



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ILANA FARIAS RIBEIRO ARAÚJO

**Infecção ativa pelo Citomegalovírus, em pacientes
transplantados renais, detectada pela PCR em Tempo Real**

Fortaleza

2015

ILANA FARIAS RIBEIRO ARAÚJO

**Infecção ativa pelo Citomegalovírus, em pacientes
transplantados renais, detectada pela PCR em Tempo Real**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Curso de Pós-graduação em
Patologia da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Ceará para
obtenção do título de Mestre em
Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Ajax Nogueira
Queiroz

Fortaleza

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A689i Araújo, Ilana Farias Ribeiro.
Infecção ativa pelo Citomegalovírus, em pacientes transplantados renais, detectada pela PCR em Tempo Real / Ilana Farias Ribeiro Araújo. – 2015.
56 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, 1, Fortaleza, 2015.

Orientação: Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz.

Coorientação: Prof. Dr. Silvia Fernandes Ribeiro da Silva.

1. transplante. 2. citomegalovírus. I. Título.

CDD

ILANA FARIAS RIBEIRO ARAÚJO

INFECÇÃO ATIVA PELO CITOMEGALOVÍRUS, EM PACIENTES
TRANSPLANTADOS RENAIIS, DETECTADA PELA PCR EM TEMPO REAL

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Pós-graduação em Patologia da
Faculdade de Medicina da Universidade
Federal do Ceará para obtenção do título de
Mestre em Patologia.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Sônia Leite da Silva
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof.^a Dra. Maria Jânia Teixeira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e força para ir até o fim.

Ao programa de Pós graduação em Patologia e seu corpo docente, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia.

Ao centro de Pesquisas em Doenças Hepato Renais, por ter me dado a oportunidade de trabalhar em um local onde aprendo a cada dia e por ter me cedido o local para realizar esse trabalho.

Ao laboratório de HLA e meus amigos de trabalho pelo incentivo e apoio constante.

Ao hospital Universitário Walter Cantídio, que possibilitou a busca ativa dos prontuários dos pacientes atendidos no Ambulatório de transplante.

Ao meu querido orientador, professor Ajax Nogueira, por tanta dedicação, paciência e ensinamentos dados durante todo o percurso.

A minha co-orientadora e chefe Silvia Fernandes que por ter tanto amor por sua profissão, passa toda sua sabedoria da forma mais linda possível, por me inspirar a querer sempre mais e por sua ajuda em relação a qualquer coisa que eu precisasse.

A minha família por estar sempre ao meu lado em todas minhas decisões, por me apoiarem em tudo. Em especial a minha mãe que mesmo passando por problemas de saúde durante meu curso, me deu força para continuar e não deixou em nenhum momento que eu desistisse, todo meu esforço é para ela.

Ao meu marido pelo companheirismo e por ter sempre palavras lindas para me incentivar.

Finalmente aos pacientes sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

“A realização não vêm com a conquista dos objetivos traçados, mas sim no caminho percorrido até alcançá-lo.”

Prof.: Alan Henrique

RESUMO

O citomegalovírus (CMV) é um vírus altamente prevalente em todo mundo. Em pacientes transplantados, é o agente mais comum de infecção, com uma incidência variando de 20 a 60% e mortalidade podendo chegar a 90%. O aparecimento de infecções no período pós-transplante é determinado pelo perfil sorológico da dupla receptor/doador. O objetivo do trabalho foi determinar a infecção ativa pelo citomegalovírus (CMV) em pacientes transplantados renais utilizando a técnica de PCR em Tempo Real. O estudo foi do tipo transversal, retrospectivo e quantitativo onde participaram 132 pacientes submetidos a transplante renal no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) da Universidade Federal do Ceará, que realizaram a pesquisa de CMV pela técnica de PCR em tempo real, no período de janeiro a dezembro de 2012. Foi feita a análise da soroprevalência para CMV do par Doador/Receptor mostrando que a maioria dos receptores (85,6%) e seus respectivos doadores (87,9%) eram soropositivos para CMV antes da realização do transplante. Os 132 receptores foram distribuídos em quatro grupos em função da sorologia para CMV do par Doador/Receptor antes da realização dos transplantes. Grupo 1 (D+/R-), grupo 2 (D+/R+), grupo 3 (D-/R+) e grupo 4 (D-/R-). A maioria (n=99, 75%) dos 132 receptores encontra-se no Grupo 2 (D+/R+), formado por receptores soropositivos para CMV que transplantaram com Doadores soropositivos. A terapia de indução com Timoglobulina foi realizada em 77 (58,3%) e com Basiliximab em 49 (37,1%) dos 132 receptores. Em seis pacientes não foi possível determinar a terapia de indução. Episódios de rejeição foram observados em 17 (12,9%) dos 132 receptores, sendo 15 (88,2%) receptores do Grupo 2 (D+/R+) e 2 (11,8%) do Grupo 1 (D+/R-). A maioria dos receptores (62,1%) realizou diálise após o transplante. Entretanto, um maior número de pacientes em diálise foi observado no Grupo 2 (D+/R+) quando comparado com os três grupos. Cópias de DNA do CMV foram detectadas em 26 (19,7%) dos 132 receptores, com média de $567.235,00 \pm 2.231.948,00$ cópias de DNA/mL do CMV. Maior número de cópias de DNA do CMV foi encontrada no Grupo 2 (D+/R+) em relação ao Grupo 1 (D+/R-). Porém, somente 13 (50%) dos 26 pacientes apresentavam cópias de DNA do CMV com “*cut-off*” acima de 2.000, consideradas com infecção ativa pelo CMV, sendo os 2 pacientes do Grupo 1 e 11 (45,8%) dos 24 pacientes do Grupo 2. A doença citomegálica foi observada em 12 (9,1%) dos 132 pacientes avaliados, sendo 10 (83,3%) pacientes

do Grupo 2 (D+/R+) e 2 (16,7%) do Grupo 1 (D+/R-). Em conclusão os resultados deste trabalho reforçam a necessidade do monitoramento da carga viral pela PCR em tempo real em pacientes considerados de risco moderado para o desenvolvimento da doença citomegálica (grupo 2) e a adoção de terapia preemptiva naqueles com infecção ativa.

Palavras-chave: transplantes, citomegalovírus.

ABSTRACT

The cytomegalovirus (CMV) is a highly prevalent virus worldwide. On transplanted patients, it's the most common agent of infection with 20 to 60% of incidence and mortality reaching 90%. The emergence of infections in the post-transplant period is determined by serological profile of the pair donor/recipient. The study was cross-sectional, retrospective and quantitative attended 132 patients undergoing renal transplantation at University Hospital Walter Cantídio (HUWC) of the Federal University of Ceará, who carried out the research CMV by PCR in real time, from January to December 2012. The analysis was made for the prevalence of CMV pair donor / recipient showing that most receivers (85.6%) and their donors (87.9%) were seropositive for CMV before the transplant. The 132 recipients were distributed according to the serology for CMV pair of Donor / Receiver before the transplant. The majority (n = 99, 75%) of the 132 recipients is in Group 2 (D + / R +), formed by HIV-positive receptors for CMV seropositive donors that transplanted. The induction therapy Thymoglobulin was performed in 77 (58.3%) and Basiliximab in 49 (37.1%) of the 132 receptors. In six patients could not be determined induction therapy. Rejection episodes were observed in 17 (12.9%) of the 132 recipients, 15 (88.2%) in group 2 receptors (D + / R +) and 2 (11.8%) in group 1 (D + / R-). Most receivers (62.1%) performed dialysis after transplantation. However, a greater number of dialysis patients in Group 2 was observed (D + / R +) compared with the 3 groups. CMV DNA copies were detected in 26 (19.7%) of the 132 recipients, mean \pm 567,235.00 2,231,948.00 copies of DNA / mL of CMV. Increased number of CMV DNA copies was found in Group 2 (D + / R +) compared to Group 1 (D + / R-). However, only 13 (50%) of the 26 patients had CMV DNA copies with "cut-off" above 2,000, considered by the manufacturer with active CMV infection, and 2 patients in group 1 and 11 (45.8%) of the 24 patients in Group 2. CMV disease was observed in 12 (9.1%) of the 132 patients evaluated, 10 (83.3%) patients in Group 2 (D + / R +) and 2 (16.7%) in group 1 (D + / R-). Our results reinforce the need for the monitoring of viral load by real-time PCR in moderate-risk patients for the development of CMV disease (group 2) and the adoption of preemptive therapy in those with active infection.

Keywords: cytomegalovirus, transplants

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1- Estrutura do CMV/HHV5.	14
Figura 2- Replicação do HCMV/HHV5.(Disponível em: http://biografix.de/).....	16
Figura 3- Célula citomegálica “olho da coruja”.	18
Figura 4- Ausência de amplificação pela PCR em tempo real.....	26
Figura 5- Presença de amplificação pela PCR em tempo real	27
Figura 6- Distribuição dos 132 pacientes transplantados renais em função do gênero.	36
Figura 7- Soroprevalência para citomegalovírus (CMV) dos 132 receptores e seus respectivos doadores antes da realização do transplante renal.....	37
Figura 8- Análise dos 132 receptores soropositivos ou soronegativos para citomegalovírus (CMV) que transplantaram com rim de doadores soropositivos.....	37
Figura 9- Distribuição dos 132 receptores em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor antes da realização do transplante renal. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa para CMV.....	38
Figura 10- Pacientes com infecção ativa pelo CMV que desenvolveram doença citomegálica em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa para CMV.....	40
Figura 11- Distribuição dos 132 receptores em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor e da terapia de indução recebida após o transplante renal em 132 pacientes. D=Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia	41
Figura 12- Episódios de rejeição aguda ocorridos em 132 receptores transplantados renais.	42
Figura 13- Distribuição dos 132 receptores renais em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor e necessidade de realização de diálise após o transplante. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Perfil sorológico 132 pacientes transplantados renais em função do par Doador/Receptor, da profilaxia para citomegalovírus (CMV), da infecção ativa pelo CMV, do encontro de cópias de DNA do CMV e da ocorrência da doença citomegálica após o transplante.....	39
Tabela 2- Perfil sorológico para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor em função da terapia de indução, do tratamento imunossupressor, da rejeição aguda e da realização de diálise após o transplante renal em 132 pacientes.....	41
Tabela 3- Dosagem de creatinina sérica de 132 transplantados renais de acordo com o estado sorológico do par Doador/Receptor.	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

CMV: Citomegalovírus

DNA: Ácido desoxirribonucleico

FAV: Fístula Arterio-Venosa

HCMV: Citomegalovírus Humano

HLA: Antígeno Leucocitário Humano

IV: Intravenoso

IVIG: imunoglobulina humana intravenosa

MHC: Complexo Principal de Histocompatibilidade

PCR: Reação em Cadeia Polimerase

RCA: rejeição celular aguda

RMA: rejeição humoral aguda

RNA_m: Ácido ribonucleico mensageiro

SF: Soro Fisiológico

SG: Soro glicosado

TCD4: Linfócitos T auxiliar

TCD8: Linfócitos T citotóxicos

VHS-1: Vírus herpes simples tipo 1

VHS-2: Vírus herpes simples tipo 2

MY: Micofenolato sódico

MMF: Micofenolato mofetil

FK: Tacrolimos

CYA: Ciclosporina

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	13
Transplante.....	13
A descoberta do Citomegalovírus (CMV)	14
Definição.....	14
Epidemiologia.....	15
Ciclo viral do CMV.....	16
Características físico-químicas do CMV.....	17
Morfologia do CMV.....	17
Citomegalovírus e o sistema imune.....	18
Manifestações clínicas	19
Infecção congênita.....	19
Infecção perinatal.....	20
Infecção iatrogênica.....	21
Infecção em pacientes transplantados.....	21
Diagnóstico laboratorial	24
PCR em tempo real	25
Tratamento.....	23
2 – JUSTIFICATIVA	
3- OBJETIVOS:	27
3.1. GERAL.....	28
3.2. ESPECÍFICOS	28
4 – MÉTODOS	29
4.1 Tipos de estudo.....	29
4.2 População	29
4.3 Critérios de inclusão e exclusão	29
4.4 Variáveis analisadas	29
4.5 PCR em tempo real	30
4.6 Protocolo de imunossupressão e profilaxia da Unidade de Transplante Renal do HUWC.....	31
4.7 Aspectos Legais e Éticos	34
4.8 Análises Estatísticas.....	35
5- RESULTADOS	36
6- DISCUSSÃO	45
7- CONCLUSÕES	49

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
--	-----------

1- INTRODUÇÃO

Transplante

O transplante é um procedimento cirúrgico que faz parte de um dos capítulos de maior êxito na história da medicina. Inicialmente considerado um procedimento arriscado, realizado apenas em pacientes com doença renal grave, evoluiu para uma intervenção terapêutica eficaz em pacientes com doenças terminais do coração, fígado e pulmão (ZHANG *et al.*, 2012).

A principal característica do transplante, que o distingue de outras cirurgias, é a necessidade da utilização de um órgão proveniente de um doador vivo, parente ou não, ou de um doador em morte encefálica (ZHANG *et al.*, 2012).

A remoção *post mortem* de órgãos destinados a transplante deverá ser precedida do diagnóstico de morte encefálica, e a doação dependerá da autorização do cônjuge ou de um parente maior de idade, obedecendo à linha sucessória, reta ou colateral, até o segundo grau de parentesco (LINARES *et al.*, 2011). Devido à possibilidade de rejeição do enxerto, os transplantadores têm o desafio diário de encontrar um equilíbrio nos esquemas de terapia com imunossupressão, de forma que estes não sejam excessivos, a ponto de produzir infecções oportunistas ou neoplasias, nem tão pouco leves o suficiente para permitir a rejeição do órgão. Apesar da utilização dos imunossupressores terem aumentado a sobrevida dos transplantes, os mesmos influenciaram os mecanismos de defesa dos pacientes, com consequente aumento da suscetibilidade às diversas infecções oportunistas, sejam elas de origem bacteriana, fúngica ou viral (HADAYA *et al.*, 2003).

O citomegalovírus (CMV) é um dos principais agentes infecciosos que acometem pacientes transplantados e a sua incidência vem aumentando nos últimos anos devido ao uso de imunossupressores mais potentes, como o Tacrolimus e o Micofenolato Mofetil ou Sódico (RHEE *et al.*, 2011). Na maioria dos indivíduos o CMV produz infecções primárias, que são frequentemente subclínicas, mas o vírus pode permanecer por longos períodos em estado de latência e ser reativado, particularmente em situações de redução da vigilância imunológica, como nos transplantes de órgãos (SINCLAIR *et al.*, 2006).

Acredita-se que o próprio órgão transplantado seja o principal veículo de infecção primária pelo CMV em receptores CMV negativos (KANTER *et al.*, 2009; CORDERO *et al.*, 2012).

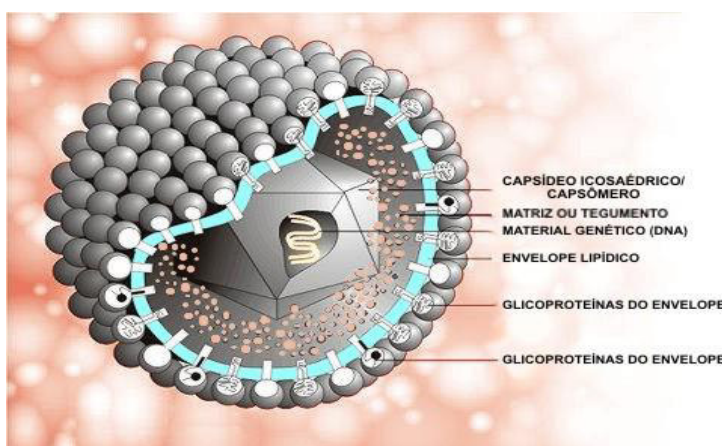
A descoberta do Citomegalovírus (CMV)

O CMV foi isolado pela primeira vez a partir da cultura de células da glândula salivar de ratos, por SMITH, em 1954 (VAN *et al.*, 1989). Entretanto, a primeira descrição do vírus foi feita no início do século por Josionek e Kiolemenoglou, que encontraram células citomegálicas em autópsias de crianças. Posteriormente, foi reconhecido como importante patógeno em todos os grupos etários pela peculiar citopatologia produzida (THOMAS *et al.*, 1991).

Definição

O CMV é um vírus do tipo DNA, pertencente à família dos herpes vírus, constituída por mais de 25 tipos, que inclui o vírus do herpes simplex tipo 1 e 2 (VHS-1 e VHS-2), vírus da varicella-zoster e o vírus Epstein-Baar. A estrutura do CMV é formada por uma dupla hélice de DNA, revestida por uma capa proteica coberta por um envelope (**Figura 1**). O capsídeo proteico que envolve a hélice de DNA tem simetria icosaédrica, composto por 162 capsômeros, dispostos de forma ordenada, que apresentam uma simetria axial. O CMV é o maior vírus da família do herpes humano, com aproximadamente 200 nanômetros de diâmetro (AHMED, 2014; ROWSHANI *et al.*, 2005).

Figura 1- Estrutura do CMV/HHV5.



Fonte: Andrade, 2009.

Transmissão

O CMV pode ser eliminado através da urina, sêmen, saliva, leite materno e secreções cervicais, sendo transportado nos leucócitos circulantes. Pode também ser propagado por via transplacentária, por meio de transfusões de sangue, transplante de órgãos e contato sexual (SINCLAIR *et al.*, 2006; GAMEZ *et al.*, 2014).

Quando um indivíduo introduz o vírus em casa, aproximadamente 50% dos moradores apresentarão soro conversão num prazo médio de seis meses (COUTO *et al.*, 2003). A infecção primária pelo CMV pode ocorrer no período pré-natal, perinatal ou pós-natal, tanto por vias naturais quanto por via iatrogênica (SINCLAIR *et al.*, 2006).

O CMV também está associado com a transmissão através de transplante de órgãos. A maioria das infecções primárias por CMV, em receptores de transplantes de órgãos, resulta da transmissão do vírus pelo próprio enxerto. Em receptores de transplantes CMV soropositivos, a infecção resulta da reativação do vírus latente ou, com menor frequência, de reinfeção por uma nova cepa de CMV (ROWSHANI *et al.*, 2005; CUNHA-BANG *et al.*, 2011).

Epidemiologia

A infecção pelo CMV ocorre praticamente em todas as regiões do mundo, sendo inversamente proporcional ao *status* socioeconômico da população (AHMED *et al.*, 2014). Isso permite que dentro de uma mesma região haja grandes variações de prevalência. Nos EUA, por exemplo, foi mostrado que nas áreas socioeconomicamente superiores, 60% das gestantes tinham anticorpos anti-CMV, enquanto que, em áreas socioeconomicamente inferiores, a prevalência aumentava para 85% das gestantes. Essa variação de prevalência se deve, em grande parte, a higiene, moradia e hábitos da população, já que o CMV é encontrado em praticamente todos os líquidos corporais (GOLDMAN *et al.*, 2005).

No Brasil, os dados epidemiológicos de infecção por CMV disponíveis são restritos à algumas áreas. Estudos usando soros coletados de pessoas saudáveis de diferentes grupos etários em São Paulo, testados para anticorpos anti-CMV, mostraram 60% de soroprevalência em crianças de 0 a 4 anos de idade, com um

Fonte: Disponível em: [htt://biografix p.de/](http://biografix.p.de/)

Recentemente, alguns autores relataram que as partículas de CMV não contêm somente o DNA, mas também quatro tipos de RNAm. Os quatro RNAm estão provavelmente localizados no tegumento viral, que é uma capa de proteína entre o capsídeo e o envelope (ROIZMAN *et al.*, 2000).

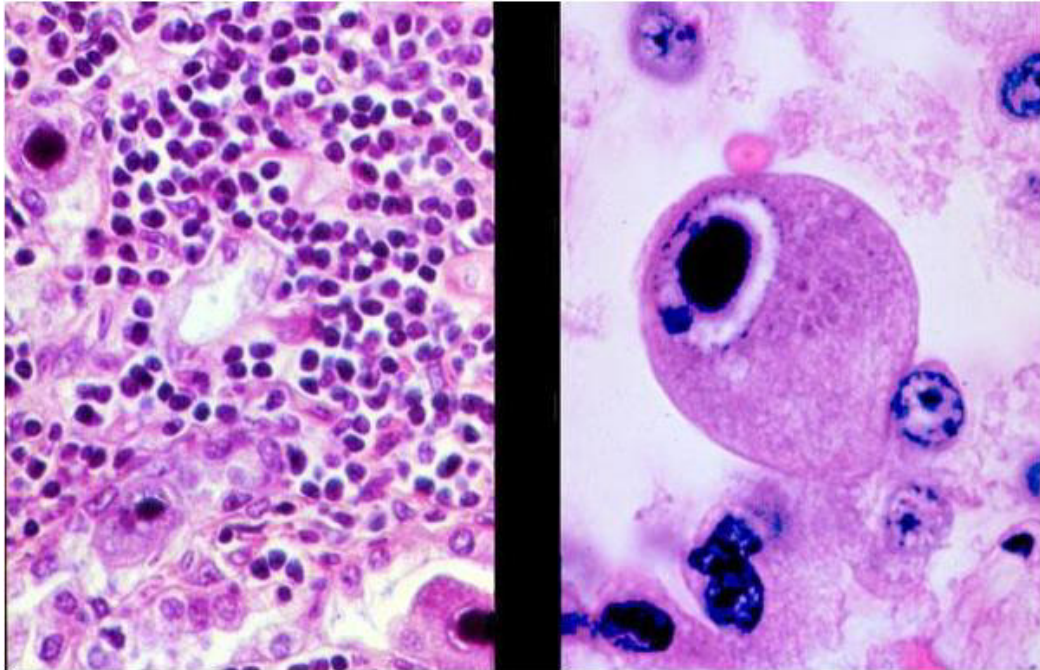
Características físico-químicas do CMV

O CMV é termolábel, sua vida média, em temperatura de 37°C, é de apenas 45 minutos (PANUTTI, 1984). Pode ser destruído rapidamente pelo calor a 37°C por uma hora ou 56°C por 30 minutos, em pH abaixo de 5,0, com éter a 20% por duas horas, com luz ultravioleta por 5 minutos e em ciclos de congelamento e descongelamento (COSTA, 1999).

Morfologia do CMV

As células infectadas têm um aumento característico que pode ser apreciado histologicamente. *In vivo*, são 2 a 4 vezes maiores do que as células circundantes e, com frequência, contêm uma inclusão intranuclear de 8 a 10 μm . As inclusões basófilas intracelulares proeminentes, que transpõem metade do diâmetro nuclear, geralmente se separam daquelas da membrana nuclear por uma auréola clara, produzindo um aspecto de “olho de coruja” (**Figura 3**). Dentro do citoplasma dessas células, pequenas inclusões basófilas podem ser vistas. Podem estar infectadas as células epiteliais parenquimatosas dos órgãos glandulares, os neurônios, os macrófagos alveolares, as células epiteliais, incluindo os epitélios tubulares e glomerulares dos rins, e as células endoteliais (MATOS *et al.*, 2010).

Figura 3- Célula citomegálica “olho da coruja”.



Fonte: Disponível em: <http://biografix.p.de/>

Citomegalovírus e o sistema imune

A ativação do vírus e sua replicação geralmente decorrem da diminuição da imunidade mediada por células. Portanto, as formas clinicamente significativas relacionadas ao CMV, exceto no período neonatal, resultam do comportamento do vírus como um invasor oportunista em indivíduos imunocomprometidos, levando a reativação viral. A infecção primária pelo CMV estimula a resposta humoral e celular no hospedeiro, mediadas pelos linfócitos B e linfócitos T (T auxiliares - TCD4+) e T citotóxicos - TCD8+), respectivamente. O primeiro contato com o vírus leva à resposta humoral, com produção de anticorpos das classes IgM e IgG específicos, sendo que o anticorpo IgG pode permanecer positivo ao longo da vida, e sua presença indica contato prévio com o vírus, e não doença citomegálica ativa (ROWSHANI *et al.*, 2005; GAMEZ *et al.*, 2014).

A resposta celular, principal fator limitador da infecção, é mediada por linfócitos T citotóxicos (TCD8+), ativação de células *natural killer* (células NK) e ativação da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC). Os anticorpos IgG, neutralizantes específicos, são produzidos e, além de desempenhar papel na

redução da disseminação viral, sua principal função provavelmente é de ativar a imunidade mediada por células dependente de anticorpos, pela combinação destes com o receptor Fc nas células efectoras (CANNON *et al.*, 2005; JAIN *et al.*, 2011).

Inversão da relação de célula TCD4 / TCD8 tem sido descrita em pacientes transplantados durante e após a infecção pelo CMV, sendo considerado um fator que aumenta a imunossupressão e favorece o desenvolvimento de outras infecções oportunistas nestes pacientes, especialmente o *Pneumocystis jirovecii* (ROWSHANI *et al.*, 2005; AHMED, 2014). O CMV também possui várias estratégias para escapar do sistema imune, evitar sua eliminação e permanecer latente. Em indivíduos imunocompetentes, ele inibe a expressão dos antígenos de classe I do MHC (complexo principal de histocompatibilidade) nas células infectadas e impede a apresentação dos peptídeos virais pelos macrófagos via MHC de classe II (JAIN *et al.*, 2011; AHMED, 2014).

Manifestações clínicas

A doença pelo CMV pode ser classificada como leve, moderada ou grave, dependendo da gravidade das manifestações clínicas. A apresentação clínica na doença leve pode incluir sintomas gripais, como febre, astenia, artralgia e mialgia. Nas formas graves, o comprometimento de órgãos-alvo pode ser manifestado por elevação das enzimas hepáticas e fosfatase alcalina, ulcerações de todo o trato gastrointestinal, gastrite, pancreatite, hepatite granulomatosa, hepatite autoimune, alterações psiquiátricas e coriorretinite (ROWSHANI *et al.*, 2005; JAIN *et al.*, 2011; CORDERO *et al.*, 2012).

Infecção congênita

O CMV é reconhecido atualmente como o agente mais comum de infecção congênita no homem, com prevalência de 0,2 a 3% de todos os nascimentos, sendo maior em populações em que a soropositividade materna é elevada (AGUADO *et al.*, 2012).

Apesar da grande maioria das infecções congênitas por CMV ser assintomática ao nascimento, cerca de 10% das crianças infectadas apresentam sintomas; destas 20 a 30% apresentam quadros graves, necessitando de cuidados

intensivos no período neonatal. Cerca de 90% daqueles que sobreviverem poderão ter sequelas ao longo da vida, principalmente deficiência auditiva e neurológica. Mesmo entre os assintomáticos, 5 a 17% irão desenvolver sequelas significativas, geralmente nos primeiros dois anos de vida, que incluem retardo do desenvolvimento neuropsicomotor, crises convulsivas, déficit auditivo uni ou bilateral e comprometimento ocular decorrente de coriorretinite (SIA *et al.*, 2000; BUONSENSO *et al.*, 2012).

A infecção da placenta, por via hematogênica ou de forma ascendente a partir do trato genital, precede a infecção do embrião ou do feto. Entretanto, nem todos os casos de infecção placentária resultam na infecção do feto (VAZ *et al.*, 2007).

Na infecção congênita as evidências clínicas mais comuns consistem em petéquias, hepatoesplenomegalia e icterícia. Observa-se também a ocorrência de microcefalia com ou sem calcificação intercerebral, retardo do crescimento fetal e prematuridade em 30 a 50% dos casos. As mães de quase todos os lactentes que apresentaram estes defeitos congênitos tiveram infecções primárias durante a gravidez. A infecção no feto ocorre através da passagem do vírus pelo sangue materno (infecção primária) ou pelo colo do útero (MURRAY *et al.*, 2006; BUONSENSO *et al.*, 2012).

O reconhecimento precoce de crianças com infecção congênita sintomática permite intervenção terapêutica nos casos graves, pois existem evidências atuais do benefício da administração de drogas antivirais em crianças com envolvimento multissistêmico, particularmente do sistema nervoso central (MURRAY *et al.*, 2006). Por outro lado, a detecção das crianças assintomáticas pode identificar aquelas com risco de desenvolver sequelas futuras, uma vez que o comprometimento auditivo e/ou neurológico pode não ser identificado ao nascimento (ZAIA *et al.*, 1999; BUONSENSO *et al.*, 2012).

Infecção perinatal

O CMV pode infectar o recém-nascido durante o trabalho de parto ou nas primeiras semanas de vida. Além disso, a transmissão pode ocorrer também por transfusão materno-fetal, pela ascensão de microrganismos na cavidade amniótica e acometimento das membranas amnióticas, do cordão umbilical e da placenta; ou, ainda, pelo contato da pele e mucosas gástrica e/ou ocular do recém-nascido com

sangue e secreções genitais maternas que contenham microrganismos se replicando (MADI *et al.*, 2007).

Cerca de 20% das gestantes abrigam o CMV na cérvix uterina e, provavelmente, apresentam reativação viral durante a gravidez. Metade dos neonatos nascidos de parto normal de mães com cérvix infectada adquire infecção pelo CMV e torna-se excretor do vírus em 3 a 4 semanas. Podem também adquirir o CMV por meio do leite materno ou colostro materno. Cerca de 40 a 60% dos lactentes amamentados por mães soropositivas durante mais de trinta dias tornam-se infectados. Além destas formas, eles podem adquirir a infecção pela transfusão sanguínea, causando infecção clínica em prematuros (MURRAY *et al.*, 2006).

Infecção iatrogênica

Este tipo de transmissão ocorre por meio de transfusão sanguínea ou de transplante de órgãos e só é possível devido à capacidade do vírus de permanecer latente, podendo ser reativado posteriormente (LOPO *et al.*, 2011; AHMED, 2014).

Sugere-se que a transmissão pela transfusão sanguínea seja proporcional ao número de unidades transfundidas, sendo estimado ser de 5 a 12% por unidade. Pelo fato do CMV estar associado a leucócitos, somado ao fato de que doadores soropositivos aumentam muito a chance de infecção no receptor, na década de 1970 recomendou-se o uso de sangue destituído de leucócitos como forma de prevenção. (JUNQUEIRA *et al.*, 2008).

Infecção em pacientes transplantados

O CMV é uma das infecções mais frequentes no pós-transplante de órgãos e tecidos. Estima-se que entre 50 a 100% dos receptores de enxerto renal soropositivos excretem o CMV após o transplante. Embora a grande maioria dos pacientes não apresente evidências de doença em órgão-alvo associados ao CMV, esse vírus é uma causa importante de doença em receptores de transplante cardíaco, de coração-pulmão, de rim, de fígado e de medula óssea (GOLDMAN *et al.*, 2005; CORDERO *et al.*, 2012).

A doença relacionada ao CMV em transplantados manifesta-se de maneira diferente, dependendo do órgão transplantado. A apresentação da “síndrome do CMV”, que consiste em febre, leucopenia, linfócitos atípicos, hepatomegalia, mialgia e artalgia, é a manifestação mais comum da infecção primária por CMV em pacientes que receberam transplante de rim (TAYLOR, 2003; GAMEZ *et al.*, 2014).

O risco de ocorrência de infecção pelo CMV em pacientes transplantados sofre influência de inúmeros fatores, entre eles destacam-se:

- O tipo de órgão transplantado: pulmão e transplante duplo de coração-pulmão tem alta frequência de infecção, seguido de fígado, pâncreas e rim.
- A sorologia do doador (D) e receptor (R) antes do transplante, havendo quatro combinações possíveis:
 - Doador negativo/Receptor negativo (**D-/R-**);
 - Doador negativo/Receptor positivo (**D-/R+**),
 - Doador positivo/Receptor positivo (**D+/R+**),
 - Doador positivo/Receptor negativo (**D+/R-**).

Na combinação **D+/R-**, que corresponde a 20% de todos os órgãos transplantados, há um grande risco (50 a 70%) de desenvolvimento de infecção pelo CMV, já que o receptor vai entrar em contato pela primeira vez com o vírus do doador. Já as combinações **D+/R+** e **D-/R+** somam aproximadamente 70% de todos os rins e fígados transplantados, tendo 10 a 20% de chance de infecção (KANTER *et al.*, 2009; KUO *et al.*, 2010; CORDERO *et al.*, 2012).

As possibilidades para recombinações moleculares do vírus são inúmeras e não é difícil compreender por que a taxa de citomegalovirose é tão elevada. Isto ocorre principalmente nos pacientes soronegativos (**R-**) para CMV, que recebem órgãos de doadores soropositivos (**D+**), pacientes submetidos à terapêutica que inclui anti-OKT3, atualmente trocada pela imunoglobulina anti-timócitos, ou quando o esquema de imunossupressão inclui Micofenolato Mofetil. Em todas essas circunstâncias, a chance de ocorrência de citomegalovirose é expressivamente aumentada (GRANATO, 2001; KUO *et al.*, 2010).

A infecção por CMV está associada à disfunção do enxerto e se correlaciona com maior número de episódios de rejeição aguda e maior risco de desenvolvimento de rejeição crônica em longo prazo, exercendo importante efeito na sobrevivência dos enxertos e dos pacientes transplantados renais. Sugere-se que a presença do vírus seja um fator de risco independente para rejeição. Entretanto, existe grande controvérsia se a simples presença do vírus pode causar lesão renal e/ou alterações na função do enxerto. A deterioração da função renal ocorre imediatamente antes da presença de anticorpos detectáveis na circulação, provavelmente ocasionado por dano capilar mediado por imunocomplexos, na ausência de achados sugestivos de rejeição celular, sugerindo um efeito do vírus sobre a função renal (KUO *et al.*, 2010; GATAULT *et al.*, 2013).

Nos receptores de transplantes de órgãos sólidos, o CMV induz inúmeras síndromes, incluindo febre, leucopenia, hepatite, pneumonia, esofagite, gastrite, colite e retinite. O período de risco máximo situa-se entre 1 a 4 meses após o transplante, embora a retinite possa constituir uma complicação tardia. Há tendência do transplante de fígado ser acompanhado de hepatite e o transplante de pulmão de pneumonite (CUNHA-BANG *et al.*, 2011; AHMED, 2014).

Tratamento

Atualmente, o tratamento profilático dos pacientes se inicia na ausência de vírus detectável ou doença, visando prevenir a reativação da infecção por CMV em pacientes com risco elevado de desenvolvimento de doença. As desvantagens do tratamento profilático são o alto custo e os efeitos adversos. Por outro lado, o tratamento precoce, baseado em marcadores virológicos, como a antigenemia e a PCR em tempo real, é iniciado imediatamente após a detecção do CMV no plasma e antes da manifestação clínica da doença. Esse tipo de tratamento diminui os efeitos adversos da medicação, reduz o risco de resistência da cepa viral às drogas antivirais e a sua utilização minimiza o custo do tratamento (SILVA *et al.*, 2007).

Quando a doença citomegálica se manifesta, a terapia com agentes antivirais administrados intravenosamente se caracteriza por duas fases: 1) fase de indução, na qual altas doses administradas reduzem rapidamente a replicação viral e, 2) fase

de manutenção, durante a qual baixas doses de medicação previnem a reativação e progressão da doença (NICHOLS, BOECKH, 2000).

De maneira geral, a toxicidade da droga e o risco de desenvolvimento de doença pelo CMV são os fatores observados na escolha da estratégia clínica a ser adotada (SILVA *et al.*, 2007).

Usualmente, agentes antivirais inibidores da DNA polimerase são utilizados no tratamento da doença pelo CMV, sendo eles o Ganciclovir, Foscarnet e Cidofovir. Contudo, estes medicamentos, embora inibam a replicação viral, apresentam toxicidade e requerem administração intravenosa para obtenção de níveis de droga terapêuticos, limitando o tempo de sua administração. O Valganciclovir é uma opção terapêutica que pode ser usada por via oral (CUNHA *et al.*, 2002; KUO *et al.*, 2010).

Em transplantados de órgãos sólidos, o Ganciclovir é o agente escolhido para o tratamento da doença citomegálica, administrado por intravenosa na dosagem de 5mg/Kg a cada 12 horas, em pacientes com função renal normal, com monitoramento dos parâmetros hematológicos e da função renal do paciente. Efeitos adversos ao Ganciclovir podem ocorrer e incluem leucopenia, trombocitopenia, anemia, eosinofilia, hipoplasia de medula óssea, hemólise, náusea, diarreia, toxicidade renal, convulsão, alteração no estado mental e disfunção hepatocelular (SIA *et al.*, 2000; ROWSSHANI *et al.*, 2005; GAMEZ *et al.*, 2014).

Diagnóstico laboratorial

Vários métodos sorológicos podem ser utilizados para o diagnóstico da infecção pelo CMV, tais como a imunofluorescência indireta, ELISA e raioimunoensaio, que detectam a presença de IgM ou IgG. O método de ELISA apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 86%, porém existe a possibilidade de resultados falso-positivos devido às reações cruzadas com alguns vírus da família Herpesviridae, fatores reumatóides e anticorpos antinucleares. Devido a importância de se diferenciar a infecção primária da reinfecção ou reativação pelo CMV em pacientes transplantados, essas técnicas sorológicas não são úteis nesta população de pacientes (JAHAN, 2010).

Atualmente recomenda-se a utilização de técnicas rápidas, sensíveis e específicas para o diagnóstico, tais como a antigenemia, que pesquisa os antígenos do CMV em neutrófilos circulantes e a reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite a detecção do DNA viral (DELMONICO, 2000; JAHAN, 2010; BOARETTI *et al.*; 2013).

PCR em tempo real

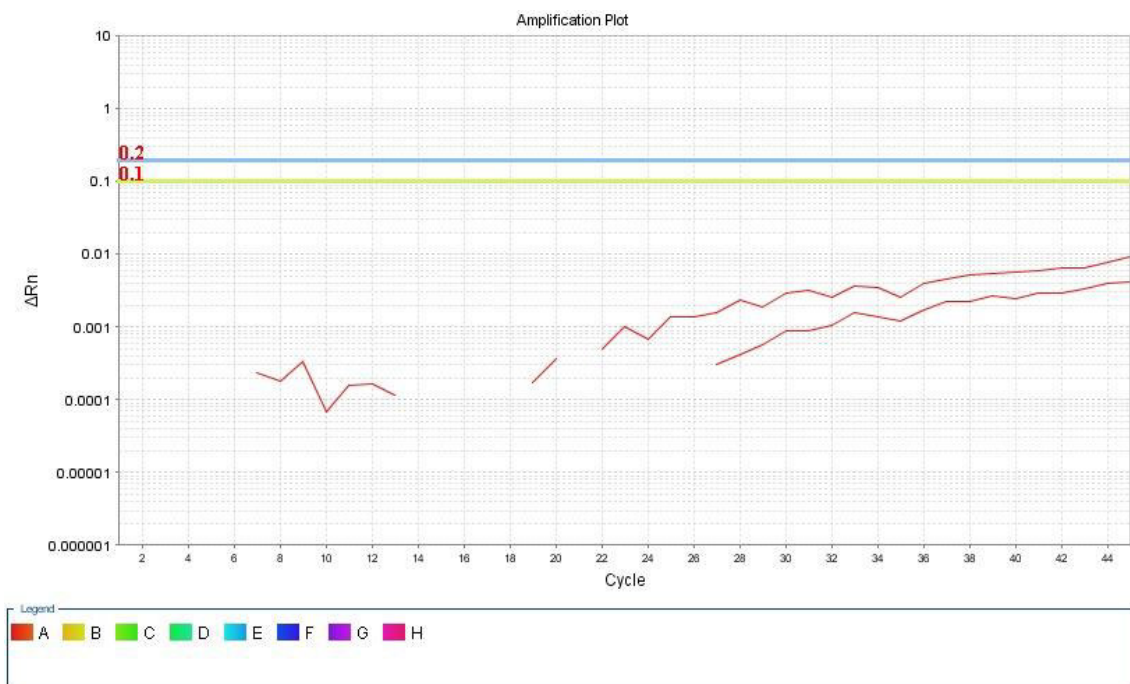
A técnica PCR (Polymerase Chain Reaction ou Reação em cadeia da Polimerase) consiste basicamente na amplificação “in vitro” de uma região específica de DNA com intuito de aumentar o seu número de cópias, a fim de produzir material suficiente para as diversas análises. A PCR é muito utilizada em laboratórios de pesquisas médicas e biológicas com diversas finalidades, como: sequenciamento de genes, diagnóstico de doenças hereditárias, medicina forense e detecção e diagnóstico de doenças infecciosas.

A PCR em tempo real ou qPCR foi desenvolvida em 2003 e é uma técnica na qual utiliza-se além dos primers, conhecidos como iniciadores de amplificação, as sondas marcadas, possibilitando a quantificação do alvo a ser estudado. Essa nova metodologia tem papel fundamental no monitoramento pós-transplante de infecções pelos vírus CMV e BK. O diagnóstico da presença do DNA viral pode ser qualitativo ou pode-se quantificar a carga viral, que é proporcional ao nível de DNA do CMV ou do BK vírus.

O método utiliza um sistema fluorescente em plataforma capaz de detectar a luz oriunda da reação de amplificação. Os compostos fluorescentes mais utilizados são o Syber Green e TaqMan. O Syber Green se liga entre a fita dupla de DNA e com a excitação da luz emitida pelo sistema ótico do termociclador, emite uma fluorescência verde. As vantagens da utilização do Syber Green são o baixo custo, facilidade no uso e sensibilidade. A desvantagem é a ligação em todo o DNA de fita dupla que surge durante a reação, incluindo os dímeros dos iniciadores e outros produtos inespecíficos, podendo superestimar a concentração do fragmento alvo. O Syber Green não ligado ao DNA exibe uma fluorescência muito pequena. Entretanto, a fluorescência é realçada quando ligado na fita dupla do DNA. (MIURA *et al.*, 2006; AMARAL *et al.*, 2008; JAHAN, 2010; MARTIN-GANDUL *et al.*, 2013).

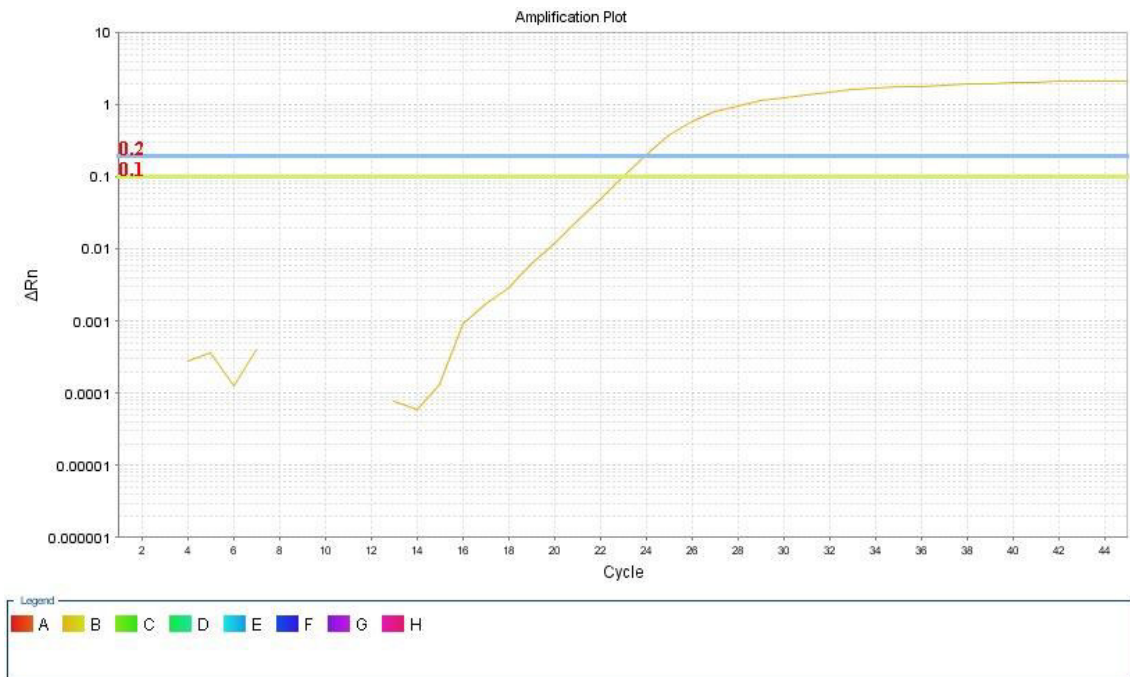
O TaqMan é uma sonda (fragmento de DNA marcado usado para hibridizar outra molécula de DNA). Essas sondas específicas para o segmento gênico, cuja expressão se deseja estudar, apresentam uma substância (fluoróforo na posição 5' da sonda), capaz de absorver a energia luminosa emitida pelo equipamento e dissipá-la na forma de luz e calor, em comprimento de onda diferente do original. Entretanto, na sua posição nativa, toda luz emitida por esse fluoróforo é absorvida por substâncias (*quencher*) presentes na extremidade 3' da sonda. Se a reação for capaz de gerar produtos (amplicons), a sonda irá hibridizar-se com esse alvo gerado e ficará exposta à atividade de exonuclease da polimerase. Como consequência, essa sonda será degradada e o fluoróforo ficará distante do *quencher*, que agora não mais será capaz de absorver a luz emitida. A fluorescência, eventualmente produzida pela amostra, é detectada pelo sistema e o momento da reação de PCR, em que a fluorescência de determinada amostra é detectada inequivocamente acima do ruído de fundo (background), é comumente chamada de CT ou CP. As **Figuras 4 e 5** mostram ausência de amplificação (resultado negativo) e presença de amplificação (resultado positivo), respectivamente. A emissão da luz é proporcional à quantidade de produto gerado no tubo de reação (MIURA *et al.*, 2006; AMARAL *et al.*, 2008; JAHAN, 2010; MARTIN-GANDUL *et al.*, 2013).

Figura 4- Ausência de amplificação pela PCR em tempo real.



Fonte: Software StepOndePlus

Figura 5- Presença de amplificação pela PCR em tempo real



Fonte: Software StepOndePlus

2- JUSTIFICATIVA

A infecção pelo CMV é a maior causa de morbidade e mortalidade em receptores de transplantes de órgãos, associada com uma diminuição da taxa de sobrevida do enxerto. Um estudo realizado em 2012 em nosso Serviço mostrou que 81,2% dos doadores de órgãos em morte encefálica do Ceará eram soropositivos para CMV. Como consequência, 80,8% dos transplantes de rins, 82% dos transplantes de fígado e 80,9% dos transplantes de coração foram realizados com órgãos oriundos desses doadores de órgãos soropositivos. Este estudo mostrou o risco de um paciente CMV negativo de contrair infecção primária pelo CMV ou desenvolver doença citomegálica ao se submeter a um transplante com órgãos de doadores sabidamente CMV positivo (RIBEIRO *et al.*, 2012).

Atualmente, no HUWC, a profilaxia do CMV, quando indicada, é realizada com Ganciclovir® durante a internação ou Valganciclovir® até completar 100 dias de transplante nos pacientes com sorologia positiva e 200 dias naqueles com sorologia

negativa para CMV. A dose de Valganciclovir® é de 900mg por dia (2 comprimidos), ajustada para a função renal. Em geral, os Serviços de Transplantes que monitoram a carga viral do CMV dos pacientes no pós-transplante somente realizam o tratamento da infecção do CMV ou a terapia preemptiva dos pacientes que estão com a infecção ativa do CMV, evidenciada pela presença de carga viral pela PCR em tempo real. Havendo, portanto, redução significativa no uso e gastos com Ganciclovir® e Valganciclovir®. Em geral, a terapia preemptiva além de representar importante economia para os cofres públicos diminui o risco de eventos adversos da profilaxia, sendo o mais importante a leucopenia quando usado associado ao Micofenolato Sódico ou Micofenolato Mofetil, e reduz do risco de indução de resistência do CMV a este medicamento (HELLEMANS et al., 2012).

3 - OBJETIVOS:

3.1. GERAL

- Determinar a infecção ativa pelo citomegalovírus (CMV) em pacientes transplantados renais utilizando a técnica de PCR em Tempo Real.

3.2. ESPECÍFICOS

- Determinar a soroprevalência do CMV do par Doador/Receptor antes da realização do transplante.
- Determinar o número de Receptores que transplantaram com rim de Doadores soropositivos.
- Determinar o número de cópias de DNA do CMV nos Receptores após a realização do transplante em função do par Doador/Receptor.
- Determinar a ocorrência de doença citomegálica em função do par Doador/Receptor.
- Avaliar a terapia de indução e imunossupressão em função do par Doador/Receptor.
- Avaliar a ocorrência de rejeição aguda, a realização de diálise e a função renal em função do par Doador/Receptor.

4 – MÉTODOS

4.1 Tipos de estudo

Trata-se de um estudo transversal, retrospectivo e quantitativo onde participaram pacientes submetidos a transplante renal, que realizaram a pesquisa de CMV pela técnica de PCR em tempo real, no período de janeiro a dezembro de 2012.

4.2 População

Participaram do estudo 132 pacientes com insuficiência renal crônica que foram transplantados no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), com rim oriundo de doadores falecidos com diagnóstico de morte encefálica.

Os 132 pacientes foram divididos em 4 grupos em função da sorologia para CMV do par Doador/Receptor antes da realização do transplante. A sorologia dos doadores e receptores foram feitas no Lagem:

Grupo 1: D+/R- (doador positivo/receptor negativo);

Grupo 2: D+/R+ (doador positivo/receptor positivo);

Grupo 3: D-/R+ (doador negativo/receptor positivo);

Grupo 4: D-/R- (doador negativo/receptor negativo).

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

Participaram do estudo pacientes transplantados com ou sem sintomas de infecção ativa pelo CMV no momento da coleta de amostra de sangue.

Foram excluídos do estudo pacientes que apresentaram dados incompletos junto aos registros do Ambulatório do Serviço de Transplante Renal do HUWC.

4.4 Variáveis analisadas

As seguintes variáveis foram coletadas e analisadas dos 132 pacientes:

- Idade e sexo;
- Resultado da sorologia para CMV do par Doador/Receptor antes da realização do transplante;
- Tipo de terapia de indução;
- Terapia imunossupressora;

- Episódio de Rejeição aguda;
- Realização de diálise após o transplante;
- Uso de profilaxia para CMV após o transplante;
- Cópias de DNA para CMV detectadas pela PCR em tempo real;
- Ocorrência de doença citomegálica;
- Creatinina: 7º dia, 15º dia, 1º a 6º mês pós-transplante.

4.5 PCR em tempo real

Amostras de sangue foram coletadas em frascos contendo EDTA dos 132 pacientes e encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Pesquisas em Doenças Hepato-Renais para a realização da PCR em tempo real.

Um total de 374 amostras de sangue foram coletadas, onde a média de amostras de sangue avaliadas pela PCR em tempo real foi de 3 ± 2 amostras, com variação de 1 a 10 amostras por paciente. As amostras foram coletadas a critério do médico.

Extração do DNA

O DNA do CMV a ser amplificado pela PCR em tempo real foi extraído usando o Kit da Biopur (Biometrix®). É uma extração e purificação manual simples, rápida e eficiente de DNA genômico de volume máximo de 200ul de sangue humano fresco ou congelado com anticoagulante comum (EDTA, citrato) ou soro. A metodologia abrange as seguintes etapas:

- Lise da amostra;
- Ligação do DNA genômico à membrana do filtro SPIN;
- Lavagem da membrana e eliminação do etanol;
- Eluição do DNA genômico.

PCR em Tempo Real

A PCR em tempo real foi realizada utilizando o *Kit Real-Time Q-CMV* (Nanogen®).

O Kit possui os seguintes reagentes: **AmpliMASTER**: contendo tampão, cloreto de magnésio, DNTP'S (nucleotídeo trifosfato), fluorocromo ROX de referência

passiva para normalização da fluorescência, enzima uracil-N-glicosidase (UNG) para inativação do produto de amplificação contaminante e a enzima Taq DNA polimerase (hot start). **CMV AmpliMIX**: contendo 2 pares de primers (alvo e controle interno). **CMV AmpliPROBE**: contendo 2 sondas fluorescentes marcada com FAM/MGB-NFQ (ALVO) e com VIC/MGB-NFQ (CONTROLE INTERNO). **AmpliSTANDART**: contendo 4 padrões em diferentes diluições: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 . **CPE**: DNA contendo solução de plasmídeo para controle interno de inibição.

Os resultados foram expressos como cópias de CMV por mililitro de sangue total. As amostras de sangue foram consideradas positivas quando apresentaram ≥ 100 cópias de CMV/mL. Porém, os pacientes foram considerados com infecção ativa pelo CMV quando apresentavam ≥ 2.000 cópias CMV/mL, conforme “*cut-off*” determinado pelo fabricante. A análise e interpretação dos resultados foi realizada utilizando-se o equipamento da Biosystems®, o StepOnePlus - Real-Time PCR System.

4.6 Protocolo de imunossupressão e profilaxia da Unidade de Transplante Renal do HUWC

PROTOCOLO DE INDUÇÃO

a) Basiliximab: ampola de 20mg

Dose: 20mg diluído em 100 ml de SF 0,9% (soro fisiológico) em 30 minutos, IV (intravenoso), imediatamente antes do transplante e no 4º dia de transplante.

A indução com Basiliximab foi utilizada somente em transplantes com doador falecido de baixo risco imunológico.

b) Timoglobulina: frasco-ampola de 25mg

Dose: 1,5mg/kg/dose no máximo de 150mg, no total de 4 doses, em dias alternados, diluído em 500mL SF 0,9% ou SG5% e administrada por via IV, em vaso profundo ou fistula arteriovenosa, em 6 horas. Foi realizada pré-medicação com Paracetamol 500mg, Prometazina 50mg e 30mg de corticoide. A dose foi reajustada de acordo com ocorrência de leucopenia e plaquetopenia.

A Timoglobulina foi utilizada nos seguintes grupos: pacientes de alto risco imunológico, esquema de imunossupressão de manutenção sem corticoide ou que utilizaram doadores de alto risco.

Os pacientes considerados de alto risco imunológico são:

- Pacientes que apresentam PRA (painel de reatividade de anticorpos) > 20 - 30% antes do transplante no último soro coletado, chamado PRA atual;
- Pacientes que apresentam PRA > 50% em soros anteriores ao atual, chamado PRA histórico;
- Pacientes, candidatos ao 2º transplante, sendo o primeiro transplante perdido por causa imunológica nos primeiros 2 anos;
- Pacientes, candidatos, ao 3º ou 4º transplante, independente do grau de sensibilização aos antígenos do Sistema HLA;
- Raça negra;
- Transplante renal com doador falecido sem uso de corticoide (indicação do protocolo).

Os doadores de órgãos considerados de alto risco são:

- Doadores com critérios expandidos de doação (quanto à função);
- Doadores após a parada cardíaca;
- Tempo de isquemia fria > 24 horas;
- Idade do doador > 50 anos;
- Doador com necrose tubular aguda;
- Doador com suporte inotrópico em elevadas doses;
- Função retardada do enxerto com doadores limítrofes ou comprometidos.

PROTOCOLO DE MANUTENÇÃO:

O esquema padrão de imunossupressão de manutenção para pacientes transplantados com rim de doador com morte encefálica compreende a associação de um inibidor da calcineurina (Tacrolimus ou Ciclosporina A) com antiproliferativo (Micofenolato Sódico ou Micofenolato Mofetil) e corticoide, sendo que a associação mais recentemente adotada tem sido a de Tacrolimus, Micofenolato Sódico com ou

sem Prednisona. Esquema duplo, sem corticoide, foi utilizado em pacientes com diabetes mellitus, doença coronariana, dislipidemia, obesidade e hepatopatias pelo vírus B ou C.

As dosagens de cada imunossupressor utilizadas são:

Corticoide: Metilprednisolona 500mg diluído em 500mL SF 0,9% IV em 1 hora, administrado no pré-operatório, 250mg no primeiro dia pós-operatório (PO) e Prednisona 20mg/dia por via oral a partir do 2° PO, com redução da dose até 5mg/dia no 43° PO.

Metilprednisolona: frasco-ampolas de 125mg e 500mg

Prednisona: comprimidos de 5mg, 20mg

Micofenolato sódico: comprimidos de 180mg e 360mg

Dose nos adultos = 720 mg por via oral a cada 12 horas. A metade da dose foi utilizada durante a indução com Timoglobulina.

Micofenolato Mofetil: comprimido 500mg

Dose nos adultos = 1g por via oral a cada 12 horas. A metade da dose foi utilizada durante a indução com Timoglobulina.

Ciclosporina A: cápsulas de 25mg, 50mg, 100mg

Foi iniciado após o término da indução da Timoglobulina na dose de 5mg/kg de 12/12 horas e depois ajustada de acordo com o nível sanguíneo.

Tacrolimus (FK506): cápsulas 1mg e 5mg

Foi iniciado após o término da indução da Timoglobulina na dose de 0,15 mg/kg de 12/12 horas, ajustada a *posteriori* conforme o nível sanguíneo. Em receptores obesos, a dose inicial é de 0,10 mg/kg/dia.

As doses dos imunossupressores, com exceção do corticoide, também foram reajustadas de acordo com ocorrência de leucopenia e plaquetopenia.

TERAPIA DE REJEIÇÃO AGUDA

a) Rejeição celular aguda (RCA)

Metilprednisolona: 500mg/dia durante 3 dias seguidos

b) Rejeição celular aguda cortico-resistente ou vascular

Timoglobulina: 1mg/kg/dia durante 7-10 dias

c) Rejeição humoral aguda (RHA)

Plasmaferese, total de 10 sessões, associada à Imunoglobulina humana intravenosa (IVIG).

Imunoglobulina humana: frasco-ampola 5g

Dose total de 2g/kg dividida em cinco doses e administradas após a plasmaferese, em 4-6 horas, após pré-medicação com corticoide, Paracetamol e Prometazina.

PROTOCOLO DE PROFILAXIA

Os protocolos de profilaxia são:

a) **Antiparasitária:** Albendazol 400mg/dia durante 5 dias seguidos e Secnidazol 2g dose única.

b) **Pneumocystis jirovecii:** Sulfametoxazol e Trimetoprim (400/80mg) 1 comprimido a noite durante 6 meses. Em casos de alergia à sulfa, Dapsone 100mg/dia.

c) **Tuberculose:** Isoniazida 300mg em jejum durante 9 meses, nos pacientes com PPD \geq 5mm ou história pregressa de tuberculose, associada a vitamina B6, 50mg/dia.

d) **CMV:** realizada nos pacientes de alto risco (**D+/R-**) ou naqueles com sorologia positiva para CMV que receberam indução com Timoglobulina. A profilaxia foi realizada com Ganciclovir intravenoso durante a internação (5mg/kg/dia ajustada de acordo com a função renal) e depois trocada para Valganciclovir (900mg/dia e também reajustada de acordo com a função renal), durante 100 dias. Nos pacientes de alto risco a profilaxia foi realizada durante 200 dias.

PROTOCOLO DE TERAPIA PARA INFECÇÃO OU DOENÇA PELO CMV

Pacientes com diagnóstico confirmado pelo CMV foram tratados com Ganciclovir 5mg/kg de 12/12 horas, por via intravenosa, durante 21-28 dias. A dose foi reajustada para a função renal. Nos pacientes com suspeita de doença citomegálica o tratamento foi iniciado antes da confirmação diagnóstica.

4.7 Aspectos Legais e Éticos

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio com o parecer nº 748.987/2014.

O estudo seguiu as Normas e Diretrizes estabelecidas pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde/MS. O estudo atendeu as disposições preliminares, à ótica do indivíduo e da coletividade, de acordo com os quatro referenciais básicos da bioética: autonomia, não maleficência, beneficência e justiça; assegurando os direitos e deveres que dizem respeito aos pesquisadores e aos sujeitos da pesquisa.

4.8 Análises Estatísticas

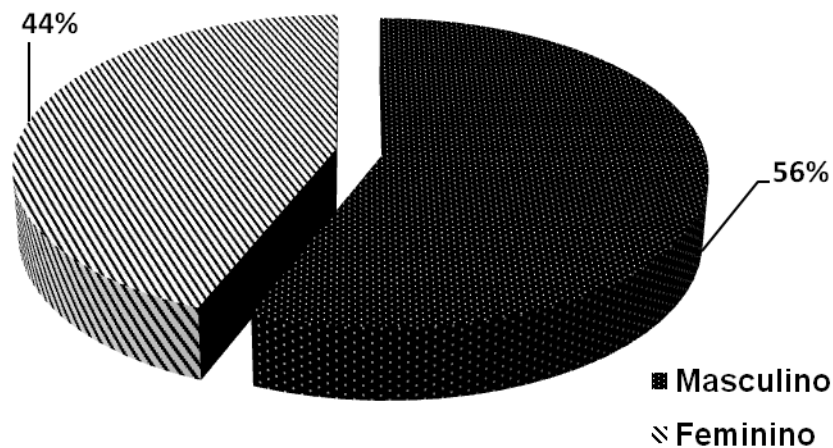
As variáveis quantitativas do estudo foram expressas como média \pm desvio padrão. As variáveis qualitativas foram expressas como porcentagem em relação à população do estudo.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Teste Exato de Fisher, Qui quadrado e teste não pareado de Mann-Whitney utilizando o software GraphPad Prism ® versão 5, sendo considerando um nível de significância inferior a 5%.

5- RESULTADOS

A média de idade dos 132 pacientes transplantados foi de $44,8 \pm 13,7$ anos, sendo 74 (56,1%) do sexo masculino (**Figura 6**). Não foi observada diferença significativa entre as idades dos pacientes em função do sexo ($p=0,6129$).

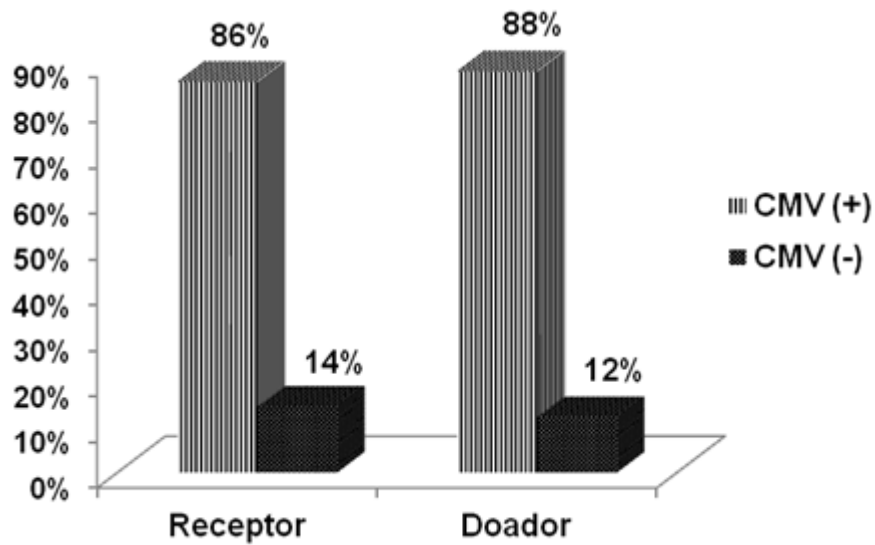
Figura 6- Distribuição dos 132 pacientes transplantados renais em função do sexo.



Fonte: Elaborado pelos autores.

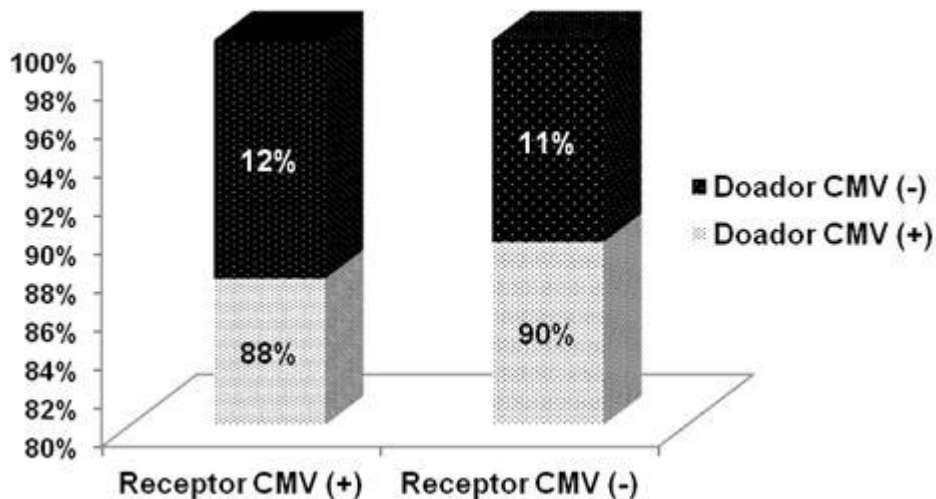
A análise da soroprevalência para CMV do par Doador/Receptor mostrou que a maioria dos receptores (85,6%) e seus respectivos doadores (87,9%) era soropositivo para CMV antes da realização do transplante (**Figura 7**). Apesar de não ter sido observada diferença significativa na soroprevalência para CMV entre os receptores e seus respectivos doadores ($p=0,7171$), a maioria dos receptores soropositivos (87,6%, 99/113) e os soronegativos (89,5%, 17/19) transplantou com rim proveniente de doadores soropositivos (**Figura 8**).

Figura 7-Soroprevalência para citomegalovírus (CMV) dos 132 receptores e seus respectivos doadores antes da realização do transplante renal.



Fonte: Elaborado pelos autores

Figura 8- Análise dos 132 receptores soropositivos ou soronegativos para citomegalovírus (CMV) que transplantaram com rim de doadores soropositivos.

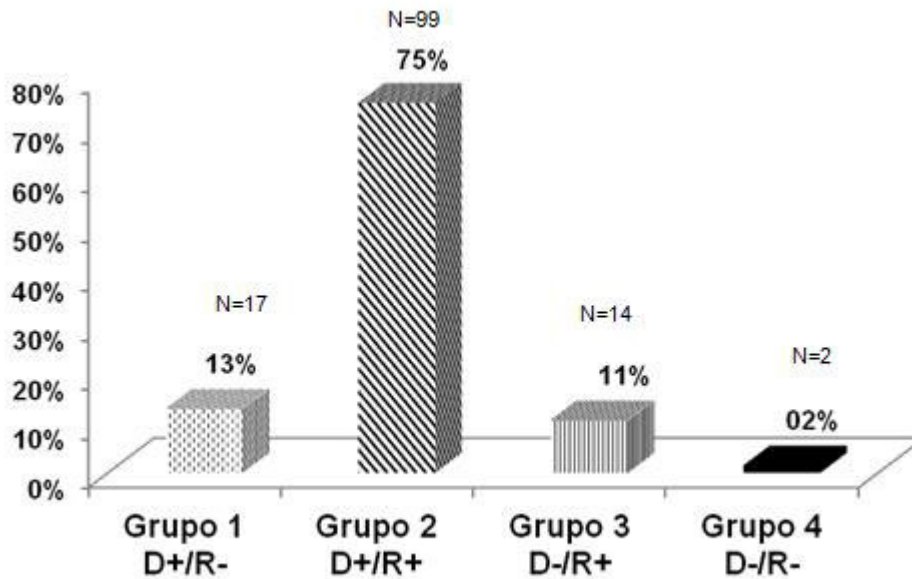


Fonte: Elaborado pelos autores.

A **Figura 9** mostra os 132 receptores distribuídos em função da sorologia para CMV do par Doador/Receptor antes da realização dos transplantes. A maioria (n=99, 75%) dos 132 receptores encontra-se no **Grupo 2 - D+/R+**, formado por receptores soropositivos para CMV que transplantaram com Doadores soropositivos. Os demais

foram distribuídos no **Grupo 1 - D+/R-** (n=17, 12,9%), **Grupo 3 - D-/R+** (n=14, 10,6%) e **Grupo 4 - D-/R-** (n=2, 1,5%).

Figura 9- Distribuição dos 132 receptores em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor antes da realização do transplante renal. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa para CMV.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Como mostra a **Tabela 1**, cópias de DNA do CMV $\geq 100/\text{mL}$ foram detectadas em 26 (19,7%) dos 132 receptores, com média de $567.235,00 \pm 2.231.948,00$ cópias de DNA/mL do CMV. Maior número de cópias de DNA do CMV foi encontrado no **Grupo 2 - D+/R+** em relação ao **Grupo 1 - D+/R-** ($p < 0,0001$).

Tabela 1- Perfil sorológico de 132 pacientes transplantados renais em função do par Doador/Receptor, da profilaxia para citomegalovírus (CMV), da infecção ativa pelo CMV, do encontro de cópias de DNA do CMV e da ocorrência da doença citomegálica após o transplante.

Perfil Sorológico	Grupo 1 (D+/R-)	Grupo 2 (D+/R+)	Grupo 3 (D-/R+)	Grupo 4 (D-/R-)	Total
Receptores	17 (12,9%)	99 (75%)	14 (10,6%)	2 (1,5%)	132 (100%)
Profilaxia					
SIM	17 (19,8%)	64 (74,4%)*	5 (5,8%)	0	86 (65,2%)
Cópias de DNA do CMV					
≥ 100/mL	2 (7,7%)	24 (92,3%)	0	0	26 (19,7%)
≥ 2000/mL	2 (15,4%)	11 (84,6%)	0	0	13 (9,8%)
DNA CMV/mL (Média, DP)	1.058.900,00 ± 1.041.100,00	526.262,92** ± 2.298.558,71	0	0	567.235,00 ± 2.231.948,00
CMV doença					
SIM	1 (20%)	4 (80%)	0	0	5 (3,8%)

DP= desvio padrão; D= receptor; R= receptor; (+)= positivo; (-)= negativo; *p=0,0453 (Grupo 2 versus 3); **p<0,0001 (Grupo 2 versus 1).

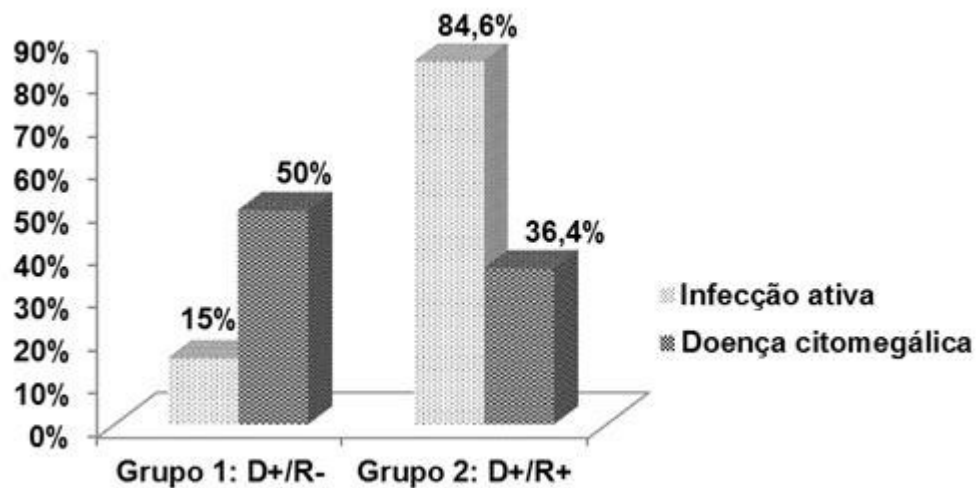
Dos 26 pacientes com cópias do CMV ≥ 100 /mL detectadas somente em 13 (50%, 13/26) foram detectadas cópias do CMV com “cut-off” acima de 2.000, considerado pelo fabricante com infecção ativa pelo CMV, sendo os 2 (100%) pacientes do **Grupo 1** e 11 (45,8%) dos 24 pacientes do **Grupo 2**.

O número de cópias de DNA do CMV detectado nos 2 pacientes do **Grupo 1 - D+/R-** foi 17.800,00 e 2.100.000,00 cópias/mL. Vale ressaltar que esses dois pacientes realizaram profilaxia para CMV após o transplante. O paciente com 17.800,00 cópias/mL realizou indução com Basiliximab e o paciente com 2.100.000,00 cópias/mL de DNA CMV recebeu indução com Timoglobulina. Como mostra a **Figura 10** somente um (50%, 1/2) paciente desse Grupo desenvolveu a doença citomegálica (50%, 1/2), sendo aquele que apresentou 17.800,00 cópias/mL.

A média do número de cópias de DNA do CMV detectada nos 11 pacientes do **Grupo 2 – D+/R-** foi de 1.147.691,00 \pm 3.288.986,48 cópias/mL, com a variação de 2.200 a 11.533.300,00 cópias/mL. A maioria desses pacientes (63,6%, 7/11) fez uso

de profilaxia no pós-transplante e 4 (36,4%, 4/11) deles desenvolveram doença citomegálica (**Figura 10**).

Figura 10- Pacientes com infecção ativa pelo CMV que desenvolveram doença citomegálica em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa para CMV.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Como mostrado na **Tabela 1**, à maioria (65,2%) dos 132 pacientes avaliados fez uso da profilaxia para CMV após o transplante. Os pacientes do **Grupo 2 - D+/R+** fizeram mais profilaxia para CMV do que os pacientes do **Grupo 3 - D-/R+** ($p=0,0377$). Todos os pacientes do **Grupo 1 - D+/R-** fizeram uso da profilaxia.

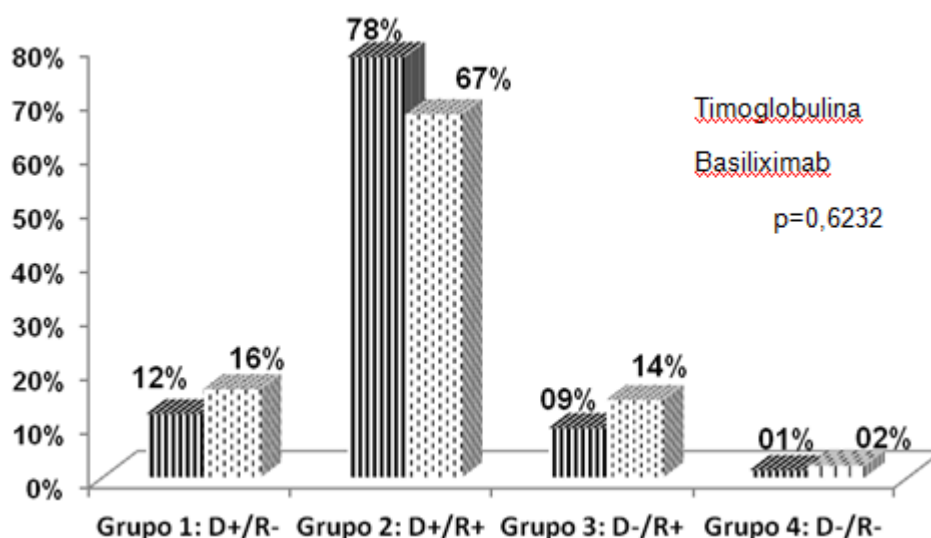
A **Tabela 2** mostra o perfil sorológico do par Doador/Receptor em função da terapia de indução, da imunossupressão, dos episódios de rejeição e a realização de diálise em cada um dos grupos após o transplante. A terapia de indução com Timoglobulina foi realizada em 77 (58,3%) e com Basiliximab em 49 (37,1%) dos 132 receptores. Em seis pacientes não foi possível determinar a terapia de indução, por não estar descrito no prontuário. Como mostrado na **Tabela 2** e **Figura 11**, apesar dos receptores do **Grupo 2 - D+/R+** terem recebido mais terapia de indução que os demais grupos, não foi observada significância entre os 4 Grupos ($p=0,6232$). A imunossupressão de manutenção recebida pelos 132 receptores encontra-se na **Tabela 2**. Não foi observado diferença entre os protocolos de imunossupressão entre os grupos ($p=0,3242$).

Tabela 2-Perfil sorológico para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor em função da terapia de indução, do tratamento imunossupressor, da rejeição aguda e da realização de diálise após o transplante renal em 132 pacientes.

Perfil Sorológico	Grupo 1 (D+/R-)	Grupo 2 (D+/R+)	Grupo 3 (D-/R+)	Grupo 4 (D-/R-)	Total
Receptor	17 (12,9%)	99 (75%)	14 (10,6%)	2 (1,5%)	132 (100%)
Indução*					
Timoglobulina	9 (11,7%)	60 (77,9%)	7 (9,1%)	1 (1,3%)	77 (58,3%)
Basiliximab	8 (16,3%)	33 (67,3%)	7 (14,3%)	1 (2,1%)	49 (37,1%)
Esquema de Manutenção **					
FK/CYA	17 (12,9%)	99 (75%)	14 (10,6%)	2 (1,5%)	132 (100%)
MY/MMF	17(12,9%)	99 (75%)	14 (10,6%)	2 (1,5%)	132 (100%)
Prednisona	13 (11,4%)	85 (74,6%)	14 (12,3%)	2 (1,7%)	114 (86,4%)
Rejeição Aguda					
SIM &	2 (11,8%)	15 (88,2%)	0	0	17 (12,9%)
Diálise					
SIM#	10 (12,2%)	68 (82,9%)	4 (4,9%)	0	82 (62,1%)

R=receptor; D=doador; (+)=positivo; (-)=negativo; FK=Tacrolimus; CYA=Ciclosporina A; MY=Micofenolato sódico; MMF= Micofenolato mofetil; *p= 0,6232; **p=0,3242; &p=0,4170; #p=0,0078

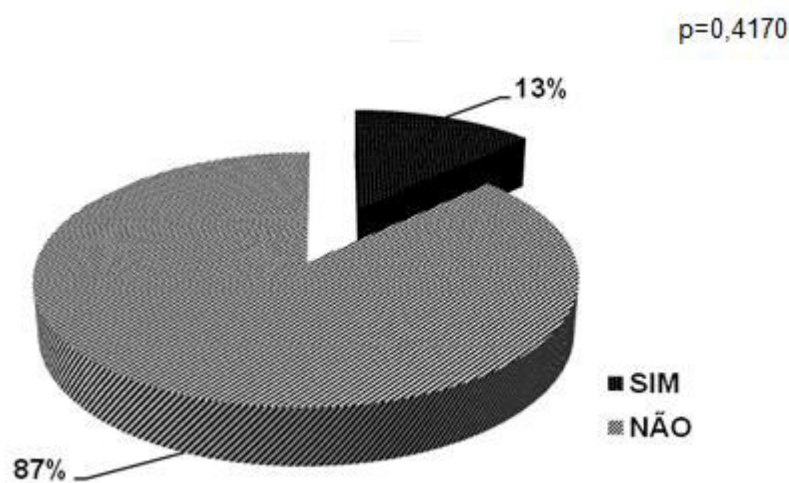
Figura 11- Distribuição dos 132 receptores em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor e da terapia de indução recebida após o transplante renal em 132 pacientes. D=Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia



Fonte: Elaborado pelos autores

Episódios de rejeição foram observados em 17 (12,9%) dos 132 receptores, sendo 15 (88,2%) receptores do **Grupo 2 - D+/R+** e 2 (11,8%) do **Grupo 1 - D+/R-** (**Figura 12, Tabela 2**). Porém, não houve diferença significativa entre os **Grupos 1 e 2** ($p=0,4170$).

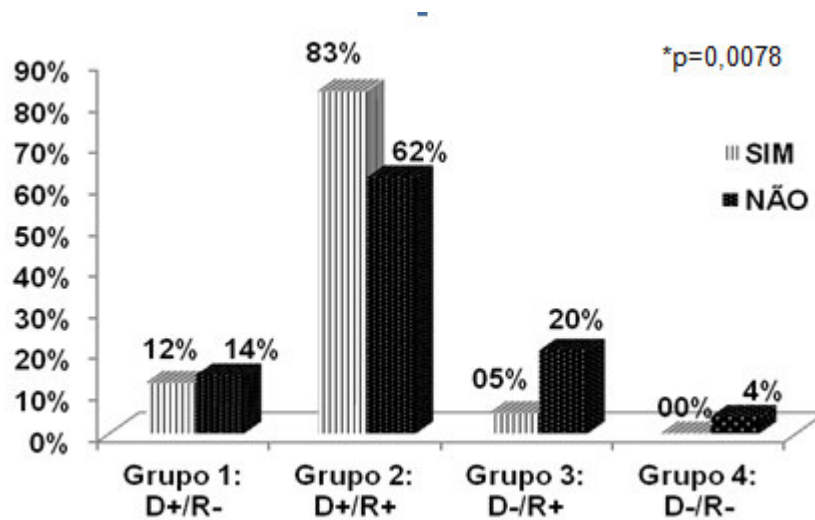
Figura 12- Episódios de rejeição aguda ocorridos em 132 receptores transplantados renais.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Quando a análise foi realizada em função da necessidade de realização de diálise após o transplante foi observado que a maioria dos receptores (62,1%) realizou diálise (**Tabela 2**). Entretanto, um maior número de pacientes em diálise foi observado no **Grupo 2 - D+/R+** quando comparado com os 3 Grupos (**Figura 13, $p=0,0078$**).

Figura 13- Distribuição dos 132 receptores renais em função da sorologia para citomegalovírus (CMV) do par Doador/Receptor e necessidade de realização de diálise após o transplante. D= Doador, R=Receptor, (+)= sorologia positiva para CMV, (-)= sorologia negativa



Fonte: Elaborado pelos autores.

A **Tabela 3** mostra o resultado da dosagem da creatinina sérica determinada no 7º dia, 15º dia, 1º a 6º mês e com um ano após o transplante dos 132 receptores em função da sorologia do par Doador/Receptor. Não foi observada diferença significativa dos valores de creatinina entre os 4 Grupos avaliados (0,1233) e entre os Grupos onde foi detectada cópias de DNA do CMV após o transplante (**Grupos 1 - D-/R+** e **Grupo 2 - D+/R+**; p=0,6554)

Tabela 3-Dosagem de creatinina sérica de 132 transplantados renais de acordo com o estado sorológico do par Doador/Receptor.

Creatinina (mg/dL)	Grupo 1 (D+/R-) n=17	Grupo 2 (D+/R+) n=99	Grupo 3 (D-/R+) n=14	Grupo 4 (D-/R-) n=2	Total n=132
7º dia	4,4 ± 2,8	5,7 ± 3,1	3,6 ± 3,0	2,2 ± 0	5,3 ± 3,1
15º dia	2,8 ± 1,7	3,4 ± 2,2	2,4 ± 1,7	2,2 ± 2,7	3,2 ± 2,2
1º mês	1,4 ± 0,4	1,7 ± 0,9	1,4 ± 0,7	1,7 ± 2,1	1,7 ± 0,8
2º mês	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,6	1,5 ± 0,9	1,4 ± 0	1,4 ± 0,6
3º mês	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,6	1,6 ± 1,0	1,2 ± 1,4	1,4 ± 0,7
6º mês	0,9 ± 0,4	1,3 ± 0,6	1,4 ± 0,8	1,3 ± 1,3	1,3 ± 0,6
1 ano	0,8 ± 0,4	1,3 ± 0,7	1,4 ± 0,7	1,0 ± 1,5	1,3 ± 0,7

Valores expressos em média ± desvio padrão; D= receptor; R= receptor; (+)= positivo; (-)= negativo; p=0,133

6- DISCUSSÃO

O presente estudo abrangeu 132 pacientes que realizaram transplante renal no Serviço de Transplante do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC). Na maioria dos casos (87,8%, 113/132), os transplantes foram realizados com doadores soropositivos para o CMV. Esses achados corroboram com alguns autores que mostram que o transplante é uma importante via de transmissão do CMV em receptores de órgãos (LINARES *et al.*, 2011, ZHANG *et al.*, 2012). Dados semelhantes foram encontrados em estudo de soroprevalência realizado em 660 doadores de órgãos do Estado do Ceará, onde 80,8% dos transplantes renais, 82% dos hepáticos e 80,9% dos cardíacos foram realizados com órgãos provenientes de doadores soropositivos (RIBEIRO *et al.*, 2012).

A infecção pelo CMV é uma importante causa de complicações nos primeiros seis meses do pós-transplante, causando morbidade considerável e mortalidade ocasional nos pacientes (ROWSHANI *et al.*, 2005; KANTER *et al.*, 2009; CORDERO *et al.*, 2012). Alguns autores têm mostrado a forte influência da soropositividade para CMV do par Doador/Receptor antes do transplante. Pacientes soronegativos que transplantam com rim de doador soropositivo (**Grupo 1: D+/R-**) são considerados de alto risco para desenvolver infecção primária, enquanto que no grupo dos soropositivos (**Grupo 2: D+/R+**), o risco é considerado moderado, uma vez que esses pacientes podem apresentar reativação da cepa latente e/ou reinfeção por uma nova cepa do CMV proveniente do doador soropositivo (SILVA *et al.*, 2007; EID & RAZONABLE, 2010; CUNHA-BANG *et al.*, 2011). Além disso, o risco de infecção pelo CMV pode ainda ser maior quando o rim transplantado é proveniente de doador falecido, onde cerca de 90% desses pacientes desenvolvem infecção, contra 70%, quando o órgão é proveniente de doador vivo (AGUADO *et al.*, 2012).

No presente estudo, todos os 132 pacientes foram transplantados com rim de doador falecido, somente 13 (9,8%) pacientes tiveram infecção ativa pelo CMV, sendo 2 (15,4%) pacientes pertencentes ao **Grupo 1 (D+/R-)**, e 11 (84,6%) ao **Grupo 2 (D+/R+)**. Provavelmente o baixo percentual (9,8%) encontrado, principalmente nos pacientes do **Grupo 1**, considerados de alto risco de desenvolver infecção primária, quando comparado aos pacientes do **Grupo 2**, seja reflexo do protocolo de profilaxia para CMV adotado pelo Serviço de Transplante do HUWC. Como regra, a profilaxia do CMV é realizada em todos pacientes do **Grupo 1** e nos

pacientes do **Grupos 2 (D+/R+)** e **Grupo 3 (D-/R+)** que fizeram terapia de indução com a Timoglobulina. Outros estudos detectaram percentual elevado (37,7 a 40%) de infecção ativa pelo CMV nos pacientes do **Grupo 1** (KUO *et al.*, 2010; CUNHA-BANG *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012). Além disso, esses autores mostraram correlação entre o risco de rejeição e o aumento da carga viral. Pacientes que desenvolvem rejeição aguda apresentam média de cópias virais superiores àqueles com rejeição leve ou crônica ($2,32 \times 10^3$ a $1,02 \times 10^5$ versus $5,61 \times 10^2$ a $2,12 \times 10^4$ cópias de DNA/mL, respectivamente).

Apesar da média de cópias de DNA do CMV/mL detectada no **Grupo 2** ter sido superior ao do **Grupo 1** ($526.262,92 \pm 2.298.558,71$ /mL e $1.058.900,00 \pm 1.041.100,00$ /mL, respectivamente, $p < 0,0001$) não foi observada correlação nos episódios de rejeição entre esses Grupos ($p = 0,4170$). Porém, o mesmo não foi observado quando os dois grupos foram avaliados em função da necessidade de diálise, onde os pacientes do **Grupo 2** realizaram mais diálise no período pós-transplante do que àqueles do **Grupo 1** ($p = 0,0078$).

Atualmente, duas modalidades de tratamento são utilizadas para evitar a infecção ativa pelo CMV em transplantados renais: a profilaxia e a terapia preemptiva (CORDERO *et al.*, 2012). Como mencionado anteriormente, o Serviço de Transplante do HUWC realiza a profilaxia em todos os pacientes do **Grupo 1** e em determinados pacientes do **Grupo 2 e 3**, mas a terapia preemptiva, que necessita do monitoramento regular da replicação do CMV pela técnica da PCR em tempo real, ainda não faz parte da rotina do Serviço de Transplante do HUWC.

Os resultados aqui apresentados fazem parte de um estudo pioneiro realizado durante a implantação da técnica da PCR em tempo real. Com a implantação dessa metodologia, os pacientes podem ser monitorados ao longo dos seis meses de transplante para se evidenciar a replicação do CMV e, diante disso, iniciar o tratamento antiviral (KANTER *et al.*, 2009; LINARES *et al.*, 2011; CORDERO *et al.*, 2012). Segundo alguns autores, o encontro de 2.000 cópias de DNA/mL do CMV é o ponto de corte considerado ideal para iniciar a terapia preemptiva (MARTIN-GANDUL *et al.*, 2013). Devido ao alto custo da profilaxia para CMV e os efeitos adversos da terapia profilática, em especial leucopenia, alguns serviços têm realizado o monitoramento da carga viral pela PCR em tempo real e naqueles em que cópias de CMV são detectadas, a terapia preemptiva é iniciada.

Segundo Hellemans e colaboradores (2012), essa conduta tem reduzido os custos do tratamento da infecção viral nesses serviços (HELLEMANS *et al.*, 2012). Em geral, os pacientes dos **Grupos 1, 2 e 3** transplantados no HUWC fazem uso de Ganciclovir durante o período de internação no pós-transplante e, após a alta hospitalar, continuam o tratamento com Valganciclovir oral até completar 100 (**Grupos 2 e 3**) ou 200 (**Grupo 1**) dias de transplante renal (KUO *et al.*, 2010; LUNA *et al.*, 2011).

Estudos mostram que o monitoramento da carga viral pela PCR em tempo real possibilita uma redução nos custos do tratamento, uma vez a terapia preemptiva seria realizada somente nos pacientes que apresentarem infecção ativa comprovada pelo teste (KUO *et al.*, 2010; HELLEMANS *et al.*, 2012; BOARETTI *et al.*, 2013; MARTIN-GANDUL *et al.*, 2013). O preço de cada comprimido de Valganciclovir, usado na profilaxia para CMV, é R\$ 119,00 (cento e dezenove reais). Assim, se for considerado os custos de 90 dias de tratamento com Valganciclovir de somente um paciente que toma 2 comprimidos de 450mg por dia, o custo do tratamento desse paciente seria de R\$ 21.420,00 (Vinte e um mil quatrocentos e vinte reais). Considerando-se os 86 (65,2%) pacientes do presente estudo que fizeram uso da profilaxia para o CMV, o custo do tratamento seria de R\$ 1.842.120,00 (um milhão oitocentos e quarenta e dois mil e cento e vinte reais). Caso o monitoramento da carga viral fizesse parte da rotina do HUWC, o tratamento antiviral teria sido realizado somente nos 13 (9,8%) pacientes que apresentaram carga viral acima de 2.000/mL, com um custo estimado de R\$ 278.460,00 (Duzentos e setenta e oito mil quatrocentos e sessenta reais).

Alguns autores têm mostrado que além de minimizar o custo do tratamento, a terapia preemptiva é significativamente mais efetiva do que a profilaxia na redução do risco do paciente desenvolver doença citomegálica (STRIPPOLI *et al.*, 2006; MARTIN-GANDUL *et al.*, 2013). Além disso, diminui os efeitos adversos da medicação e reduz o risco da resistência da cepa viral às drogas antivirais (HELLEMANS *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2012; BOARETTI *et al.*, 2013).

Em pacientes transplantados, o fator tempo é fundamental no diagnóstico precoce da infecção ativa pelo CMV. A utilização de técnicas rápidas, sensíveis e específicas como a PCR em tempo real, que permitem a detecção precoce da replicação viral e a quantificação da carga viral com precisão e em tempo hábil, é

extremamente útil no monitoramento da infecção pelo CMV no pós-transplante (MADI *et al.*, 2007; EID *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2012). Essa estratégia elimina o tempo do tratamento profilático e os seus efeitos colaterais, tais como, leucopenia, anemia, diarreia, náuseas, anorexia, vômitos e pancreatite (EID & RAZONABLE, 2010; HELLEMANS *et al.*, 2012).

O uso de drogas imunossupressoras potentes, o tipo de órgão transplantado, o perfil sorológico para CMV do par Doador/Receptor e a carga viral encontrada nos primeiros três meses de transplante são fatores de risco associados à gravidade da doença citomegálica (HADAYA *et al.*, 2003; EID & RAZONABLE, 2010; RHEE *et al.*, 2011). No presente estudo, todos os pacientes do **Grupo 1, 2 e 3** fizeram uso de Tacrolimus e Micofenolato Sódico. Outros fizeram uso de Prednisona e de terapia de indução com Timoglobulina ou Basiliximab. Porém, não foi observada diferença no protocolo de indução e imunossupressão entre os grupos.

Segundo Boaretti e colaboradores (2013), pacientes com carga viral acima de 5.000 cópias/mL de DNA apresentam alto risco de desenvolver a doença citomegálica (BOARETTI *et al.*, 2013). Em nossa casuística, o paciente que apresentou em sua primeira amostra de sangue 11.533.300,00 cópias de DNA/mL estava internado com sintomas da doença pelo CMV e, durante o tratamento antiviral, novas amostras de sangue foram coletadas, sendo detectadas 100, 4.000, 300, 200 e, por último, 80 cópias de DNA/mL de CMV. Apesar da queda brusca do número de cópias/mL observada com o tratamento, o paciente continuou a profilaxia com Valganciclovir oral durante 100 dias. Neste caso em particular, a terapia preemptiva teria sido iniciada antes do paciente procurar atendimento médico com sintomas da doença citomegálica. (STRIPPOLI *et al.*, 2006; MADI *et al.*, 2007; RHEE *et al.*, 2011). Além disso, durante o tratamento, a carga viral seria monitorada para assegurar a interrupção da terapia nos pacientes que apresentem menos de 2.000 cópias de DNA/mL, considerados de baixo risco de desenvolver a doença citomegálica. Isto poderia evitar um tratamento longo e desnecessário, e prevenir o aparecimento de cepas resistentes aos antivirais (HADAYA *et al.*, 2003; MADI *et al.*, 2007; Bieniek *et al.*, 2011).

7- CONCLUSÕES

Este estudo realizado em amostras de 132 pacientes permitiu as seguintes conclusões:

A maioria dos receptores tinha sorologia positiva para CMV antes do transplante e foram transplantados com doador de rim em morte encefálica com sorologia positiva para CMV.

Não houve diferença significativa entre a terapia imunossupressora de indução ou manutenção e o estado sorológico para CMV do par Doador/Receptor.

Presença de cópias de DNA de CMV ≥ 100 cópias/mL foi detectada em 19,7%, com média de $567.235,00 \pm 2.231.948,00$ cópias /mL.

Infecção pelo CMV ocorreu em 9,8%.

A maioria dos pacientes com cópias de DNA do CMV detectadas pela PCR foi observada nos receptores soropositivos que receberam rim de doador soropositivo.

A maioria dos pacientes que apresentou infecção ativa ou doença citomegálica fez profilaxia o para CMV.

Não houve diferença significativa na creatinina sérica e na ocorrência de rejeição aguda entre os grupos.

Nossos resultados reforçam a necessidade do monitoramento da carga viral pela PCR em tempo real em pacientes considerados de risco moderado para o desenvolvimento da doença citomegálica (**Grupo 2**) e a adoção de terapia preemptiva naqueles com infecção ativa.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUADO, J. M.; NAVARRO, D.; SAN JUAN, R.; CASTON, J. J. Cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* v. 30, supl 2, p. 57 - 62, 2012.

AHMED, A. Immunopathology of CMV Co-infection: Review. *MOJ Immunology.*v.1(3):00017,2014.

ALESSANDRA, A.T.C., MANOELA, A.S.F., SOFIA, H.L.M. Transplante renal: a influência da terapia imunossupressora na prevalência de manifestações estomatológicas. *Odontologia. Clín.-Científ., Recife,* 2 (3): 165-174, set/dez., 2003.

AMARAL, R.P., AMARAL, R.P., SAIDNEUY, A.E.K.T., RIBEIRO, W.L., ANDRADE, J. serological profile of potencial solid organ donos in Santa Catarina, Brazil. *Transp Proc.* 2008; 40:665-667.

BIENIEK, R.; KIRBY, J. E.; CHENG, A.; EICHELBERGER, K.; QIAN, Q. Effective use of PCR for the detection of Cytomegalovirus viremia and monitoring therapy in immunocompromised patients. *Science.* v. 42, n. 6, p. 339 - 343, 2011.

BOARETTI, M., SORRENTINO, A. ZANTEDESCHI, C., FORNI, A., BOSCHIERO, L. FONTANA, R. Quantification of cytomegalovirus DNA by a fully automated real-time PCR for early diagnosis and monitoring of active viral infestation in solid organ transplant recipients. *Journal of Clinical Virology,* 2013. V.56. p. 124-128.

BUONSENSO, D., SERRANTI, D. GARGIULLO, L. CECCARELLI, M. RANNO, O. VALENTINI, P. Congenital cytomegalovirus infection: current strategies and future perspectives. *Euopean Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2012. V. 16. P.919-935.

CANNON, M.J., DAVIS, K.F. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. *BMC Public Health.* 2005; 5:70

COLUGNATI, F.A.B., STARAS, S.A.S., DOLLARD, S.C., CANNON, M.J. Incidence of cytomegalovirus infection among the general population and pregnant women in the United States. *BMC Infections Diseases.* 2007; 7:71.

COUTO, C.F.C., RODRIGUES, M.V., MELO, G.E.B.A., MENEZES, G.A.; LEITE, J.M. Citomegalovírus e Gestação: Um antigo problema sem novas soluções. *Femina*. 2003; 31:509-516.

CORDERO, E., CASASOLA, C., ECARMA, R., DANGUILAN, R. Cytomegalovirus Disease in Kidney Transplant Recipients: Incidence, Clinical Profile, and Risk Factors. *Transplantation Proceedings*. V.44, p.694-700, 2012.

CUNHA, A. A.; MARIN, L. J.; AQUINO, V. H.; FIGUEIREDO, L. T. M. Diagnosis of cytomegalovirus infections by qualitative and quantitative PCR in HIV infected patients. *Rev Inst Med Trop*. 2002. v. 44, n. 3, p. 127 – 32.

CUNHA-BANG, C., SORENSEN, S.S., IVERSEN, M., SENGELOV, H., HELLINGSO, J.G., RASMUSSEN, A., MORTENSEN, S.A., FX, Z.F., KIRKBY, N.S., CHRISTIANSEN, C.B., LUNDGREN J.D. Factors associated with the development of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2011. v. 43, p.360-365.

DAVILA, P.M. & ABETE, J.F. Cytomegalovirus infection in kidney transplant patients: what is the best way to prevent it? *Nefrologia*. 2008; 3:253-256.

DELMONICO, L.F. Cadaver Donor Screening for Infectious Agents in Solid Organ Transplantation. *Clin Infect Dis*. 2000; 31:781–786.

EID, A. J.; RAZONABLE, R. R. New developments in the management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Drugs*., 2010. v. 70, n. 8, p. 965-81.

MARTIN-GANDUL, C. PEREZ-ROMERO, P. SANCHEZ, M. BERNAL, G., SUAREZ, G., SOBRINO, M., MERINO, L., CISNEROS, J.M., CORDERO, E., Determination, validation and standardization of a CMV DNA cut-off value in plasma for preemptive treatment of CMA infection in solid organ transplant recipients at lower risk for CMV infection. *Journal of Clinical Virology*, 2013. V. 56. p. 13-18.

GAMEZ, S.S., RUIZ, M.P., MARI, J.M.N. Infección por citomegalovirus humano. *Enferm Infecc Clin.*, 2014 v.32, p. 15-22.

GOLDMAN, L; AUSIELLO, D. CECIL- Tratado de medicina interna. 22^a Ed. São Paulo: Clínica Médica, 2005. Vol I. p. 2328-2331.

GATAULT, P., HALIMI, J.M., FORCONI, C., THIBAUT, G., BARBET, C., MERIEU, E., GAUDY-GRAFFIN, C., MARLIERE, F-F., GOUDEAU, A., BRUYERE, F., LEBRANCHU, Y., BUCHLER, M., BARON, C. CMV infection in the donor and increased kidney graft loss: Impact of full HLA –I mismatch and posttransplantation CD8+ cell reduction. *American Journal of Transplantation*, 2013. V.13. p. 2119-2129.

GRANATO, C.A. Problemática da infecção pelo Citomegalovírus em pacientes imunodeprimidos. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2001; v. 23, n.3.

Guirado, L.L., Rabella, N., Díaz, J.M., Facundo, C., MANDERUELO, A., MARGALL, N., SILVA, I., MASET, R.G., CALABIA, J., GIMENEZ, I., GARRA, N., SOLA, R., BALLARIN, J.A. Tratamiento profiláctico y anticipado de la infección por citomegalovirus en pacientes trasplantados renales mediante valganciclovir oral. *Nefrología*. 2008; 28(3):293-300.

HADAYA, K.; WUNDERLI, W.; DEFFERNEZ, C.; MARTIN, P. Y.; MENTHA, G.; BINET, I.; PERRIN, L.; KAISER, L. Monitoring of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant recipients by an ultrasensitive plasma PCR assay. *J Clin Microbiol.*, 2003. v. 41, n. 8, p. 3757 - 64.

HELLEMANS, R. BEUTELS, P. LEVEN, M. VERPOOTEN, G.A. BOSMANS, J.L. Cost analysis in favor of a combined approach for cytomegalovirus after kidney transplantation: a single-center experience. *Transplant Infection Disease*, 2012. V. 15. P.70-78.

HERTEL, L., MOCARSKI, E.S. Global analysis of host cell gene expression late during cytomegalovirus infection reveals extensive dysregulation of cell cycle gene expression and induction of Pseudomitosis independent of US28 function. *J Virol*. 2004; 78(21): 11988-2011.

JAIN, M. DUGGAL, S. CHUGH, T.D. Cytomegalovirus infection in non-immunosuppressed critically ill patients. *J Infect Dev Ctries*, 2011. V.5(8), p. 571-579.

JUNQUEIRA, J.J.M., SANCHO, T.M., SANTOS, V.A. citomegalovirus: Revisão dos aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e de tratamento. *Newlab*. 2008; 86:88-104.

KANTER, J., PALLARDO, L., GAVELA, E., ESCUDERO, V., BELTRAN, S., MORALES, A., ÁVILA, A., CRESPO, J.F. Cytomegalovirus Infection Renal Transplant Recipients: Risk Factors and Outcome. *Transplantation Proceedings*, v. 41, p. 2156-2158, 2009.

Kothari, A., Ramachandran, V.G., Gupta, P., Singh, B., Talwar, V. Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr*. 2002; 20:348-351.

KUO, H.T., YE, X., SAMPAIO, M.S. REDDY, P. BUNNAPRADIST, S. Cytomegalovirus Serostatus Pairing and Deceased Donor Kidney Transplant Outcomes in Adult Recipients with Antiviral Prophylaxis. *Transplantation*, 2010. V. 90, p.1091-1098.

LINARES, L.; SANCLEMENTE, G.; CERVERA, C.; HOYO, I.; CONFAN, F.; RICART, M. J.; PEREZ-VILLA, F.; NAVASA, M.; MARCOS, M. A.; ANTON, A.; PUMAROLA, T.; MORENO, A. Influence of cytomegalovirus disease in outcome of solid organ transplant patients. *Transplant Proc*. 2011. v. 43, n. 6, p. 2145 - 8.

LOPO, S., VINAGRE, E., PALMINHA, P., PAIXÃO, M.T., NOGUEIRA, P., FREITAS, M.G. Seroprevalence to cytomegalovirus in the Portuguese population, 2002-2003. *Euro Surveill*. 2011;16(25):pii=19896. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19696>.

LUNA, F.S., CARRATALA, Y.J. Tratamiento de la enfermedad por cytomegalovirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011, v. 29. P. 65-69.

MADI, N.; AI-NAKIB, W.; MUSTAFA, A. S.; SAEED, T.; PACSA, A.; NARAYANAN, M. R. N. Detection and monitoring of cytomegalovirus infection in renal transplant patients by quantitative Real-Time PCR. *Med Princ Pract*. 16, p. 268 - 73, 2007.

MARTINY, P. B.; PARIS, F.; MACHADO, A. B. M. P.; MELLO, R. O.; SENGER, M. B.; CORREA, M. C. M.; JUNIOR, L. C. W.; SOUZA, C. F. M. Comparison of the performance of polymerase chain reaction and pp65 antigenemia for the detection of human cytomegalovirus in immunosuppressed patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* v. 44, n. 3, p. 286 - 289, 2011.

Matos, S.B., Meyer, R., Lima, F.W.M. Seroprevalence of cytomegalovirus infection among healthy blood donors in Bahia State, Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010; 32(1):45-49.

MOURA, J.U., MORAES, G.B., CAPIOTTI, M.P., SILVA, R.M., LEAL, D.B.R. Prevalência sorológica de anticorpos anti-CMV em gestantes da região oeste de Santa Maria, RS. *Disc Scientia.* 2007; 8(1):33-39.

MIURA, C.S., MIURA, E., MOMBACH, A.B., CHESKY, M. The prevalence of congenital cytomegalovirus infection in newborn infants at an intensive care unit in a public hospital. *J Pediatr.* 2006; 82(1):46-50.

MURRAY, P.R., ROSENTHAL, K.S., KOBAYASHI, G.S., PFALLER, M.A. *Microbiologia médica.* 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

PANUTTI, C.S. *Infecção por citomegalovírus.* Editora: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 1984; (6) 144-153.

RHEE, J. Y.; PECK, K. R.; LEE, N. Y.; SONG, J. H. Clinical usefulness of plasma quantitative chain reaction assay: diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* v. 43, p. 2624 - 9, 2011.

RIBEIRO, I. F.; NASCIMENTO, A. C.; TARGINO, T. S. S.; PARENTE, M. M.; RIBEIRO, T. R.; BARBOSA, E. M. R.; SALMITO, E. F.; SILVA, S. L.; SILVA, S. F. R. Seroprevalence of cytomegalovirus in solid organ donors from Ceará (Brazil), 1998-2010. *Journal of Medicine and Medical Sciences.*; v. 3, n. 7, p. 471 - 475, 2012.

RIBEIRO, C.D.M., SCHRAMM, F.R., *Atenção médica, transplante de órgão e tecidos e políticas de focalização.* *Cad. Saúde Pública,* Rio de Janeiro, 2006; 22(9):1945-1953.

ROIZMAN, B. Enhanced: Redefining Virology. *Sciences* 2000; 288 (5457): 2327 – 2334.

ROUSHANI, A.T., BEMELMAN, F.J., LEEUWEN, E.M.M., LIER, R.A.W., BERGE, I.J.M. Clinical and Immunology Aspects of Cytomegalovirus Infection in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation*. V.79. n.4,381-386, 2005.

SIA, I.G.; PATEL, R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipients. *Clinical Microbiology Reviews*, v.13, n.1, p 83-121, 2000.

SINCLAIR, J. & SISSONS, P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol*. 2006; 87:1763-1779.

SILVA, D. F. L.; GOMES, R. H. S.; MORAES, M. M.; MEDEIROS, R. F. L.; SANTOS, E. C. O.; JESUS, I. M. Perfil sorológico e molecular da infecção pelo citomegalovírus em pacientes transplantados de Belém-PA. *Cad Saúde Colet*. v. 15, n. 3, p. 369 - 78, 2007.

SOUZA, M.A., PASSOS, A.M., TREITINGER, A., SPADA, C. Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies in blood donors in Southern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010; 43(4):359-361.

STRIPPOLI, G. F. M.; HODSON, E. M.; JONES, C.; CRAIG, J. C. Pre-emptive treatment of cytomegalovirus viremia to prevent cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Transplantation*. v. 81, n. 2, p. 139 - 43, 2006.

TAYLOR, G.H. Cytomegalovirus. *Am Fam Physician*. 2003; 67(3):519-24.

THOMAS, E.A. ET AL. *Medicina interna básica*. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

VAZ, A.J., TAKEI, K., BUENO, E.C. *Imunoensaios: fundamentos e aplicações*. Editora: Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.

ZAIA, J.A., THOMAS, E.D., BLUME, K.G. *Cytomegalovirus Infections*, Beackwell Science, 1999; 2. Ed., p. 560-583.

ZHANG, C. B.; LAI, H. Y.; XU, H. T.; WANG, G.; XIAO, F. Clinical application of real time-polymerase in determining cytomegalovirus vira DNA load in renal transplant recipients. *Chin Med J.* v. 125, n. 19, p. 3575 - 7, 2.