paciente e da sobrevida do enxerto. Para que isso aconteça, é necessário estabelecer o estado de imunossupressão – tratamento utilizado no momento do transplante –, manter o estado de imunossupressão e tratar, caso ocorra, episódios de rejeição aguda e/ou crônica. A prevenção da rejeição aguda representa um fator decisivo no aparecimento tardio da nefropatia crônica. As rejeições precoces e repetidas precisam ser prevenidas com imunossupressão eficaz, abrangendo a indução da imunossupressão e doses adequadamente ajustadas nos primeiros meses de transplantes (SARMENTO et al., 2019)

De acordo com o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas, para a imunossupressão de manutenção em receptores de doadores vivos ou falecidos é recomendado o esquema de imunossupressão tríplice com prednisona, azatioprina e ciclosporina ou tacrolimo e alternativamente pode ser utilizado o esquema com prednisona, micofenolato de mofetil e

ciclosporina ou tacrolimo, este último foi mais utilizado representando 30% do número de pacientes do estudo. (CHOCAIR et al., 2014)

Apesar do protocolo terapêutico dar a opção entre ciclosporina e tacrolimo, nenhum dos transplantados do estudo fizeram o uso da ciclosporina. O tacrolimo está associado a menores taxas de rejeição aguda quando é comparado a ciclosporina (HIRSCH et al., 2013). Uma meta-análise que abrangeu 123 publicações com 4.102 pacientes, comprovou que a perda do órgão transplantado em pacientes que faziam o uso de tacrolimo foi menor do que a dos pacientes que usavam ciclosporina no 6º mês pós-transplante. Esse resultado continuou sendo observado no 3º ano de seguimento e, além disso, a incidência de rejeições agudas e rejeições resistentes a corticoesteroides foi menor nos pacientes que recebiam tacrolimo (MAYER et al., 1997). Por outro lado, o tacrolimo tem forte ligação com infecção por poliomavírus e diabetes pós-transplantes (MANITPISITKUL et al., 2010). Ainda, um estudo demonstrou que as concentrações de tacrolimo está diretamente associada à replicação viral do CMV e ao desenvolvimento de respostas mediadas por células específicas do CMV (TEDESCO-SILVA et al., 2015).

Dois ensaios clínicos compararam o manejo de sirolimo + micofenolato + corticoide com o manejo de tacrolimo + micofenolato + corticoide após o transplante renal. O objetivo de ambos os estudos foi avaliar a sobrevida do receptor e do órgão transplantado, a ocorrência de rejeição aguda, o funcionamento renal e os eventos adversos. No estudo de LARSON et al., 2006, foi diagnosticado dez casos de infecção sistêmica por citomegalovírus no grupo que fez o uso de tacrolimo ao ser comparado com dois casos no grupo sirolimo. No segundo estudo, apenas um receptor foi diagnosticado com infecção por CMV no grupo que utilizou o sirolimo, já no grupo que utilizou o tacrolimo 14 receptores foram diagnosticados com infecção por citomegalovírus (GLOTZ et al., 2010). Esses estudos vão de encontro ao achado neste presente estudo, em que o grupo que se utilizou do sirolimo apresentou menor porcentagem de pacientes positivos para CMV (14,29%) em relação ao grupo que não usou imunossupressor (26,92%) e em relação

ao grupo que utilizou o tacrolimo (23,89%). Isso mostra que possivelmente o tacrolimo também poderia estar favorecendo a infecção pelo CMV nesses pacientes.

Apenas 7 dos pacientes estudados fizeram o uso da azatioprina, com 28,57% positivos para CMV. O baixo uso deste imunossupressor é devido a preferência pelo o micofenolato de mofetil, que mostra uma forte potência imunossupressora com baixa incidência de rejeição aguda (REMUZZI et al., 2004). O micofenolato é uma droga de primeira linha nos protocolos de imunossupressão, mas percebe-se que esse medicamento tem uma forte associação com o aumento na incidência de infecções virais, e seu efeito é contraditório na infecção pelo citomegalovírus (SAN JUAN et al., 2008; MEULEN et al., 2000). Já para o vírus Epstein-Barr alguns estudos demonstram uma redução da viremia em pacientes que receberam este imunossupressor (BAMOULID et al., 2013), possivelmente devido a um efeito anti-célula B do fármaco, que interfere diretamente na proliferação de linfócitos B portadores do vírus epstein-barr (HOLMES et al., 2009).

Os 6 pacientes que fizeram uso de everolimo não positivaram para nenhum tipo dos herpes vírus estudados. De fato, há estudos que demonstram que o everolimo está associado à menor incidência de doença por CMV, quando comparado à micofenolato. Esses dados sugerem que receptores de transplante renal recebendo EVR podem não usar profilaxia contra CMV (BASTOS et al., 2021). Dados de ensaios clínicos individuais também mostraram que o uso de everolimo foi associado a uma menor incidência de infecção por CMV em comparação com micofenolato após transplante renal (BRENNAN et al., 2011).

A infecção pelo vírus epstein-barr em receptores de transplantes de órgãos sólidos pode ser manifestada de várias formas podendo ser apresentada como uma síndrome viral não específica, como mononucleose infecciosa e, no caso de receptores de aloenxertos, o EBV pode desencadear a doença linfoproliferativa pós-transplante. Esta última pode se manifestar como linfoma

maligno associado ao EBV, como o linfoma de Burkitt. De acordo com o Collaborative Transplant Study (CTS) receptores de TOS podem desenvolver esse tipo de linfoma cerca de 11,8 vezes ao ser comparado com indivíduos não transplantados (LE et al., 2017; LE, 2016; OPELZ & DOHLER, 2004). A incidência de PTLD em receptores renais tem uma variação de 1% a 5% (MORSCIO et al., 2013), e pode ser classificada em precoce – normalmente acontece no primeiro ano após o transplante – e tardia – ocorre após um ano do transplante. Com diversas manifestações clínicas e fatores de risco, a PTLD precoce está diretamente associada com a infecção por EBV, acometendo o aloenxerto em cerca de 57% dos casos. Por outro lado, na PTLD tardia o envolvimento do aloenxerto é de apenas 15% e normalmente não está relacionada com o EBV (LE, 2016; GHOBRIAL et al., 2005; MUTI et al., 2002).

A vigilância da carga viral do EBV é bastante dificultosa devido à grande carência de um padrão de referência internacional. Além disso há grande variabilidade entre instituições que fazem a utilização de diferentes valores de corte para a carga viral e tipo de metodologia utilizadas, dificultando a interpretação dos resultados (LE, 2016). No entanto, o estabelecimento do *International Standard for EBV for Nucleic Acid Techniques* pela OMS pode auxiliar a reduzir as variações entre os laboratórios (PETRARA et al., 2015). Uma das maiores dificuldades para a padronização na interpretação dos resultados é a escolha do material biológico a ser utilizado nos tipos de ensaios de quantificação. A carga viral do EBV pode ser quantificada em células mononucleares de sangue periférico, sangue total ou plasma (BAIOCCHI et al., 2005). A determinação do DNA viral nestas diferentes amostras pode proporcionar diferentes informações sobre a forma que o vírus se comporta no organismo dos indivíduos infectados (KANAKRY & AMBINDER, 2015).

Alguns estudos demonstraram uma redução da viremia do EBV em pacientes que receberam micofenolato (BAMOULID et al., 2013; HOLMES et

al., 2009; LI et al., 2007), o que provavelmente seria devido a um efeito anti-célula B do fármaco, interferindo na proliferação de linfócitos B portadores de EBV (HOLMES et al., 2009). Em nosso estudo apenas 3 pacientes positivaram para EBV. Destes, 2 fizeram o uso de prednisona + tacrolimo + sirolimo e 1 paciente fez o uso de prednisona + tacrolimo + micofenolato.

O HHV-6 em pacientes que foram submetidos a transplantes de órgãos sólidos, normalmente é assintomático, mas já há relatos de complicações (ABLASHI et al., 2010). Os sintomas e sinais clínicos são febre, distúrbios neurológicos, pneumonia, hepatite, encefalite, erupção cutânea, infecção gastrointestinal e disfunção do aloenxerto (YLINEN et al., 2017), apesar de haver essas complicações, ainda não existem relatos de perda do enxerto que esteja relacionado com a infecção direta do HHV-6. A taxa de reativação do HHV-6 é alta, mas apenas 1% dos receptores de transplante desenvolverá doença clínica associada à infecção pelo HHV-6. No presente estudo apenas 1 paciente positivou para HHV-6, sendo que este também foi positivo para CMV e fez o manejo de prednisona + tacrolimo + azatioprina. O HHV-6 também tem sido associado a vários efeitos indiretos, incluindo uma taxa mais alta de doença por CMV, rejeição aguda e crônica do enxerto e infecção oportunista, como doença fúngica invasiva (LAUTENSCHLAGER & RAZONABLE, 2012). Como a maioria dos casos de HHV-6 o paciente não apresenta sintomas, o diagnóstico é bastante dificultoso.

8. CONCLUSÃO

Foi avaliado a prevalência dos Herpesvírus Humanos mais relevantes (EBV, CMV e HHV-6) em indivíduos imunocomprometidos submetidos a transplante renal no Hospital Universitário de Brasília. De acordo com os resultados obtidos, o citomegalovírus foi o de maior prevalência nesse grupo estudado. Analisando as características dessa reativação com os dados clínicos e demográficos, conclui-se que em relação à prevalência dos vírus estudados (citomegalovírus, vírus Epstein-Barr e herpesvírus humano do tipo

6) não há diferença significativa entre homens e mulheres; os grupos de pessoas mais jovens (18-40 anos) tem maior números de positivos para citomegalovírus. Analisando o tratamento realizado pelos pacientes receptores renais percebe-se que os imunossuppressores sirolimo e everolimo parece ter um efeito protetor contra a infecção pelo citomegalovírus, enquanto o tacrolimo e o micofenolato parece favorecer a infecção. E por fim conclui-se que a taxa de positividade para o citomegalovírus vai diminuindo de acordo com o tempo pós-transplante.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Básica – Funções e distúrbios do sistema imunológico*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007; 338 p.
- Ablashi DV, Devin CL, Yoshikawa T, Lautenschlager I, Luppi M, Kühl U, Komaroff AL. Review Part 3: Human herpesvirus-6 in multiple non-neurological diseases. *J Med Virol*. 2010;82(11):1903-10
- ABOU-JAOUDÉ, M. et al. Cytomegalovirus infection in kidney transplant patients: Prevalence, risk factors, and impact on outcome – A local multicentre experience. *Transplant Immunology*, v. 69, n. 101473, pág. 101473, 2021.
- AGUT, H.; BONNAFOUS, P.; GAUTHERET-DEJEAN, A. Laboratory and Clinical Aspects of Human Herpesvirus 6 Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 28, n. 2, p. 313-335, 2015.
- BABAZADEH, A. et al. Incidência e fatores de risco para citomegalovírus em pacientes transplantados renais em Babol, norte do Irã. *Caspian Journal of Internal Medicine*, v. 8, n. 1, pág. 23–29, Inverno 2017
- Baiocchi OC, Colleoni GW, Caballero OL, Vettore AL, Bulgarelli A, Dalbone MA, et al. Epstein–Barr viral load, interleukin-6 and interleukin-10 levels in post-transplant lymphoproliferative disease: a nested case–control study in a renal transplant cohort. *Leuk Lymphoma*. 2005;46:533–9.

- Bamoulid J, Courivaud C, Coaquette A, Chalopin JM, Gaiffe E, Saas P, et al. Subclinical Epstein-Barr virus viremia among adult renal transplant recipients: incidence and consequences. *Am J Transplantation*. 2013;13:656-662.
- BARBOSA JT, et al. Transplante renal: mecanismo de rejeição, terapia imunossupressora e métodos diagnósticos. *Saúde e Desenvolvimento*, 2020; 9(17)
- BASTOS, J. et al. Incidence of Cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses: A cohort retrospective analysis. *Brazilian Journal of Transplantation*, v. 24, n. 3, p. 25–33, 2021.
- Blazquez-Navarro A, Dang-Heine C, Wittenbrink N, Bauer C, Wolk K, Sabat R, et al. BKV, CMV, and EBV interactions and their effect on graft function one year post-renal transplantation: results from a large multi-centre study. *EBioMedicine*. 2018;34:113-121.
- Bolis V, Karadedos C, Chiotis I, Chaliasos N, Tsaouri S. Atypical manifestations of Epstein-Barr virus in children: a diagnostic challenge. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, jun. 2015, 92(2): 113-121.
- Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS: Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS); 2022 [30 Mar, 2022]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/qiuf.def>
- BRENNAN, D. C. et al. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials: Everolimus versus mycophenolate and CMV incidence. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, v. 11, n. 11, p. 2453–2462, 2011.
- BRITT W. CMV maturation and egress. Apud: Arvin, AM. et al. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis*. Cambridge Press, p. 311- 323, 2007
- Cadena SP, Rosenbaun HK, Barroso HGM, Bedout MIM. Neurological manifestations of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infection. *Acta Neurol Colomb*, 2021, 37(1): Supl. 1: 13-19.
- Caillard S, Lelong C, Pessione F, Moulin B, and French PTLTD Working Group. Post-transplant lymphoproliferative disorders occurring after renal transplantation in adults: report of 230 cases from the French Registry. *Am J Transplant*. 2006;6:2735-42.

- CHOCAIR, P. R. et al. imunossupressão no transplante renal. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/imunossupressao_transplanterenal.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2022.
- CORDERO, E. et al. Cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients: incidence, clinical profile, and risk factors. *Transplantation proceedings*, v. 44, n. 3, p. 694–700, 2012.
- CRISTELLI, MP; FERREIRA, GF; MEDINA-PESTANA, J. Perspectiva global do transplante renal: Brasil. *Kidney360*, v. 2, n. 12, pág. 2016-2018, 2021.
- Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clin Microb Rev* 2009; 22(1):76-98
- DESPENSA, S.N.; MEDVECZKY, P. G. Latência, integração e reativação do Herpesvírus humano-6. *Vírus*, v. 9, n. 7, 2017
- Fellner MD, Durand K, Rodriguez M, Irazu L, Alonio V, Picconi MA. Duplex realtime PCR method for Epstein–Barr virus and human DNA quantification: its application for post-transplant lymphoproliferative disorders detection. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(3):271-80.
- Ferreira WF, Sousa JC, Lima N. *Microbiologia*. Lisboa: Lide, 2010; 640 p.
- Gautheret-Dejean A, Manichanh C, Thien-Ah-Koon F, Fillet AM, Mangeney N, Vidaud M, et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of human herpesvirus-6 infection and application to bone marrow transplant patients. *J Virol Methods*. 2002;100(1-2):27-35.
- Ghobrial IM, Habermann TM, Macon WR, Ristow KM, Larson TS, Walker RC, et al. Differences between early and late posttransplant lymphoproliferative disorders in solid organ transplant patients: are they two different diseases *Transplantation*. 2005;79:244-7.
- GIAKOUSTIDIS, D. et al. Prevalence and clinical impact of cytomegalovirus infection and disease in renal transplantation: ten years of experience in a single center. *Transplantation proceedings*, v. 44, n. 9, p. 2715–2717, 2012.

- GLOTZ, D. et al. Thymoglobulin induction and sirolimus versus tacrolimus in kidney transplant recipients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation*, v. 89, n. 12, p. 1511–1517, 2010.
- HEMMERSBACH-MILLER, M. et al. Age matters: older age as a risk factor for CMV reactivation in the CMV serostatus-positive kidney transplant recipient. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 3, p. 455–463, 2020.
- Hirsch, HH, Babel N, Comoli P, Friman V, Ginevri F, Jardine A, et al. European perspective on human polyomavirus infection, replication and disease in solid organ transplantation. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20:74-88.
- Holmes MV, Caplin B, Atkinson C, Smith C, Harber M, et al. Prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in adult renal transplant recipients during the early posttransplant period: Role of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2009;87:852- 856.
- HUMAR, A. et al. A eficácia e segurança de 200 dias de profilaxia de citomegalovírus valganciclovir em receptores de transplante renal de alto risco. *Jornal americano de transplante: jornal oficial da Sociedade Americana de Transplante e da Sociedade Americana de Cirurgias de Transplante* , v. 10, n. 5, pág. 1228-1237, 2010.
- Kanakry J, Ambinder R. The biology and clinical utility of EBV monitoring in blood. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;391:475–99.
- Kerr JR. Epstein-Barr vírus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors. *J Clin Pathol*, jul. 2019, 0: 1-8.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Chapter 13: viral diseases. *Am J Transplant*. 2009;9(3):S44-58.
- KOTTON, CN CMV: Prevenção, diagnóstico e terapia: CMV: Prevenção, diagnóstico e terapia. *Jornal americano de transplante: jornal oficial da Sociedade Americana de Transplante e da Sociedade Americana de Cirurgias de Transplante* , v. 13 Suppl 3, n. s3, pág. 24–40; teste 40, 2013.
- KOTTON, CN et al. As diretrizes do terceiro consenso internacional sobre o manejo de citomegalovírus em transplante de órgãos sólidos. *Transplante* , v. 102, n. 6, pág. 900-931, 2018.

- LAFAYETTE, Thereza Christina Sampaio. Linfomas Não Hodgkin (LNH) associados ao vírus Epstein Barr (EBV) em crianças transplantadas: caracterização de expressão viral e tratamento com o emprego de anticorpos Anti CD20. 2015. Dissertação (Mestrado em Pediatria) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. doi:10.11606/D.5.2016.tde-02022016-162501. Acesso em: 2022-03-18.
- Larson, T. S. et al. Complete Avoidance of Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation. *American Journal of Transplantation*, 6 (3), 514-522, 2006.
- Lautenschlager I, Razonable RR. Human herpesvirus-6 infections in kidney, liver, lung, and heart transplantation: review. *Transplant International*. 2012;25:493-502.
- Le J, Durand CM, Agha I, Brennan DC. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant Rev (Orlando)*. 2017 Jan;31(1):55-60. doi: 10.1016/j.trre.2016.12.001. Epub 2016 Dec 29. PMID: 28089555.
- Le J, Durand CM, Agha I, Brennan DC. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant Rev*. 2017;31(1):55-60.
- Le J. Oncogenic γ Herpesviruses EBV and HHV-8 in kidney transplantation. *Semin Nephrol*. 2016; 36(5):362-371.
- Lee YM, Kim YH, Han DJ, Park SK, Park JS, Sung H, et al. Cytomegalovirus infection after acute rejection therapy in seropositive kidney transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 2014;16(3):397-402.
- LEVINSON W. *Microbiologia Médica e Imunologia*, 10ª Ed. 2010
- Li L, Chaudhuri A, Weintraub LA, Hsieh F, Shah S, Alexander S, et al. Subclinical cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with adverse outcomes in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant*. 2007;11:187-195.
- Lobato-Silva DF. Citomegalovírus: epidemiologia baseada em dados de soroprevalência. *Rev Pan-Amaz Saúde*, 2016, 7 núm esp: 213-219.
- Madigan M, Martinko J, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. *Brock Biology of Microorganisms*. 13. ed. New Jersey/USA: Pearson, 2010; 1152 p.

- Manfro RC, Noronha IL, Silva Filho AP. Manual de transplante renal. 2º ed. Barueri, SP: Manole, 2014.
- Manitpisitkul W, Wilson NS, Haririan A. Immunosuppressive agents as risk factors for BK virus nephropathy: an overview and update. *Expert opinion on drug safety*. 2010; 9(6):959-969.
- MAYER, AD et al. Ensaio multicêntrico randomizado comparando tacrolimus (fk506) e ciclosporina na prevenção da rejeição de aloenxerto renal1: Um relato do grupo de estudo renal multicêntrico europeu de tacrolimus. *Transplante*, v. 64, n. 3, pág. 436-443, 1997.
- Mendrone Junior A. Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 2010, 32(1): 7-8.
- Meulen CG, Wetzels JF, Hilbrands LB. The influence of mycophenolate mofetil on the incidence and severity of primary cytomegalovirus infections and disease after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(5):711-714.
- MOCARSKI E.S., SHENK T., PASS R.F. Cytomegaloviruses, *Fields virology*, 5 edition. Edited by: Knipe DM, Howley PM. Philadelphia, PA, Lippincott Williams 2701-2772, 2007
- Morscio J, Dierickx D, Tousseyn T. Molecular pathogenesis of B-cell posttransplant lymphoproliferative disorder: what do we know so far? *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:150835.
- Muti G, Cantoni S, Oreste P, Klersy C, Gini G, Rossi V, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders: improved outcome after clinico-pathologically tailored treatment. *Haematologica*. 2002;87:67-77.
- Oliver GS, Lima BM, Sumita LM, Serafim V, Fink MC, Nali LH, et al. Multiple sclerosis and herpesvirus interaction. *Arq Neuropsiquiatr*, São Paulo, 2013, 71(9-B): 727-730.
- Opelz G, Dohler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant*. 2004;4:222–30.
- Penello AM, Campos BC, Simão MS, Gonçalves MA, Souza PMT, Salles RS, et al. Herpes Genital. *DST – J bras Doenças Sex Transm*, 2010, 22(2): 64-72.

- Petrara MR, Giunco S, Serraino D, Dolcetti R, De Rossi A. Post-transplant lymphoproliferative disorders: from epidemiology to pathogenesis-driven treatment. *Cancer Lett.* 2015;369(1):37-44.
- Ramos MC, Sardinha JC, Alencar HDR, Aragón MG, Lannoy LH. Protocolo brasileiro para infecções sexualmente transmissíveis 2020: infecções que causam úlcera genital. *Epidemiol. Serv. Saúde*, mar. 2021, 30(spe 1): 1-14.
- Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(4):703-727.
- Remuzzi G, Lesti M, Gotti E, Ganeva M, Dimitrov BD, Ene-lordache B, et al. Mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of acute rejection in renal transplantation (MYSS): a randomised trial. *Lancet.* 2004;364:503-12.
- REQUIÃO-MOURA, AF et al. Transplante renal preemptivo: por que, quando e como? *Jornal brasileiro de nefrologia: 'Órgão oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia*, 2022.
- REQUIÃO-MOURA, L. R.; MATOS, A. C. C. DE; PACHECO-SILVA, A. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical aspects, management and the perspectives. *Einstein (São Paulo)*, v. 13, n. 1, p. 142–148, mar. 2015.
- RIBAS, F. S. B. DE S. Monitoramento dos herpesvírus EBV, HCMV e HHV-6 em receptores de transplante renal e desenvolvimento de um método de diagnóstico molecular para triagem e diferenciação dos poliomavírus BK e JC. 2019.
- Rocha DAP, Mariño JM, Santos CMB. Detecção de Citomegalovírus Humano e Herpesvírus Simples tipo 2 em amostras cervicais. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, nov. 2012, 34(11): 499-504.
- SAFFERT R.T., PENKERT R.R., KALEJTA R.F. Cellular and viral control over the initial events of human cytomegalovirus experimental latency in CD34+ cells. *Journal Virol*, 84:5594-5604, 2010
- Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, Sund S, Scott H, Degré M, et al. The impact of cytomegalovirus infection and disease on rejection episodes in renal allograft recipients. *Am J Transplant.* 2002;2(9):850-6.

- San Juan R, Aguado JM, Lumbreras C, Fortun J, Muñoz P, Gavalda J, et al. RESITRA Network of the Spanish Study Group of Infection in Transplantation. Impact of current transplantation management on the development of cytomegalovirus disease after renal transplantation. *Clin Infect Dis*. 2008;47(7):875- 882.
- Santos MP, Morais MP, Fonseca DD, Faria AB, Silva IH, Carvalho AA, et al. Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. *Odontol. Clín.-Cient., Recife, jul.-set. 2012; 11(3):191-196.*
- SANTOS, S.D. R. DOS et al. Prevalência de doença por citomegalovírus em transplantes renais em unidade de terapia intensiva. *Revista brasileira de terapia intensiva*, v. 29, n. 4, p. 436-443, 2017.
- SARMENTO, P. V. D. H. et al. Transplante renal, infecções associadas e suas medidas terapêuticas: uma revisão de literatura. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 15, n. 2, p. e9762, 2022.
- SCEFFEL, TB. et al. JBT ARTIGOS ORIGINAIS • FATORES DE RISCO RELACIONADOS À PNEUMONIA NO PÓS-OPERATÓRIO PRECOCE DE TRANSPLANTE DE FÍGADO EXPEDIENTE, 2015. Disponível em: <<https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2020/06/15-1-1.pdf>>. Acesso em: 22 set. 2022
- SCHEFFEL, T. B. et al. INFECÇÃO CITOMEGÁLICA PÓS-TRANSPLANTE RENAL. *Brazilian Journal of Transplantation*, v. 18, n. 1, p. 16–25, 2015.
- SCHROEDER, R.B. et al. A replicação precoce do HHV-6 está associada à morbidade não relacionada à infecção pelo CMV após o transplante renal. *Revista Brasileira de Doenças Infecciosas: uma publicação oficial da Sociedade Brasileira de Doenças Infecciosas*, v. 16, n. 2, p. 146-152, 2012.
- Sesso R, Eisenberg JM, Stabile C, Draibe S, Ajzen H, Ramos O. Cost-effectiveness analysis of the treatment of endstage renal disease in Brazil. *Int J Technol Assess Health Care*. 1990;6(1):107-14.
- SHENK T., STINSKI F.M. Human Cytomegalovirus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Volume 325, 1 edition. Berlin: Springer; 2008
- Silverman SJ, Eversole LR, Truelove EL. *Fundamentos de Medicina Oral*. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004; 321 p.

- SISSONS J.C.. Human cytomegalovirus infection. *Thorax*. 44:241-6, 1989
- SMATTI, MK et al. Epidemiologia do vírus Epstein-Barr, sorologia e variabilidade genética do oncogene LMP-1 entre a população saudável: Uma atualização. *Fronteiras em oncologia*, v. 8, 2018.
- STARCK É, et al. Complicações infecciosas no primeiro ano pós-transplante renal. *BJD*, 2020; 6(6):36663–36676
- STERN, M. et al. Cytomegalovirus serology and replication remain associated with solid organ graft rejection and graft loss in the era of prophylactic treatment. *Transplante* , v. 98, n. 9, pág. 1013-1018, 2014.
- TANDON R., MOCARSKI E.S. Viral and host control of cytomegalovirus maturation. *Trends Microbiol.*, August ; 20(8): 392–401, 2012
- Tedesco-Silva H, Felipe C, Ferreira A, Cristelli M, Oliveira N, Sandes-Freitas T, et al. Reduced incidence of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses. *Am J Transplant*. 2015;15(10):2655-2664.
- TEDESCO-SILVA, H. et al. Reduced incidence of Cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses: Reduced CMV infection with everolimus. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, v. 15, n. 10, p. 2655–2664, 2015.
- TIZO JM e MACEDO LC. Principais Complicações E Efeitos Colaterais Pós-Transplante Renal. *Uningá Review Journal*, 2015; 24:1
- Trindade AKF, Queiroga AS, Silva DSC, Campos SEM, Lucena LBS, Sousa EMD. Herpes Simples Labial – um desafio terapêutico. *Comum. ciênc. Saúde*, out.-dez. 2007, 18(4): 307-313.
- Vanichanan J, Udomkarnjananun S, Avihingsanon Y, Jutivorakool K. Common viral infections in kidney transplant recipients. *Kidney Res Clin Pract*. 2018;37(4): 323–337.
- Vista do Transplante renal, infecções associadas e suas medidas terapêuticas: uma revisão de literatura. Disponível em: <<https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/9762/5868>>. Acesso em: 22 mar. 2022.

- Ylinen E, Lehtinen S, Jahnukainen T, Karlsson T, Loginov R, Mannonen L, et al. Human herpes virus 6 infection in pediatric organ transplant patients. *Pediatr Transplant.* 2017;21(4).
- Ypiranga S, Moraes AM. Prevalência do herpes-vírus humano tipo 1 em neoplasias cutâneas epiteliais malignas. *An. Bras. Dermatol.*, abr. 2009. 84(2): 137-142.

PREVALÊNCIA DE CITOMEGALOVÍRUS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS

Prevalence of Cytomegalovirus in Kidney Transplants

*Drielly Rodrigues Moura Izaias¹, Fabio Goncalves¹, Gemma Galgany de Lucena²
e Helena Toledo Kaminisk², Fabiano Queiroz Costa², Victoria Simionatto
Zucherato³, Svetoslav Nanev Slavov^{3,4}, Rodrigo Haddad¹*

Instituições:

¹ Universidade de Brasília, Núcleo de Medicina Tropical

² Laboratório Central do Distrito Federal

³ Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

⁴ Instituto Butantan

RESUMO:

Objetivos: Visto que não há estudos de prevalência de CMV em pacientes transplantados no Distrito Federal, este estudo objetivou essa prevalência em amostras de plasma de 170 pacientes transplantados renais acompanhados no Hospital Universitário de Brasília. Além disso, este estudo também objetivou coorelacionar a positividade de CMV nos transplantados com o gênero, idade, o tempo pós-transplante e o esquema de tratamento com imunossuppressores. Após extração de ácidos nucleicos do plasma, as amostras foram testadas por meio de PCR em tempo real para cada um dos vírus estudados. Os resultados demonstraram uma prevalência de 20% (34/170) para o CMV. Não houve diferença estatística na prevalência do CMV entre homens e mulheres. Ainda, foi observado que a prevalência do CMV diminuiu de acordo com o tempo pós-transplante, e que o esquema de imunossupressão parece influenciar no aparecimento da infecção; enquanto os imunossuppressores sirolimo e everolimo parecem exercer um efeito protetor contra a infecção pelo CMV, os imunossuppressores micofenolato e o tacrolimo parecem favorecer a infecção. Os resultados desse trabalho permitem conhecer a real prevalência do CMV em pacientes transplantados renais do Distrito Federal, e poderão servir de base para definição de protocolos que visem a prevenção dessas infecções nessa população.

Palavras-chaves: Citomegalovírus, Transplantados renais e Imunossuppressores.

INTRODUÇÃO:

O citomegalovírus (CMV ou HHV-5) é um β -herpes-vírus, que pertence à família dos Herpesviridae. Geralmente a primeira infecção ocorre durante a infância, atingindo uma soroprevalência (presença de anticorpos) de 70 a 90% da população adulta. A infecção pelo CMV é a principal complicação infecciosa no transplante de rim, sendo motivo de alta morbimortalidade (Requião-Moura et al., 2015).

Com o objetivo evitar que ocorra a rejeição do órgão transplantado, pacientes transplantados renais são submetidos à terapia de imunossupressão, o que contribui para o aumento da perspectiva de vida do paciente e da sobrevida do enxerto (Sarmiento et al., 2019). Por outro lado, a utilização de medicamentos imunossupressores em receptores possui uma forte correlação com a alta taxa de incidência de morbimortalidade devido a complicações infecciosas em recém transplantados (Starck, et al, 2020), como por exemplo a infecção pelo CMV. Quando as medidas de prevenção de infecção são negligenciadas, cerca de 40% a 100% de todos os transplantados renais desenvolvem infecção pelo CMV e até 67% desenvolvem doenças decorrentes do CMV (febre, neutropenia, trombocitopenia, mal estar, pneumonia, hepatite, pancreatite, entre outras) (Hibberd PL at all., 1992. Reischig T at all., 2005)

Não há estudos de prevalência do CMV em pacientes transplantados no Distrito Federal. Assim, este estudo objetivou avaliar a prevalência deste vírus nos pacientes transplantados renais do Hospital Universitário de Brasília. Os resultados obtidos neste estudo podem auxiliar no entendimento do efeito dessas infecções na saúde do paciente transplantado renal, a prevalência desse vírus nessa população e a definição de protocolos que auxiliem na prevenção de sintomas decorrentes da reativação viral. Ainda, visto que a infecção do CMV ocorre em pacientes transplantados renais, principalmente devido à sua condição de imunossupressão, e que diversos fatores podem influenciar essa reativação, a prevalência do CMV observada nesses pacientes foram correlacionadas com dados de tratamento, tempo pós-transplante, gênero e idade.

MÉTODOS:

Tipo de estudo:

Trata-se de um estudo clínico randomizado (ECR), importante ferramenta para a obtenção de evidências na área da saúde. Esse estudo consiste em um tipo de estudo experimental, desenvolvido em seres humanos e que visa contribuir para o conhecimento do efeito de intervenções em saúde. Nesse estudo, foram colhidas em exames de rotina as amostras (plasma) de pacientes submetidos a transplantes renais no Hospital Universitário de Brasília para investigação do citomegalovírus. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa em Seres Humanos (CAAE: 83811718.8.0000.8093), e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Coleta das amostras e extração do material genético:

Foram coletadas amostras de sangue (tubo contendo EDTA) de 170 pacientes transplantados renais, maiores de idade, de ambos os sexos, atendidos no Hospital Universitário de Brasília. Após a coleta, o plasma foi separado por centrifugação e submetido à extração de ácidos nucleicos. O material genético viral (DNA/RNA) foi extraído automaticamente com o uso do Maxwell® 16 Instrument e do kit Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, seguindo as instruções do fabricante. A integridade e pureza do material genético extraído foi avaliada por meio da leitura no espectrofotômetro Nanodrop One (Thermo Scientific) nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm. Em seguida, o material foi estocado a -80 °C até o momento das análises.

Coleta de dados:

Os dados dos pacientes foram obtidos a partir de seus prontuários, conforme a disponibilidade (prontuários físicos e/ou eletrônicos – Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários - AGHU). Foram obtidos dados de tipo de tratamento (imunossupressores utilizados), tempo pós transplante, gênero e idade. Esses dados foram correlacionados com a positividade do CMV.

Detecção do CMV por qPCR

As análises de detecção molecular foram realizadas por qPCR (Reação de Cadeia da Polimerase Quantitativa) em tempo real, utilizando o termociclador Quantistudio 5 (Thermo Scientific). Foram utilizados sondas e iniciadores (*primers*) específicos e condições de reação já consagrados na literatura (Abbott RealTime CMV, 2011), conforme pode ser observado nas tabelas 1 e 2.

Vírus	Reagentes	Quantidade	Condições da Reação	Referência
CMV	Master Mix	10 uL	50°C - 2 min	Abbott RealTime CMV, 2011.
	Wash	0,4 UI	95°C - 10 min	
	Prime F	1,8 uL	40 ciclos:	
	Prime R	0,5 UI	95°C - 15seg	
	Sonda	5,5 UI	60°C – 1min	

Tabela 1: Sondas, iniciadores e protocolo da reação utilizados.

Sonda/Iniciador	Sequência 5´-3´
HCMV F	TCATCCACACTAGGAGAGCAGACT
HCMV R	GCCAAGCGGCCTCTGAT

Tabela 2: Sequência 5' - 3' das sondas e iniciadores utilizados.

Análise estatística:

Para a análise estatística deste trabalho, foi utilizado o teste T de Student para avaliação da média de idade dos pacientes. Para a análise das prevalências da presença de CMV entre os grupos foi utilizado o teste qui-quadrado. O teste de Fisher foi utilizado nas análises que envolveram os medicamentos imunossupressores.

RESULTADOS:

No período estudado, 170 pacientes foram submetidos à coleta de material para detecção de CMV. Desse universo de pacientes foram contabilizados 65 (38,23%) pacientes do sexo feminino e 105 (61,76%) pacientes do sexo masculino. Os homens apresentam uma média de idade de 49,97 anos ($\pm 13,31$) e mulheres de 45,02 anos ($\pm 15,13$). Após análise molecular por PCR em tempo real das amostras obtidas dos pacientes transplantados renais observou-se que 20% (34/170) deles apresentaram resultado positivo para CMV. Apesar de uma maior porcentagem de pacientes positivos para CMV ser encontrada em homens quando comparado às mulheres (24,76% vs 15,38%), não houve diferença significativa de pacientes positivos em relação ao gênero (Tabela 4). Não houve diferença significativa em relação à idade de pacientes positivos e negativos para CMV. A média de idade dos pacientes transplantados que apresentaram positividade para CMV foi de 45,24 anos ($\pm 13,10$) e a dos pacientes negativos para CMV foi de 46,66 anos ($\pm 14,91$) ($p=0,6104$)

	Homens	Mulheres	Total	P valor
N	105 (61,76%)	65 (38,23%)	170 (100%)	-----
Média de Idade (\pmDP)	49,97 ($\pm 13,31$)	45,02 ($\pm 15,13$)	48 ($\pm 14,2$)	0,0265 *
CMV +	24 (24,76%)	10 (15,38%)	34 (20,0%)	0,2365**

DP: Desvio Padrão; * teste T de Student; **Teste qui-quadrado

Tabela 3: Características demográficas e prevalência de CMV

Ao se comparar a idade dos pacientes com a quantidade de positivos para citomegalovírus, percebe-se que quanto maior a idade dos pacientes menor a positividade para citomegalovírus (Gráfico 1), porém sem diferença estatística.

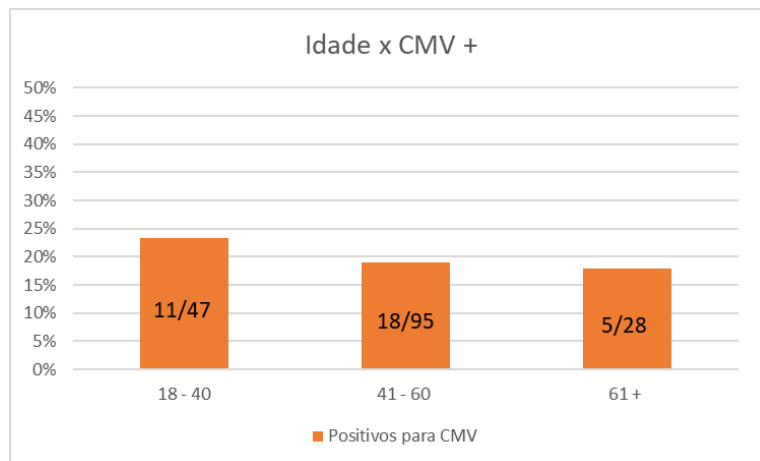


Gráfico 1: Idade dos pacientes x Positivos para CMV.

Conforme já demonstrado, observou-se 20% (34/170) dos pacientes avaliados foram positivos para CMV. Quando avaliados os pacientes em que a coleta de sangue ocorreu em até 180 dias pós-transplante (75,53 dias \pm 52,03), observou-se que 46,66% (14/30) apresentaram resultado positivo para o CMV; quando observado pacientes em que a coleta ocorreu no primeiro ano pós-transplante (112,12 dias \pm 79,57) observou-se que 45% foram positivos. Quando observado os pacientes cujo as amostras foram colhidas em até 3 anos, 5 anos e 7 anos, foi observada a positividade em 30,76% (20/65), 28,08% (25/89) e 25,89% (29/112) (Gráfico 2 A.).

Ao avaliar a positividade de CMV delimitando o tempo pós-transplante nas faixas de 0 a 180 dias, de 181 a 365 dias, de 1 ano a 3 anos, de 3 anos a 5 anos, de 5 anos a 7 anos e acima de 7 anos, observa-se que a positividade também foi decrescente; observou-se positividade para o CMV em 46,66% (14/30), 8% (2/25), 20% (5/25), 17,39% (4/23) e 10,16% (6/59) respectivamente (Gráfico 2 B.).

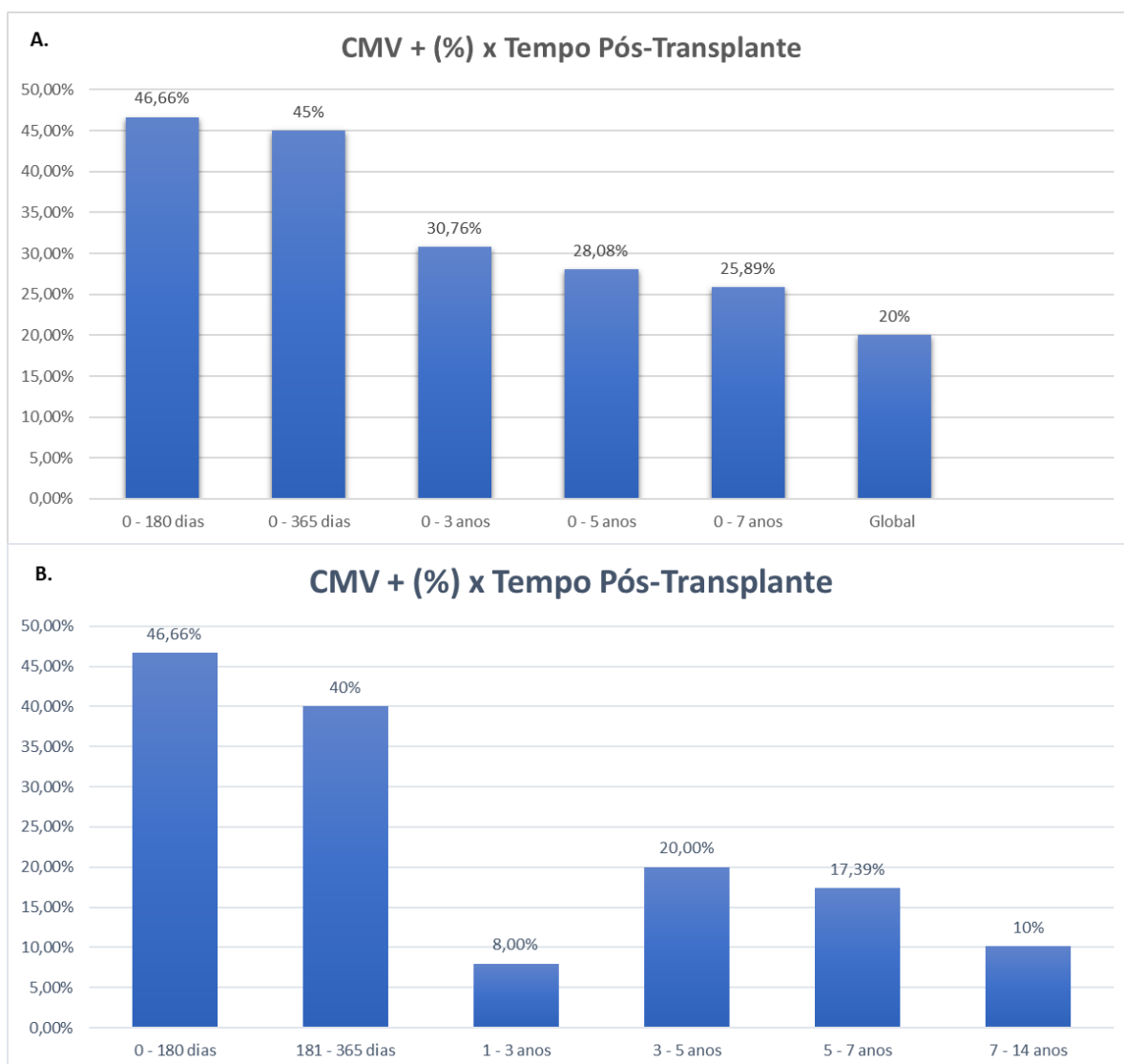


Gráfico 2: Relação de Positivos para CMV de acordo com o Tempo pós transplante

Em relação aos medicamentos imunossupressores utilizados pelos transplantados, observamos que 113 pacientes usaram tacrolimo, 77 usaram sirolimo, 142 usaram prednisona, 50 usaram micofenolato, 7 usaram azatioprina e 6 usaram everolimo. A maior parte dos tratamentos refere-se a uma combinação desses imunossupressores (2 ou 3 diferentes imunossupressores) dentre os esquemas de tratamento utilizados foi observado que o tratamento envolvendo o uso de prednisona + tacrolimo + micofenolato foi utilizado em 51 pacientes, seguido de prednisona + tacrolimo + sirolimo (46 pacientes) e prednisona + sirolimo + micofenolato (26 pacientes). Outros esquemas terapêuticos (com 2 ou 3 imunossupressores) foram utilizados em menos de 5 pacientes por grupo. Vinte e seis pacientes não fizeram uso de imunossupressor (Gráfico 3 A).

Diante desse cenário, grupos com maiores números de indivíduos em tratamento foram avaliados quanto à positividade de CMV. Quando avaliado toda a população do estudo, observamos que pacientes que se utilizaram do esquema de tratamento

envolvendo prednisona + tacrolimo + micofenolato apresentaram 23,52% de positividade para o CMV (12/51), seguido do esquema de tratamento envolvendo prednisona + tacrolimo + sirolimo (19,56% - 9/46) e prednisona + sirolimo e micofenolato (3,84% - 1/26). Dos 26 pacientes que não utilizaram imunossupressor, 7 deles eram positivos para CMV.

Quando as frequências desses grupos foram comparadas (teste exato de Fisher), observamos diferença estatística entre o grupo de pacientes que utilizou prednisona + sirolimo + micofenolato vs grupo que não utilizou imunossupressor ($p=0,0496$), demonstrando que apesar da imunossupressão, este esquema poderia ter um efeito protetor contra a infecção pelo CMV. Ainda, quando observamos diferença significativa entre os grupos prednisona + tacrolimo + micofenolato vs prednisona + sirolimo + micofenolato ($p=0,0499$) percebemos que o efeito protetor poderia estar relacionado ao sirolimo, uma vez que o esquema envolvendo prednisona + tacrolimo + micofenolato não mostrou diferença para o grupo que não usou imunossupressor ($p=0,7840$). Por outro lado, o tacrolimo também poderia estar favorecendo a infecção pelo CMV (Gráfico 3 B.)

Diante dessa observação, decidimos avaliar os pacientes de acordo com o uso de cada um dos imunossupressores isoladamente. A análise estatística não demonstrou diferença entre as frequências apresentadas, porém, observou-se que o grupo em que o sirolimo foi utilizado apresentou menor porcentagem de pacientes positivos para CMV (14,29%) em relação ao grupo que não usou imunossupressor (26,92%) e em relação ao grupo que utilizou o tacrolimo (23,89%). Importante ressaltar, que nenhum paciente que se utilizou do everolimo apresentou positividade para o CMV (0/6). As maiores porcentagens de positividade para o CMV foram observadas em pacientes que fizeram uso de azatioprina (28,57%) e micofenolato (28,00%) (Gráfico 3 C.).



Gráfico 3: A. Esquema de imunossupressor utilizado, B. Imunossupressor x positivos para citomegalovírus, C. Esquema de imunossupressão usados para os 34 pacientes positivos para CMV.

Considerando que a positividade para CMV é mais frequente nos primeiros meses pós-transplante, decidimos avaliar a frequências de pacientes positivos de acordo com o esquema de tratamento para aqueles pacientes que coletaram amostras dentro dos 180 primeiros dias pós transplante. Apesar do número reduzido de amostras coletadas nesse período, observamos que o esquema se utilizando prednisona + tacrolimo + sirolimo apresentou a menor porcentagem de pacientes positivos (30%). Pacientes se utilizando de prednisona + tacrolimo + micofenolato, ou prednisona + sirolimo + micofenolato ou sem uso de imunossupressor apresentaram positividade de 50% para o CMV (Gráfico 4 A.).

Por fim, avaliamos a positividade para o CMV de acordo com o uso de cada tipo de imunossupressor de forma isolada nos pacientes cuja amostras foram coletadas nos 180 primeiros dias (Gráfico 4 B.). Pacientes que fizeram o uso de sirolimo apresentaram a menor porcentagem de positividade para o CMV (30,76%). Pacientes com o uso de tacrolimo apresentaram positividade para o CMV de 40,9% enquanto aqueles que se utilizaram de prednisona e micofenolato apresentaram positividade para o CMV de 43,65% e 46,15% respectivamente. Pacientes sem o uso de imunossupressor apresentaram positividade de CMV de 75%. Não houve diferença estatística entre os grupos.

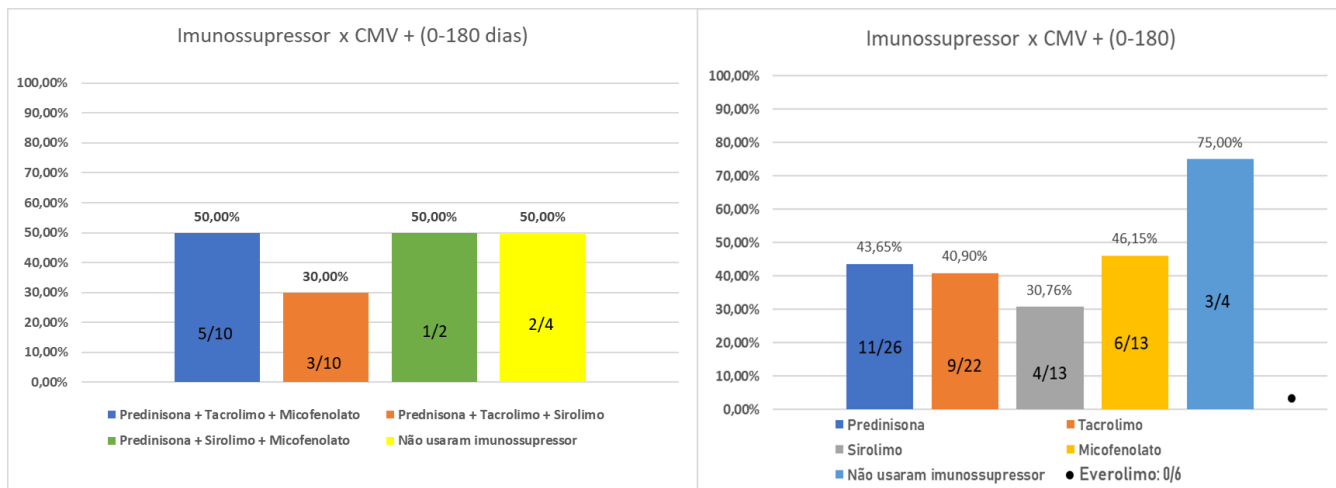


Gráfico 4: A. Esquema de imunossupressão x positivos para citomegalovírus de 0 a 180 dias pós transplante, B. Imunossupressor x positivos para citomegalovírus de 0 a 180 dias pós transplante.

DISCUSSÃO:

A infecção por CMV é comum após o transplante renal, principalmente em até os primeiros 100 dias. Os fatores que influenciam o desenvolvimento da infecção por CMV incluem o status sorológico para CMV do receptor e do doador, o uso de agentes depletadores de linfócitos, nível de imunossupressão e tipo de doador (vivo ou falecido). (KDIGO, 2009). Um estudo com receptores de transplantes renais, comprovou que a infecção e a doença por citomegalovírus aumentam a o risco de rejeição aguda em cerca de 1,6 a 2,5 vezes (Sagedal et al., 2002). Vários outros estudos já publicados também fazem a correlação de rejeição aguda com a infecção por CMV em receptores renais (Blazquez-Navarro et al., 2018; Stern et al., 2014; Lee et al., 2014). Isso se dá uma vez que a maior parte dos pacientes tiveram seu primeiro contato com o vírus durante a infância, e após o transplante pode ocorrer reativação devido a imunossupressão (Requião-Moura; Dematos; Pacheco-Silva, 2015).

Dentre os pacientes de nosso estudo, 30 pacientes foram avaliados dentro do período de 180 dias. A infecção pelo CMV foi observada em 46,66% dos pacientes no período avaliado. Em amostras colhidas em até 1 ano pós transplante a positividade foi de 45%. Scheffel et al., (2015), descreve em seu estudo que a incidência e a severidade dos eventos infecciosos são maiores nos primeiros meses após o transplante, período em que a terapia imunossupressora também é mais intensa. Cerca de 80% dos receptores renais apresentam alguma complicação infecciosa durante o primeiro ano de acompanhamento. Um outro estudo realizado no norte do Irã demonstrou que a doença por CMV é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes transplantados renais, e que a infecção geralmente ocorre nos primeiros três meses após o transplante. Este estudo destaca que o cuidado e o acompanhamento desses pacientes são cruciais nos primeiros 5 meses (Babazadeh, A. et al., 2017). Outro estudo, também, confirmou que cerca de 60% dos receptores terão a infecção por CMV e mais que 20% irão desenvolver a doença sintomática. Devido ao avanço da imunossupressão possivelmente haverá uma variação tanto na ocorrência quanto no padrão das infecções, sendo que 55% dos pacientes deste estudo desenvolveram a doença por CMV em ≤ 3 meses pós-transplante (Cordero et al., 2012).

Ao se fazer o monitoramento do paciente por mais que 12 meses, Giakoustidis et al. (2012) em seu estudo afirma que a incidência de doença por CMV de início tardio foi baixa após o primeiro ano pós-transplante e não foi letal. De fato, neste estudo observou-se que há uma queda da porcentagem de pacientes positivos quando amostras colhidas em maiores períodos pós-transplante são incluídas nas análises. A porcentagem de pacientes positivos para CMV cai para 20% quando todas as amostras coletadas são incluídas (pacientes com amostras colhidas em até 14 anos pós transplante). Por outro lado, essa queda também pode ser influenciada pelo tratamento antiviral ministrado em pacientes que demonstram positividade para o CMV nos 6 primeiros meses pós-transplante.

A terapia de imunossupressão utilizada em transplantados tem como principal objetivo evitar que ocorra a rejeição do órgão transplantado, contribuindo com o aumento da perspectiva de vida do paciente e da sobrevivência do enxerto. Para que isso aconteça, é necessário estabelecer o estado de imunossupressão – tratamento utilizado no momento do transplante –, manter o estado de imunossupressão e tratar, caso ocorra, episódios de rejeição aguda e/ou crônica (Sarmiento et al., 2019)

De acordo com o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas, para a imunossupressão de manutenção em receptores de doadores vivos ou falecidos é recomendado o esquema de imunossupressão tríplice com prednisona, azatioprina e ciclosporina ou tacrolimo e alternativamente pode ser utilizado o esquema com prednisona, micofenolato de mofetil e ciclosporina ou tacrolimo (Chocair et al., 2014). Este último foi mais utilizado, representando 30% do número de pacientes do estudo.

Apesar do protocolo terapêutico dar a opção entre ciclosporina e tacrolimo, nenhum dos transplantados do estudo fizeram o uso da ciclosporina. Há relato de que o tacrolimo tem forte ligação com infecção por poliomavírus (Manitpisitkul et al., 2010). Neste sentido, um outro estudo demonstrou que as concentrações de tacrolimo está diretamente associada à replicação viral do CMV (TEDESCO-SILVA et al., 2015). Dois ensaios clínicos compararam o manejo de sirolimo + micofenolato + corticoide com o manejo de tacrolimo + micofenolato + corticoide após o transplante renal. No estudo de LARSON et al., 2006, foi diagnosticado dez casos de infecção sistêmica por citomegalovírus no grupo que fez o uso de tacrolimo ao ser comparado com dois casos no grupo sirolimo. No segundo estudo, apenas um receptor foi diagnosticado com infecção por CMV no grupo que utilizou o sirolimo, já no grupo que utilizou o tacrolimo 14 receptores foram diagnosticados com infecção por citomegalovírus (GLOTZ et al., 2010). Esses estudos vão de encontro ao achado neste presente estudo, em que o grupo que se utilizou do sirolimo apresentou menor porcentagem de pacientes positivos para CMV (14,29%) em relação ao grupo que não usou imunossupressor (26,92%) e em relação ao grupo que utilizou o tacrolimo (23,89%). Isso mostra que possivelmente o tacrolimo também poderia estar favorecendo a infecção pelo CMV nesses pacientes.

Apenas 7 dos pacientes estudados fizeram o uso da azatioprina. O baixo uso deste imunossupressor é devido a preferência pelo o micofenolato de mofetil, que mostra uma forte potência imunossupressora com baixa incidência de rejeição aguda (Remuzzi et al., 2004). O micofenolato, utilizado em grande parte dos indivíduos estudados, é uma droga de primeira linha nos protocolos de imunossupressão, mas percebe-se que esse medicamento tem uma forte associação com o aumento na incidência de infecções virais, e seu efeito é contraditório na infecção pelo citomegalovírus (San Juan et al., 2008; Meulen et al., 2000).

Os 6 pacientes que fizeram uso de everolimo não positivaram para CMV. De fato, há estudos que demonstram que o everolimo está associado à menor incidência de doença por CMV após transplante renal, quando comparado à micofenolato (BRENNAN et al., 2011). Esses dados sugerem que receptores de transplante renal recebendo EVR podem não precisar usar profilaxia contra CMV (BASTOS et al., 2021).

Através dos resultados obtidos neste estudo conclui-se que não há diferença significativa em relação à prevalência de CMV entre homens e mulheres. Observou-se também que a taxa de positividade do CMV vai diminuindo de acordo com o tempo pós-transplante. Por fim, observou-se que os imunossupressores sirolimo e everolimo parece ter um efeito protetor contra a infecção pelo citomegalovírus, enquanto o tacrolimo e o micofenolato parece favorecer a infecção. Estudos com seguimento mais frequente dos pacientes transplantados e com maior número de indivíduos podem conformar nossos achados e fornecer informações importantes para o melhor manejo desses pacientes, evitando a perda do enxerto e favorecendo a sobrevida.

REFERÊNCIAS:

Ablashi DV, Devin CL, Yoshikawa T, Lautenschlager I, Luppi M, Kühl U, Komaroff AL. Review Part 3: Human herpesvirus-6 in multiple non-neurological diseases. *J Med Virol.* 2010;82(11):1903-10

BABAZADEH, A. et al. Incidência e fatores de risco para citomegalovírus em pacientes transplantados renais em Babol, norte do Irã. *Caspian Journal of Internal Medicine*, v. 8, n. 1, pág. 23–29, Inverno 2017

Baiocchi OC, Colleoni GW, Caballero OL, Vettore AL, Bulgarelli A, Dalbone MA, et al. Epstein–Barr viral load, interleukin-6 and interleukin-10 levels in post-transplant lymphoproliferative disease: a nested case–control study in a renal transplant cohort. *Leuk Lymphoma.* 2005;46:533–9.

Bamouli J, Courivaud C, Coaquette A, Chalopin JM, Gaiffe E, Saas P, et al. Subclinical Epstein-Barr virus viremia among adult renal transplant recipients: incidence and consequences. *Am J Transplantation.* 2013;13:656-662.

BASTOS, J. et al. Incidence of Cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses: A cohort retrospective analysis. *Brazilian Journal of Transplantation*, v. 24, n. 3, p. 25–33, 2021.

Blazquez-Navarro A, Dang-Heine C, Wittenbrink N, Bauer C, Wolk K, Sabat R, et al. BKV, CMV, and EBV interactions and their effect on graft function one year postrenal transplantation: results from a large multi-centre study. *EBioMedicine.* 2018;34:113-121.

BRENNAN, D. C. et al. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials: Everolimus versus mycophenolate and CMV incidence. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, v. 11, n. 11, p. 2453–2462, 2011.

CHOCAIR, P. R. et al. imunossuPressão no transPlante renal. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/imunossupressao_transplanterrenal.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2022.

CORDERO, E. et al. Cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients: incidence, clinical profile, and risk factors. *Transplantation proceedings*, v. 44, n. 3, p. 694–700, 2012.

GLOTZ, D. et al. Thymoglobulin induction and sirolimus versus tacrolimus in kidney transplant recipients receiving mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation*, v. 89, n. 12, p. 1511–1517, 2010.

Hibberd PL, Tolkoff-Rubin NE, Cosimi AB, et al. Symptomatic cytomegalovirus disease in the cytomegalovirus antibody seropositive renal transplant recipient treated with OKT3. *Transplantation*. 1992;53(1):68-72.

Hirsch, HH, Babel N, Comoli P, Friman V, Ginevri F, Jardine A, et al. European perspective on human polyomavirus infection, replication and disease in solid organ transplantation. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20:74-88.

Holmes MV, Caplin B, Atkinson C, Smith C, Harber M, et al. Prospective monitoring of Epstein-Barr virus DNA in adult renal transplant recipients during the early posttransplant period: Role of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2009;87:852- 856.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Chapter 13: viral diseases. *Am J Transplant*. 2009;9(3):S44-58.

Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger- Isakov L, et al. Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2013;96:333-60.

Larson, T. S. et al. Complete Avoidance of Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation. *American Journal of Transplantation*, 6 (3), 514-522, 2006.

Lautenschlager I, Razonable RR. Human herpesvirus-6 infections in kidney, liver, lung, and heart transplantation: review. *Transplant International*. 2012;25:493-502.

Le J, Durand CM, Agha I, Brennan DC. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant Rev*. 2017;31(1):55-60.

Li L, Chaudhuri A, Weintraub LA, Hsieh F, Shah S, Alexander S, et al. Subclinical cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viremia are associated with adverse outcomes in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant*. 2007;11:187-195.

Manfro RC, Noronha IL, Silva Filho AP. Manual de transplante renal. 2º ed. Barueri, SP: Manole, 2014.

Manitpisitkul W, Wilson NS, Haririan A. Immunosuppressive agents as risk factors for BK virus nephropathy: an overview and update. *Expert opinion on drug safety*. 2010; 9(6):959-969.

MAYER, AD et al. Ensaio multicêntrico randomizado comparando tacrolimus (fk506) e ciclosporina na prevenção da rejeição de aloenxerto renal1: Um relato do grupo de estudo renal multicêntrico europeu de tacrolimus. **Transplante**, v. 64, n. 3, pág. 436-443, 1997.

Opelz G, Dohler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant*. 2004;4:222–30.

Petrara MR, Giunco S, Serraino D, Dolcetti R, De Rossi A. Post-transplant lymphoproliferative disorders: from epidemiology to pathogenesis-driven treatment. *Cancer Lett*. 2015;369(1):37-44.

Remuzzi G, Lesti M, Gotti E, Ganeva M, Dimitrov BD, Ene-lordache B, et al. Mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of acute rejection in renal transplantation (MYSS): a randomised trial. *Lancet*. 2004;364:503-12.

Requião-Moura LR, deMatos AC, Pacheco-Silva A. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical aspects, management and the perspectives. *Einstein*. 2015;13(1):142-8.

Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, Sund S, Scott H, Degré M, et al. The impact of cytomegalovirus infection and disease on rejection episodes in renal allograft recipients. *Am J Transplant*. 2002;2(9):850-6.

San Juan R, Aguado JM, Lumbreras C, Fortun J, Muñoz P, Gavalda J, et al. RESITRA Network of the Spanish Study Group of Infection in Transplantation. Impact of current transplantation management on the development of cytomegalovirus disease after renal transplantation. *Clin Infect Dis*. 2008;47(7):875-882.

SARMENTO, P. V. D. H. et al. Transplante renal, infecções associadas e suas medidas terapêuticas: uma revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 15, n. 2, p. e9762, 2022.

SCHEFFEL, T. B. et al. INFECÇÃO CITOMEGÁLICA PÓS-TRANSPLANTE RENAL. **Brazilian Journal of Transplantation**, v. 18, n. 1, p. 16–25, 2015.

STARCK É, et al. Complicações infecciosas no primeiro ano pós-transplante renal. *BJD*, 2020; 6(6):36663–36676

Stern M, Hirsch H, Cusini A, van Delden C, Manuel O, Meylan P, et al; Members of Swiss Transplant Cohort Study. Cytomegalovirus serology and replication remain associated with solid organ graft rejection and graft loss in the era of prophylactic treatment. *Transplantation*. 2014;98(9):1013-8.

Tedesco-Silva H, Felipe C, Ferreira A, Cristelli M, Oliveira N, Sandes-Freitas T, et al. Reduced incidence of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses. *Am J Transplant*. 2015;15(10):2655-2664.

ter Meulen CG, Wetzels JF, Hilbrands LB. The influence of mycophenolate mofetil on the incidence and severity of primary cytomegalovirus infections and disease after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(5):711-714.

TIZO JM e MACEDO LC. Principais Complicações E Efeitos Colaterais Pós-Transplante Renal. *Uningá Review Journal*, 2015; 24:1

Van Leer-Buter CC, Sanders JS, Vroom HE, Riezebos-Brilman A, Niesters HG. Human herpesvirus-6 DNAemia is a sign of impending primary CMV infection in CMV sero-discordant renal transplantations. *J Clin Virol*. 2013;58(2):422-6.

Ylinen E, Lehtinen S, Jahnukainen T, Karlsson T, Loginov R, Mannonen L, et al. Human herpes virus 6 infection in pediatric organ transplant patients. *Pediatr Transplant*. 2017;21(4).