CAMILA DA SILVA BICALHO

**Vigilância da replicação do poliomavírus humano BK (BKPyV) e
evolução para Nefropatia Associada ao BKPyV (NABKPyV) em
pacientes submetidos a transplante renal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Lígia Camera Pierrotti

São Paulo

2017

CAMILA DA SILVA BICALHO

**Vigilância da replicação do poliomavírus humano BK (BKPyV) e
evolução para Nefropatia Associada ao BKPyV (NABKPyV) em
pacientes submetidos a transplante renal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Lígia Camera Pierrotti

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Bicalho, Camila da Silva

Vigilância da replicação do poliomavírus humano BK (BKPyV) e evolução para Nefropatia Associada ao BKPyV (NABKPyV) em pacientes submetidos a transplante renal / Camila da Silva Bicalho -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Lígia Camera Pierrotti.

Descritores: 1.Polyomavirus 2.Transplante de rim 3.Células decoy
4.Reação em cadeia de polimerase 5.Nefropatia associada ao polyomavirus

USP/FM/DBD-251/17

Dedicatória

**A meus pais, Washington e Maria Terezinha,
pelo apoio às minhas escolhas, por acreditarem em mim,
pela dedicação e cuidado ao longo de toda minha vida,
por serem as pessoas mais maravilhosas que eu conheço.**

Pelo exemplo que são para seus filhos.

E por estarem sempre ao meu lado.

Agradecimentos

Agradeço muito à minha orientadora, Professora Doutora Lígia Camera Pierrotti, por me aceitar como aluna, pelos ensinamentos e pela dedicação.

Ao Dr Elias, à equipe da pesquisa clínica do transplante renal e a todos os funcionários do Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, que possibilitaram a realização do estudo.

Ao Dr. Cláudio Pannuti e equipe do laboratório de virologia, pela realização das análises moleculares.

À Dra. Maria Cristina Fink, por todo o suporte e auxílio na padronização da técnica de PCR e também na descrição das técnicas laboratoriais para a tese.

À Leika, Regina e equipe da Patologia Clínica, pelo empenho para realizar as pesquisas de citologia.

À Dra. Daisa e equipe da patologia, pelo suporte na realização das biópsias.

À Gislene Bezerra, pela contribuição ao projeto.

À equipe do ambulatório de infecção em imunodeprimidos, pela dedicação no atendimento dos pacientes do projeto.

À Cristiane Primieri, que me ajudou muito com a digitação dos dados.

À Banca de qualificação do Mestrado e do Doutorado: Dr. Edson Abdala, Dr. Karim Yakub, Dra. Maria Cristina Ribeiro, Dra. Tania Mendoza e Dr. José Eduardo Levi, pelas considerações e críticas construtivas.

Ao Grupo de Infecção em Imunodeprimidos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos Coordenadores e funcionários da Pós-graduação do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos meus pais, Washington e Maria Terezinha, minha família e meu noivo Pedro Reis, por todo suporte e apoio.

Aos meus colegas de trabalho, pela paciência, ajuda e companheirismo, mesmo nos dias mais difíceis.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

**“São as nossas escolhas que revelam o que realmente somos,
muito mais do que as nossas qualidades.”**

Alvo Dumbledore

Este estudo contou com o apoio financeiro da FAPESP (Processo no 2010/01710-3).

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

--	--

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Lista de quadros

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO:	1
1.1	Poliomavírus	2
1.1.1	Família Polyomaviridae	4
1.1.2	História Natural da Infecção pelo Poliomavírus	6
1.2	BKPyV: Soroprevalência e sorotipos na população geral	8
1.2.1	Associação da infecção por poliomavírus e doença	11
1.3	Transplante de órgão sólido (TOS)	14
1.3.1	Transplante renal	18
1.4	BKPyV e transplante	19
1.4.1	História natural do BKPyV no transplante renal	21
1.4.2	Fisiopatogenia da reativação do BKPyV e da NABKPyV no transplante renal	24
1.4.3	Vigilância da replicação do BKPyV	28
1.4.4	Nefropatia associada ao BKPyV (NABKPyV)	32
2	JUSTIFICATIVA	39
3	OBJETIVOS	43
3.1	Objetivos primários	43
3.2	Objetivos secundários	43
4	MÉTODO	46
4.1	Desenho do estudo	46
4.2	Pacientes	46
4.3	Caracterização do Serviço de Transplante Renal	47
4.4	Protocolo seguimento clínico-laboratorial do estudo	47
4.5	Definições	51
4.6	Seguimento clínico-laboratorial pós-transplante renal do STR	52
4.7	Análise dos fatores de risco para viremia sustentada e NABKPyV	55

4.8	Técnicas de diagnóstico laboratorial	56
4.8.1	Pesquisa de <i>decoy cell</i> na urina	57
4.8.2	Pesquisa e quantificação de viruria e de viremia por técnica de biologia molecular	57
4.8.3	Biópsia renal	59
4.9	Estimativa do número de amostras e reações	60
4.9.1	Cálculo de número de amostras de urina para pesquisa de <i>decoy cell</i> e amostras de sangue para pesquisa de viremia	60
4.10	Ética	61
4.11	Análise dos dados	62
5	RESULTADOS	65
5.1	Dados clínico-epidemiológicos da coorte	65
5.2	Resultados de <i>decoy cell</i> , viremia, viremia sustentada e NABKPyV	73
5.3	Análise dos potenciais fatores de risco para evolução para viremia sustentada e NABKPyV	84
5.3.1	Análise dos fatores de risco para viremia sustentada	84
5.3.2	Análise dos fatores de risco para NABKPyV	87
5.4	Descrição das curvas ROC da viremia para determinação do <i>cut-off</i> para risco de viremia sustentada e evolução para nefropatia, e tempo de ocorrência da primeira viremia positiva e evolução para NABKPyV	90
5.5	Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN)	93
5.6	Impacto do doador vivo positivo	95
5.7	Descrição dos casos de NABKPyV	96
6	DISCUSSÃO	99
7	CONCLUSÃO	119
8	REFERÊNCIAS	121
9	ANEXOS	142

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Linha do Tempo da descoberta dos Poliomavírus até o momento	4
Figura 2 -	Esquema do Genoma do Protótipo dos Poliomavírus	6
Figura 3 -	Distribuição dos poliomavírus humanos BK (BKPyV) e JC (JCPyV) de acordo com o sítio de latência	7
Figura 4 -	Distribuição geográfica dos subtipos do BKPyV	8
Figura 5 -	Distribuição geográfica dos subgrupos do subtipo I do BKPyV	9
Figura 6 -	História natural da evolução da infecção pelo BKPyV e evolução para NABKPyV	23
Figura 7 -	Citologia urinária demonstrando as <i>decoy cell</i> com inclusões virais intranucleares típicas (setas). Coloração de Papanicolaou	30
Figura 8 -	Fluxograma1. Triagem para detecção da replicação do BKPyV	49
Figura 9 -	Fluxograma 2. Monitorização da viremia pelo BKPyV	50
Figura 10 -	Fluxograma 3. Descrição dos dados do estudo: pacientes incluídos, pacientes excluídos, óbitos, perdas, e conclusão do seguimento	66
Figura 11 -	Resultados da detecção do BKPyV por citologia urinária (pesquisa de <i>decoy cell</i>) em amostras de urina em relação aos resultados em amostras sequenciais para a detecção de viremia por BKPyV	76
Figura 12 -	Fluxograma 4. Descrição da evolução dos pacientes com <i>decoy cell</i> positiva em relação ao desenvolvimento de viremia por BKPyV	78
Figura 13 -	Evolução em meses desde o transplante renal até o diagnóstico deNABKPyV nos pacientes que tiveram diagnóstico de NABKPyV	82
Figura 14 -	Evolução da viremia por BKPyVnos receptores de transplante de doador vivo de acordo com o resultado da viruria por <i>decoy cell</i> do doador	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição dos doadores e receptores de transplante renal incluídos na coorte, de acordo com os critérios epidemiológicos, tipo de doador, história de diálise pré-transplante e dados do transplante renal	70
Tabela 2 -	Distribuição do tempo de seguimento dos receptores pós-transplante renal, em meses	71
Tabela 3 -	Distribuição do intervalo de tempo entre o transplante renal e a detecção de virúria por <i>decoy cell</i> positiva	72
Tabela 4 -	Tempo entre o transplante renal e primeira viremia por BKPyV positiva.....	79
Tabela 5 -	Tempo entre o transplante renal e o diagnóstico de NABKPyV	81
Tabela 6 -	Descrição da viremia sustentada por BKPyV segundo características de interesse e resultado dos testes estatísticos.....	85
Tabela 7 -	Resultado do modelo de regressão logística múltipla para avaliar conjuntamente a influência das características na ocorrência de viremia sustentada por BKPyV	86
Tabela 8 -	Descrição da NABKPyV segundo características de interesse e resultado dos testes estatísticos	88
Tabela 9 -	Resultado do modelo de regressão logística múltipla para explicar a NABKPyV sem considerar o gênero dos pacientes.....	89
Tabela 10 -	Valores de viremia para os desfechos estudados, viremia sustentada por BKPyV e NABKPyV, e análise da especificidade, VPP e VPN para valores de sensibilidade de 25%, 50% e 75%.....	94

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Distribuição das taxas de viruria por pesquisa de <i>decoy cell</i> , viremia por BKPyV e viremia acima de 10.000 cópias/mL ao longo do seguimento para os casos detectados	74
Gráfico 2 -	Distribuição das taxas de resultados positivos e inconclusivos de viruria por pesquisa de <i>decoy cell</i> ao longo do tempo pós-transplante	75
Gráfico 3 -	Valores de viremia por BKPyV ao longo do tempo pós-transplante para os casos que evoluíram com viremia por BKPyV positiva.....	80
Gráfico 4 -	Estimativas das funções Kaplan-Meier para a ocorrência de viruria, viremia e NABKPyV nos pacientes transplantados de rim	83
Gráfico 5 -	Curva ROC da viremia por BKPyV para discriminação da viremia sustentada	90
Gráfico 6 -	Curva ROC da viremia por BKPyV para discriminação da NABKPyV.....	91
Gráfico 7 -	Curva ROC do tempo de ocorrência da primeira viremia positiva por BKPyV para discriminação da NABKPyV	92

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Soroprevalência em adultos, espécie clínica onde o vírus foi primeiro detectado, espécimes clínicas onde o vírus é detectado e reservatório dos poliomavírus humanos 11
- Quadro 2** - Positividade de *decoy cell* na urina (viruria), q-PCR no sangue (viremia) e NABKPyV e média de tempo entre o transplante renal e a positividade de cada um dos exames22
- Quadro 3** - Distribuição das causas de perda de enxerto e óbito na internação do transplante renal.....67
- Quadro 4** - Distribuição das causas de perda de enxerto, perda de seguimento e óbito no seguimento68
- Quadro 5** - Descrição dos casos de NABKPyV segundo características epidemiológicas e clínicas e desfecho97

RESUMO

Bicalho CS. *Vigilância da replicação do poliomavírus humano BK (BKPyV) e evolução para Nefropatia Associada ao BKPyV (NABKPyV) em pacientes submetidos a transplante renal* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

INTRODUÇÃO: O BKPyV está associado à inflamação e perda da função do enxerto em pacientes transplantados renais. Nos pacientes transplantados renais, aproximadamente 40% dos receptores desenvolvem virúria pelo BKPyV em até 3 meses e 20% desenvolvem viremia em até 1 ano pós-transplante. Os pacientes que desenvolvem viremia têm o risco de evolução para nefropatia associada ao BKPyV (NABKPyV), com prevalência em torno de 1 a 10%, e evolução para perda do enxerto renal bastante variável, de 0 a 100%, dependendo dos estudos e das intervenções realizadas. Embora a vigilância de replicação do BKPyV seja recomendada, existem diferenças de metodologia e periodicidade entre as recomendações publicadas. Adicionalmente, tem sido discutida a importância do *cut-off* de viremia para o manejo clínico desses pacientes na prevenção de evolução para nefropatia. Os objetivos primários deste estudo foram determinar a prevalência de *decoy cell* na urina, viremia e viremia sustentada pelo BKPyV e NABKPyV, nos receptores de transplante renal do Serviço de Transplante Renal do HCFMUSP, e os possíveis fatores de risco associados à presença a viremia sustentada pelo BKPyV e NABKPyV. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo de coorte prospectivo no qual foram incluídos todos os receptores e os doadores de transplante renal intervivos submetidos a transplante de agosto de 2010 a dezembro de 2011. Todos os participantes foram avaliados no momento imediato pré-transplante e os receptores foram monitorados para detecção de viremia de BKPyV e desenvolvimento de NABKPyV durante o período de até 2 anos pós-transplante. Os receptores colheram amostras de urina mensalmente, durante o primeiro ano, e a cada 3 meses durante o segundo ano pós-transplante para a pesquisa de virúria (realizada por *decoy cell* e/ou q-PCR). A detecção de virúria indicava o início de monitorização mensal de viremia por q-PCR, viremia era mantida até obtenção de três amostras de viremia negativas consecutivas. A detecção da primeira viremia positiva deveria ser confirmada por uma segunda amostra colhida após intervalo de duas semanas; se o exame repetido confirmasse a viremia positiva, os pacientes eram submetidos à biópsia renal percutânea para investigação de NABKPyV. **RESULTADOS:** No período do estudo foram realizados 326 transplantes e foram incluídos 246 pacientes. A prevalência de virúria foi de 36,9%, a de viremia 22,3% e a de nefropatia 3,2%. O tempo médio entre o transplante e a virúria positiva pela *decoy cell* foi de 7,2 meses, entre o transplante e a viremia positiva de 7,6 meses, e entre o transplante e o diagnóstico de NABKPyV de 8,5 meses. O único fator de risco encontrado para viremia sustentada e para nefropatia foi gênero masculino. O valor de *cut-off* de viremia que melhor discrimina a evolução para NABKPyV foi 44.955 cópias/mL. **CONCLUSÕES:** As prevalências de virúria, viremia e nefropatia foram semelhantes às reportadas na literatura. O gênero masculino foi o único fato de risco encontrado para viremia sustentada e nefropatia. O valor de *cut-off* de viremia que melhor discrimina

o risco de evolução para nefropatia foi maior que o valor usualmente recomendado pela literatura, que é de 10.000 cópias/mL.

Descritores: polyomavirus; transplante de rim; célula decoy; reação em cadeia de polimerase; nefropatia associada ao polyomavirus.

ABSTRACT

Bicalho CS. *Surveillance of BK human polyomavirus (BKPyV) replication and progression to BKPyV Associated Nephropathy (BKPyVAN) in patients undergoing kidney transplantation* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

INTRODUCTION: BKPyV is associated with inflammation and loss of graft function in kidney transplant patients. In kidney transplantation, approximately 35-47% of recipients develop viruria by BKPyV within 3 months post-transplantation, and 20% develop viremia within one year post-transplantation. Patients who develop viremia are at risk of progression to BKPyV-associated nephropathy (BKPyVAN), with prevalence around 1 to 10%, and a quite variable prevalence of progression to kidney graft loss, ranging from 0 to 100%, depending on the studies and the interventions. Although BKPyV surveillance is recommended, there are differences in methodology and frequency between published recommendations. In addition, the importance of viremia cutoff for clinical management of these patients in the prevention of progression for nephropathy has been discussed. The objectives of this study were to determine the prevalence of decoy cell in urine, BKPyV viremia, BKPyV sustained viremia, and BKPyVAN, in kidney transplant recipients of HCFMUSP Kidney Transplant Service. Additionally, the aim was to determine the possible risk factors associated with the presence of BKPyV sustained viremia and BKPyVAN.

METHODS: This is a prospective cohort study. From August 2010 to December 2011, all recipients and donors of kidney transplant who underwent transplantation were enrolled. All participants were evaluated at immediate pre-transplant and recipients were monitored for detection of BKPyV viremia and development of BKPyVAN for up to two years post-transplantation. All recipients collected urine samples monthly during the first year and every three months during the second year post-transplant for viruria screening (performed by decoy cell and/or q-PCR). Viruria detection indicated the initiation of monthly viremia monitoring by q-PCR. Viremia was maintained until three consecutive negative viremia samples were obtained. The detection of the first positive viremia should be confirmed by a second sample collected after a two-week interval. If repeated examination confirmed positive viremia, the patients underwent percutaneous kidney biopsy to investigate BKPyVAN.

RESULTS: During the study period, 326 transplants were performed and 246 patients were included. The prevalence of viruria, viremia, and nephropathy was, respectively, 36.9%, 22.3%, and 3.2%. The mean time between transplantation and positive viruria by decoy cell was 7.2 months, between transplantation and positive viremia was 7.6 months, and between transplantation and diagnosis of BKPyVAN was 8.5 months. The only risk factor for sustained viremia and nephropathy was male. Viremia cutoff value that best discriminates the progression to BKPyVAN was 44,955 copies/mL.

CONCLUSIONS: The prevalence of viruria, viremia, and nephropathy were similar to those reported in the literature. Male was the only risk factor found for sustained viremia and nephropathy. Viremia cutoff value that best discriminates the risk of progression to nephropathy was

greater than the value usually recommended in the literature, which is 10,000 copies/mL.

Descriptors: polyomavirus; kidney transplantation; decoy cell; polymerase chain reaction; polyomavirus-associated nephropathy

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Poliomavírus

A descoberta dos poliomavírus (PyV) ocorreu de forma acidental na década de 50, quando foram caracterizados como agentes causais de múltiplos tumores em roedores, e a partir daí são nomeados de poliomavírus (do grego Polyque significa muitos e Oma tumores) ^{1, 2}. Na ocasião, Gross et al.¹ descreveram que células extraídas de ratos com leucemia e implantadas em ratos recém-nascidos induziam nestes tumores de parótida ^{1, 2}.

Em 1960, foi identificado o primeiro poliomavírus capaz de infectar primatas, a partir de células renais de macacos utilizados na fabricação de vacinas de poliomielite, e este foi denominado simian vírus 40 (SV40) ³. Estima-se que, no início dos anos 60, aproximadamente 100 milhões de indivíduos tenham recebido vacinas contaminadas com o SV40 ^{2, 3}.

Os primeiros poliomavírus isolados capazes de infectar humanos foram o BKPyV e o JCPyV, ambos identificados em 1971, e nomeados pelas iniciais dos nomes dos pacientes dos quais os vírus foram isolados. O primeiro a ser isolado foi o JCPyV, no tecido cerebral de um paciente com leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP) e linfoma de Hodking ⁴. O BKPyV foi isolado na amostra de urina de um paciente sudanês com estenose uretral que havia sido submetido a transplante renal ⁵.

Após 2007, foram identificados outros poliomavírus em humanos. O terceiro e o quarto foram chamados de KIPyV (Karolinska Institute

poliomavirus) e WUPyV (Washington University poliomavirus) e receberam esses nomes de acordo com as instituições que os identificaram, respectivamente, Instituto Karolinska e Universidade de Washington ^{6, 7}. O quinto, o MCPyV (Merkel Cell poliomavirus), foi assim chamado por ter sido identificado a partir do carcinoma de células de Merkel (MCC) ⁸. O oitavo, o TSPyV (Tricodisplasia spinulosa poliomavírus), recebeu esse nome por ter sido identificado em uma doença rara de pele chamada de tricodisplasia espinulosa (TS) ⁹.

Atualmente, foram identificados mais de 10 PyV ¹⁰. Eles foram assim nomeados:

- De acordo com as iniciais dos nomes dos pacientes nos quais foram isolados, JCPyV e BKPyV;
- De acordo com a patologia associada, MMCPyV e TSPyV;
- De acordo com a ordem de descrição, PyV 7-12;
- Ou ainda de acordo com o local de descoberta do vírus, *Saint Luis* PyV (SLPyV) e *Malawi* PyV (MWPpyV) ¹¹.

A linha do tempo demonstrando a sequência de identificação dos PyV está demonstrada na Figura 1.

Fonte: Adaptado. Feltkamp et al.¹², 2013.

Figura 1- Linha do Tempo da descoberta dos Poliomavírus até o momento

1.1.1 Família Polyomaviridae

Até 1999, os poliomavírus BKPyV, JCPyV e Simian Vírus 40 (SV40) faziam parte da família dos Papovaviridae juntamente com os papillomavírus¹³. Em 1999, os poliomavírus passaram a ser classificados como membros do gênero Polyomavirus na família Polyomaviridae^{13, 14}.

Os membros da família Polyomaviridae apresentam morfologia e estrutura organizacional semelhante². Os vírions são partículas não envelopadas icosaédricas de 40-45 nm de diâmetro, com uma cadeia dupla

de DNA de aproximadamente 5 Kb. Essas partículas são estáveis em altas temperaturas sem perda de infectividade ^{2, 13}.

O genoma dos poliomavírus pode ser dividido em três partes funcionais (Figura 2). A região inicial que codifica duas proteínas não estruturais, a antígeno T grande (LTag) e o antígeno T pequeno (STAg), que facilitam a replicação do genoma viral. A região terminal codifica três proteínas do capsídeo viral, VP1, VP2 e VP3 (viral protein 1, viral protein 2, viral protein 3). No capsídeo viral há predomínio da VP1, que ocupa cerca de 90% da molécula. A região tardia do BKPyV, JCPyV e SV40 codifica uma proteína pequena denominada agnoproteína que não se encontra em nenhum outro poliomavirus; sua função até hoje é pouco conhecida. O terceiro seguimento do genoma é uma região regulatória de controle não codificante (NCCR), também conhecida como região regulatória (RR) ou região de controle transcricional (TCR), que influencia na replicação viral, esta é a região onde estão localizadas as sequências iniciadoras da transcrição e as sequências promotoras da replicação ^{2, 14}.

FONTE: Dalianis et al.², 2013.

Figura 2- Esquema do Genoma do Protótipo dos Poliomavírus

1.1.2 História Natural da Infecção pelo Poliomavírus

Em geral, a transmissão ocorre na primeira infância e as prováveis vias de infecção são a respiratória e/ou a oral¹⁵. Outras potenciais vias de transmissão discutidas na literatura são transmissão durante a gestação, transmissão sexual e por transfusão de produtos sanguíneos e transplante, principalmente transplante renal^{16, 17}.

Acredita-se que, após a primo-infecção, ocorra replicação viral e a exposição de diferentes tecidos, como tecido cerebral, linfoide, hepático e o trato urinário^{15, 16, 17}. A partir de então, o PyV estabelece uma infecção

latente, com persistência do vírus por toda a vida. Os espécimes clínicos onde os poliomavírus são identificados variam de acordo com o vírus; entretanto, o sítio de latência só está bem descrito para os BKPyV e JCPyV, que estabelecem uma infecção latente no trato gênito-urinário (Figura 3) ¹⁸. É possível que o sítio de latência dos KIPyV e WUPyV seja o trato respiratório. Para os demais PyV, o sítio de latência é desconhecido ².

FONTE: Fishman¹⁸, 2002.

Legenda: Know association: associação conhecida, Likely association: associação provável, Other potential sites of infection: outros possíveis sítios de infecção, Skeletal muscle: músculo esquelético, Bone marrow: medula óssea, Stem cells: células tronco, blood cells: células sanguíneas, retina: retina, pituitary tumor: tumor de hipófise, astrocytoma: astrocitoma, brain: cérebro, PML: leucoencefalopatia multifocal progressiva, tonsils: tonsilas, lung: pulmão, heart: coração, liver: fígado, colon: cólon, transplanted kidney: rim transplantado, BKV nephropathy: nefropatia associada ao BKPyV, ureteric strictures ulcers: úlceras de estenose ureterais, BKV cystitis: cistite associada ao BKPyV, bladder: bexiga, entry: entrada, attachment: ligação, transport to nucleus: transporte ao núcleo, viral DNA replication: replicação do DNA viral.

Figura 3 - Distribuição dos poliomavírus humanos BK (BKPyV) e JC (JCPyV) de acordo com o sítio de latência

1.2 BKPyV: Soroprevalência e sorotipos na população geral

A soroprevalência de BKPyV na população em geral é estimada em torno de 40% a 80% ¹⁹. Em pacientes com infecção pelo BKPyV há evidência de reativações com baixa liberação de partículas virais na urina (virúria), principalmente quando ocorre alteração na imunidade, como idade avançada e gestação e isso não tem relevância clínica ²⁰.

Estudos de biologia molecular identificaram quatro sorotipos do BKPyV: I, II, III e IV. Levando em consideração os resultados de análises filogenéticas, o subtipo I pode ser subdividido em quatro subgrupos (Ia, I-b1, I-b2, Ic), e o subtipo IV foi dividido em 6 subgrupos: a1, a2, b1, b2, c1 e c2. Os sorotipos I e IV são os sorotipos predominantes. O sorotipo I é mais prevalente na Europa, África e Ásia, e o sorotipo IV aparece de forma importante na Europa, e no Nordeste e Sudeste da Ásia (Figura 4) ^{21, 22}.

FONTE: Adaptado de Zheng et al.²¹, 2007.

Figura 4- Distribuição geográfica dos subtipos do BKPyV

Na análise por subtipo, encontramos que o subtipo Ia é o mais prevalente na África, o subtipo I-b2 mais prevalente na Europa e no oeste da Ásia, o subtipo I-b1 predomina no sudeste da Ásia e o subtipo Ic corresponde a praticamente 100% dos vírus BKPyV identificados no nordeste asiático (Figura 5)²¹.

FONTE: Adaptado de Zheng et al.²¹, 2007.

Figura 5- Distribuição geográfica dos subgrupos do subtipo I do BKPyV

No Brasil, foi realizado um estudo no Rio de Janeiro, onde se identificou maior prevalência do sorotipo I, com predomínio dos subtipos I-b1 e Ia, detectados em 67% e 29% das amostras estudadas, respectivamente. O sorotipo II esteve presente em 4% das amostras e os sorotipos III e IV não foram encontrados. A análise filogenética indicou semelhanças entre o subtipo Ia brasileiro com as linhagens genéticas da África Oriental e semelhanças do subtipo I-b1 com as linhagens da Ásia e da América do

Norte, enquanto as amostras do subtipo II foram similares às sequências identificadas no Japão e Reino Unido ²³.

Existem importantes evidências epidemiológicas e virológicas de que o BKPyV se adaptou ao hospedeiro humano ao longo do tempo. Essas evidências são, resumidamente, as elevadas taxas de soroprevalências da infecção na população geral, a baixa morbidade associada à infecção pelo BKPyV, a demonstração de reativações com detecção de replicações virais assintomáticas e hospedeiro específico (ser humano) ^{15, 16}. Apesar de sua ampla distribuição na população geral, foi apenas após o advento do uso sistemático da terapia imunossupressora no transplante renal, que surgiram os primeiros relatos de que o vírus era capaz de provocar doença em humanos ²⁴.

Os dados de soroprevalência em adultos, espécime clínica onde o vírus foi primeiramente identificado e onde o vírus é habitualmente detectado, além de seu reservatório, estão compilados no quadro abaixo (Quadro 1).

Quadro 1 - Soroprevalência em adultos, espécie clínica onde o vírus foi primeiro detectado, espécimes clínicos onde o vírus é detectado e reservatório dos poliomavírus humanos

HPyV	Soroprevalência em adultos	Espécie clínica onde o vírus foi 1º detectado	Espécimes clínicos onde o vírus foi detectado	Reservatório
JCPyV	40–70% ²⁵⁻²⁹	Tecido cerebral	Urina, fezes, saliva, sangue, liquor	Trato genito-urinário
BKPyV	80–100% ²⁵⁻²⁹	Urina		
MCPyV	40–80% ^{26, 29-31}	Tecido de Carcinoma de células de Merkel	Amostras respiratórias e de pele, fezes	Desconhecido
TSPyV	70% ³²	Tecido de Tricodisplasia spinulosa	Swabs de pele, amostras respiratórias, fezes, urina e tecido renal	Desconhecido
KIPyV	55–90% ^{26,30}	Amostras respiratórias	Amostras respiratórias, fezes, sangue, liquor	Trato respiratório?
WUPyV	70–100% ²⁶⁻³⁰			
HPyV6/ 7	60% ³³	Swabs de pele	Swabs de pele, amostras respiratórias, fezes, urina	Desconhecido
HPyV9	21 - 53% ^{34,35}	Sangue	Swabs de pele, amostras respiratórias, fezes, urina, sangue	
HPyV10	Não avaliado	Fezes, tecido condiloma	Amostras respiratórias, fezes	
SLPyV	Não avaliado	Fezes	Fezes, urina	
HPyV12	23 – 33%	Fezes	Fezes	

Fonte: Adaptado de: Egli et al.²⁵, 2009, Kean et al.²⁶, 2009, Knowles et al.²⁷, 2003, Antonsson et al.²⁸, 2010, Viscidi et al.²⁹, 2011, Carter et al.³⁰, 2011, Pastrana et al.³¹, van der Meijden et al.³², 2011, Schowalter et al.³³, 2010, Nicol et al.³⁴, 2013, Trusch et al.³⁵, 2012, Korup et al.³⁶, 2013.

1.2.1 Associação da infecção por poliomavírus e doença

A relação da infecção com o desenvolvimento de doença não está estabelecida para a maioria dos PyV. O BKPyV está associado à nefropatia e cistite hemorrágica e o JCPyV está associado à LEMP¹⁸. O KIPyV e WUPyV são vírus habitualmente encontrados em amostras de trato respiratório e são comumente identificados em associação a outros vírus respiratórios em pacientes sintomáticos, mas a relação da presença desses

vírus com doença respiratória ainda não está estabelecida ². O TSPyV está associado a tricotodisplasia spinulosa (TS) ¹⁴, uma patologia rara de pele descrita apenas em pacientes imunocomprometidos, na sua maioria transplantados renais, e o MCPyV está associado ao MCC, um tumor cutâneo de evolução agressiva, que ocorre principalmente em pacientes idosos ¹⁴. Os demais PyV não estão associados a nenhuma doença clínica até o momento ¹⁴.

Considerando a ampla distribuição da infecção pelos PyV na população geral e a baixa incidência de doenças associadas a determinados PyV, acredita-se que, para ocorrer o desenvolvimento das doenças associadas ao BKPyV, JCPyV, TSPyV e MCPyV seja necessário um fator específico do hospedeiro, ainda não conhecido, além da presença da imunodepressão ². A imunodepressão é uma condição provavelmente necessária ao desenvolvimento de doença associada ao PyV. É possível observar essa associação na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o JCPyV causando a LEMP, na ocorrência de cistite hemorrágica ou NABKPyV, nos pacientes transplantados de células tronco hematopoiéticas (TCTH) ou transplantados renais, respectivamente, nos casos de TS nos pacientes com doença onco-hematológica ou transplantados de órgãos sólidos ou na associação do MCC em pacientes idosos ^{19, 37}.

Assim sendo, as patologias associadas aos PyV são provavelmente um resultado das contribuições relativas à replicação viral, à relação do hospedeiro-vírus e à resposta inflamatória do hospedeiro ^{2, 15}. Em 2005,

Hirsch ¹⁵ sugeriu cinco padrões de patologia para descrever as doenças relacionadas aos PyV. São eles:

1. Doença por PyV com padrão citopático: caracterizada pela morte de células infectadas, decorrente da alta replicação viral, sem inflamação significativa. Nesse perfil se encaixa a LEMP, na qual a perda celular por ação citopática de oligodendrócitos infectados é suficiente para explicar os déficits neurológicos, os achados neurorradiológicos e a progressão da doença, sem resposta inflamatória associada.
2. Síndrome de Reconstituição Imune (SIRI): resposta inflamatória importante aos antígenos dos PyV, que ocorre na cistite hemorrágica associada ao BKPyV pós-TCTH.
3. Patologia citopático-inflamatória: importante replicação viral e resposta inflamatória significativa com destruição celular, necrose, e infiltração de granulócitos e linfócitos. O modelo dessa patologia é encontrado na NABKPyV estágio B em receptores de transplante renal.
4. Patologia Autoimune associada ao PyV: e, principalmente, o lúpus eritematoso sistêmico, que pode ser desencadeado por antígenos virais ³⁸.
5. Patologia Oncogênica associada ao PyV: na qual os PyVs representam, principalmente, um gatilho celular para o desenvolvimento de um determinado tipo de câncer, como no modelo do MCC associado ao MCPyV.

1.3 Transplante de órgão sólido (TOS)

Nos últimos 60 anos, a realização de transplantes de órgãos sólidos mostrou-se um dos efeitos terapêuticos mais notáveis na medicina. O desenvolvimento desse procedimento, que inicialmente podia ser chamado de “experimento clínico”, provou ser uma prática clinicamente eficaz ³⁹.

As primeiras menções históricas sobre transplante surgem com o conto de São Cosme e Damião, de Aleppo (Século IV), que supostamente substituiu a perna gangrenada de um paciente pela de um cadáver, com a ajuda dos anjos. O primeiro transplante renal no homem foi realizado em 1933, por Yuri Voronoy, um cirurgião ucraniano, para tratar uma paciente de 26 anos com insuficiência renal aguda, causada por envenenamento por mercúrio. Em 1963, Thomas E. Starzl realizou o primeiro transplante de fígado e, em 1967, Christian Barnard realizou o primeiro transplante cardíaco ^{39, 40}. Apesar do sucesso cirúrgico e clínico garantir o sucesso dos transplantes em curto prazo, observados nas décadas de 1950 e 1960, a evolução para rejeição limitava a sobrevida de enxertos e pacientes ⁴⁰.

A introdução da imunossupressão iatrogênica no receptor, durante o período pós-transplante, foi um avanço fundamental para quebrar a barreira da incompatibilidade genética e propiciar o sucesso dos transplantes em longo prazo ³⁹. Em 1978, a adoção da ciclosporina, uma droga imunossupressora para evitar a evolução para rejeição, revolucionou a história do transplante em todo o mundo. Outros avanços técnicos na área de transplante ocorreram ao longo da década de 1980, como a padronização

das técnicas de explante dos órgãos sólidos. O surgimento de novos medicamentos imunossupressores e o desenvolvimento de uma solução de conservação de órgãos aumentaram o sucesso dos transplantes no mundo ^{39,40}. Também foi Thomas Starzl, anos mais tarde, quem demonstrou a eficácia de uma combinação de imunossupressores na abordagem do transplantado. Atualmente, os esquemas de imunossupressão tendem a apresentar menos efeitos colaterais e maior sobrevida do enxerto ⁴⁰.

Dessa forma, TOS tornou-se uma opção terapêutica viável para o tratamento de falências de órgãos. Foram criados inúmeros centros transplantadores, inicialmente concentrados nos Estados Unidos e na Europa.

Contudo, se a inovação das técnicas cirúrgicas e do manejo do paciente no pós-transplante, nos últimos 50 anos, resultou em menores taxas de complicações cirúrgicas e de rejeição, a melhora da potência dos imunossupressores resultou em aumento da incidência das infecções ¹⁹.

Desde os primórdios da história dos transplantes as infecções se mantêm como importante causa de diminuição da sobrevida do enxerto e de óbito com enxerto funcionante ^{39, 40}. Em 1967, Hill et al.⁴¹ descreveram os resultados dos primeiros 125 receptores de órgãos sólidos na Universidade de Colorado. Nesse estudo, os pacientes receberam uma combinação variável de irradiação, esplenectomia e timectomia no pré-transplante, e doses elevadas de corticoides no pós-transplante. As primeiras 60 mortes relatadas evidenciaram alta taxa de infecções por bactérias oportunistas, infecções fúngicas, virais e por protozoários, e muitos desses episódios de

infecção não foram diagnosticados e tratados antes de evoluir para o óbito. O patógeno dominante foi o citomegalovírus (CMV) em 50% (30/60) de autópsias ⁴¹.

Diversos fatores de risco estão associados às complicações infecciosas no período pós-transplante, relacionados ao procedimento cirúrgico, às características do paciente e ao uso de imunossupressores permanentes ^{42, 43}. Durante as seis primeiras semanas após o transplante, o paciente pode desenvolver infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAs). As principais IRAs são as infecções de sítio cirúrgico e as infecções relacionadas ao uso de dispositivos invasivos utilizados por esses pacientes (infecção do trato urinário associada à sonda vesical de demora, infecção de corrente sanguínea associada ao uso de cateter vascular e pneumonia associada à ventilação mecânica) ^{42, 43}. No período após seis semanas e até seis meses pós-transplante, ocorrem predominantemente as infecções relacionadas à imunossupressão, caracterizando as infecções oportunistas. Dentre as infecções oportunistas, a infecção pelo CMV é a mais importante; aproximadamente 75% dos transplantados são infectados ou reativam a infecção pelo CMV no período pós-transplante ^{42, 43, 44}. A partir de seis meses pós-transplante, o risco de infecção é, em grande parte, decorrente do efeito permanente da imunossupressão, ainda que em níveis menores do que a imunossupressão observada nos primeiros meses pós-transplante e da situação epidemiológica do receptor ^{42, 43}. Em qualquer momento da evolução do pós-transplante, o uso de drogas imunossupressoras para o tratamento de rejeições determina um maior risco das doenças oportunistas.

Antes da década de 1980, as infecções graves no primeiro ano após o transplante ocorriam em três quintos dos receptores, associadas à mortalidade de 50%. Atualmente, a mortalidade associada às infecções no primeiro ano é de 5%. Assim sendo, as complicações infecciosas continuam a ser uma séria ameaça para o transplante bem sucedido e se tornaram um fator de risco independente para a diminuição da sobrevida do enxerto e do receptor ⁴⁵.

A diminuição da mortalidade associada à infecção se deve a alguns fatores, como a melhora das rotinas de prevenção e profilaxia, do arsenal diagnóstico e das opções terapêuticas. Importantes avanços foram conduzidos para a profilaxia de doenças como CMV, toxoplasmose e pneumocistose, nos grupos de risco para desenvolvimento das mesmas, além da opção da terapia preemptiva (ou pré-sintomática) para doença por CMV ⁴⁶.

Adicionalmente aos efeitos diretos das infecções virais, associadas ao aumento da morbidade e mortalidade, também são bem conhecidos os efeitos indiretos das infecções virais ^{43, 47}. Esses efeitos indiretos estão mais bem descritos para o CMV, e incluem: lesão tecidual do enxerto (como glomerulonefrite no transplante renal, síndrome da varredura do ducto biliar no transplante hepático e bronquiolite obliterante no transplante pulmonar); aumento na replicação de outros vírus, como os herpes vírus e vírus da hepatite C, aumento da suscetibilidade a doenças linfoproliferativas pós-transplante (PTLD) e aumento do risco de infecções concomitantes por outros agentes, como aspergilose e pneumocistose ^{43, 47}.

1.3.1 Transplante renal

O transplante renal oferece aos pacientes em estágio final de doença renal melhora da sobrevida e da qualidade de vida, em comparação com a diálise ⁴⁸.

Em 23 de dezembro de 1954, o primeiro transplante renal bem sucedido foi realizado pelos cirurgiões Joseph Murray e Hartwell Harrison, juntamente com o nefrologista John Merrill na cidade de Boston, nos Estados Unidos. O doador e o receptor eram gêmeos idênticos. A cirurgia foi bem sucedida e o receptor sobreviveu por mais de duas décadas ⁴⁵. Foi na década de 60 que o transplante renal se estruturou, porém foi na década de 70, que ele se consolidou com a introdução da ciclosporina ^{39, 40}. O primeiro transplante renal no Brasil foi em 21 de janeiro de 1965 no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. O paciente recebeu o rim do irmão e viveu por oito anos após o transplante ⁴⁹.

Na década de 80, graças aos regimes de imunossupressão a taxa de sobrevida do enxerto renal alcança 89% em 1 ano ³⁹. Nos últimos anos, com o aperfeiçoamento do “crossmatching” entre doadores e receptores, com a melhoria das técnicas de imunossupressão e a disponibilidade de bombas de perfusão para manter a integridade do enxerto antes do implante, houve elevação da taxa de sobrevida do enxerto em um ano para níveis superiores a 90% e a sobrevida em cinco anos em mais de 85% ⁴⁵.

Assim como nos demais transplantes, a evolução da imunossupressão reduziu a incidência de rejeição aguda do enxerto, mas

aumentou o risco de infecção e doenças malignas mediadas por vírus ^{43, 45}. Após o transplante bem-sucedido, equilibrar os efeitos crônicos e muitas vezes deletérios da imunossupressão, com possíveis danos imunes causados por seu uso crônico, passou a ser desafio clínico chave para os médicos de transplante na atualidade ⁴⁸.

1.4 BKPyV e transplante

O primeiro trabalho que descreve a infecção pelo BKPyV no transplante renal foi publicado em 1973. Trata-se de estudo realizado no Hospital St. Mary, em Londres, cujos autores encontraram 13,5% de excreção renal de PyV entre 74 pacientes estudados por citologia e microscopia eletrônica na urina, com confirmação da excreção do BKPyV por cultura celular ⁵⁰.

O BKPyV pode causar inflamação do enxerto renal e nefropatia. Porém, até a década de 1990, são encontradas apenas algumas descrições de pacientes transplantados renais que, em algum momento do seguimento pós-transplante, apresentaram perda de função renal e diagnóstico de nefropatia associada ao BKPyV (NABKPyV). A partir de 1990, vários centros transplantadores começam a reportar o aumento dos casos de NABKPyV. Apesar dos avanços significativos no procedimento e manejo dos transplantes, a NABKPyV se torna um fator limitante da sobrevida do enxerto ⁵¹.

Nos demais TOS (fígado, coração e pulmão) e no TCTH, a NABKPyV é um evento raro, apesar da utilização de esquemas imunossupressores semelhantes, ou até mais intensos do que o utilizado no transplante renal, o que leva a crer que a nefropatia relacionada ao vírus seja multifatorial, e que o microambiente do enxerto renal seja mais vulnerável à ação do vírus, em relação ao rim nativo ¹⁵. Entretanto, a prevalência precisa da NABKPyV em outros TOS, que não transplante renal, é desconhecida, uma vez que os receptores não são comumente monitorados para a presença de virúria ou viremia pelo BKPyV, e a perda da função renal não é necessariamente avaliada por biópsia. Porém, todos os pacientes pós-TOS têm o potencial de reativação do BKPyV e aparecimento de viremia sob imunossupressão ⁵². Em um pequeno estudo sobre NABKPyV pós-TOS, a incidência de viremia para BKPyV foi de 7% nos transplantados de coração, enquanto nos transplantados renais, os autores encontraram uma incidência de 12,2% ⁵³.

No transplante de fígado, em 2009, foi publicado um estudo prospectivo com 62 receptores acompanhados na semana 1 e nos meses 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 com coleta de amostras de sangue e urina para detecção do vírus por biologia molecular. A viremia positiva ocorreu em 11 pacientes (18%) e virúria positiva em 13 pacientes (21%) ⁵⁴. Em 2015 foi publicado o primeiro caso confirmado de NABKPyV de rim nativo em paciente submetido a transplante de fígado e este ocorreu 7 anos após o transplante ⁵⁵. Até esse estudo, não havia evidência da relação entre viremia e disfunção renal em transplante de fígado.

No transplante cardíaco foram relatados, até 2015, sete casos de NABKPyV. Esses receptores tiveram evolução da NABKPyV desfavorável, provavelmente pelo diagnóstico tardio e poucas opções terapêuticas ⁵².

No transplante de pulmão foram relatados apenas dois casos de NABKPy. O primeiro caso ocorreu 15 meses pós-transplante e o segundo, 63 meses pós-transplante. Em nenhum dos casos houve evolução para perda da função renal ⁵⁶.

No TCTH, o BKPyV é o principal agente infeccioso da cistite hemorrágica, responsável por 5-15% dos casos ⁵⁷. A cistite hemorrágica é definida como uma inflamação da bexiga devido a causas infecciosas ou não infecciosas que resulta em sangramento da mucosa, caracterizada por hematúria microscópica, disúria e hematúria franca ^{57, 58}.

1.4.1 História natural do BKPyV no transplante renal

Os estudos dos autores Hirsch et al.⁵⁹ e Brennan et al.⁶⁰ foram a base do conhecimento da história natural do BKPyV no transplante renal. Os resultados desses dois estudos estão resumidos no Quadro 2. Eles descrevem a prevalência de virúria, viremia e NABKPyV em coorte de pacientes transplantados renais. Nesses estudos foram utilizados métodos diferentes para a pesquisa de virúria, o estudo suíço utilizou *decoy cell* e o estudo americano utilizou PCR. Apesar disso, a prevalência da virúria ficou em torno de 30%. A pesquisa de viremia apresentou prevalência de 10% e de nefropatia confirmada por biópsia renal 6% ^{59, 60}. O tempo médio de

detecção de viruria e viremia foram menores no estudo americano em relação ao suíço.

Quadro 2 - Positividade de *decoy cell* na urina (viruria), q-PCR no sangue (viremia) e NABKPyV e média de tempo entre o transplante renal e a positividade de cada um dos exames

Local do Estudo	N	Viruria		Viremia		NABKPyV	
		Positividade	Tempo pós-transplante (média e intervalo)	Positividade	Tempo pós-transplante (média e intervalo)	Positividade	Tempo pós-transplante (média e intervalo)
Basel, Suíça ⁴⁷	78	23 (29,5%)	16 sem (2 – 69 sem)	10 (12,8%)	23 sem (4 – 73 sem)	5 (6,4%)	29 sem (8 – 86 sem)
Washington, EUA ⁴⁸	200	70 (35%)	40,5 dias (0-415 dias)	23 (11,5%)	60 dias (18-276 dias)	-	-

FONTE: Adaptado de Hirsch et al.⁵⁹, 2002 e Brenann et al.⁶⁰, 2005.

Em 2003, especialistas se reúnem em Basel, na Suíça, para discutir e analisar toda a informação existente sobre a NABKPyV com o objetivo de desenvolver recomendações baseadas em evidências para o rastreio, diagnóstico e manejo da NABKPyV⁶¹.

Uma vez que a replicação viral é risco para o desenvolvimento de NABKPyV, é recomendado a monitorização da replicação viral na urina e/ou no sangue, com pesquisa de *decoy cell* e/ou pesquisa viral por reação em cadeia de polimerase (PCR) na urina (viruria) e no sangue (viremia) para o manejo dos pacientes e prevenção da NABKPyV^{59, 60, 61}.

No transplante renal, aproximadamente 35-47% dos receptores desenvolvem viruria pelo BKPv, em até 3 meses pós-transplante e 20% desenvolvem viremia em até um ano pós-transplante¹⁹. A progressão de

viruria para viremia ocorre em aproximadamente 10 a 15%, e a incidência de NABKPyV confirmada por biópsia ocorre em 1 a 10% ⁶². A reativação do BKPyV ocorre em média três meses após o transplante, mas há relatos de casos tardios de reativação, com 1 a 2 anos pós-transplante ¹⁹. A perda do enxerto pode ocorrer em até 46,2% dos casos, com variações de 0 a 100% dependendo do estudo e das intervenções realizadas ⁶¹. Um estudo do hospital da Mayo Clinic, em Rochester, Estados Unidos da América, evidenciou um aumento da prevalência de NABKPyV de 1% em 1995 para 5% em 2005 ⁶³.

FONTE: Adaptado de Hirsh et al. ⁵⁹, 2002.

Figura 6 - História natural da evolução da infecção pelo BKPyV e evolução para NABKPyV

Embora os resultados de transplante renal tenham melhorado muito com a introdução de novos agentes imunossupressores que diminuiriam as taxas de rejeição do enxerto, uma parcela importante dos receptores

continua apresentando perda da função do enxerto^{19, 59, 62, 64}. A infecção pelo BKPyV hoje é a principal causa infecciosa de perda de enxerto renal^{19, 59, 62, 64}.

1.4.2 Fisiopatogenia da reativação do BKPyV e da NABKPyV no transplante renal

Apesar da reativação da replicação viral do BKPyV ser um evento prevalente no pós-transplante renal, a sua fisiopatologia ainda é pouco compreendida⁶⁵. Os mecanismos envolvidos na resposta imune a esse agente incluem a resposta imune inata, a resposta humoral e a resposta celular:

- Resposta imune inata: trata-se da primeira linha de defesa contra um patógeno, a qual está presente em poucas horas após a invasão antigênica, funcionando como primeira linha de defesa após as barreiras físicas de proteção. Ela tem uma característica de resposta inespecífica, ou seja, possui receptores de reconhecimento de padrões (PRPs) inespecíficos capazes de se ligarem a diversos padrões moleculares ligados a patógenos (PAMPs). Seus componentes de ação são constituídos pelas células *natural killer* e células ativadas por linfocinas e linfócitos T $\gamma\delta$ não restritos ao MHC. Se, por um lado, a imunidade inata tem uma função importante no impedimento da reativação do BKPyV, por outro lado, ela também pode ter um papel prejudicial

na NABKPyV, como demonstrado no estudo realizado a partir de biópsias de pacientes com nefropatia, revelando que a ativação da resposta inata, principalmente a via TLR3, está implicada na diminuição da capacidade do hospedeiro de controlar a replicação viral ⁶⁶.

- Resposta imune adquirida
 - Resposta imune humoral: o papel da imunidade humoral ainda não está claro na regulamentação da atividade do BKPyV. Os anticorpos específicos do BKPyV estão presentes em 40% a 80% da população ¹⁹. Estudos realizados em receptores pediátricos de transplante renal mostraram que a soronegatividade ao BKPyV encontra-se relacionada a um maior risco de replicação no pós-transplante ^{67, 68}. Contudo, mesmo tendo experimentado a resposta humoral esta não oferece proteção contra a replicação do vírus e desenvolvimento de NABKPyV no pós-transplante. Nas coortes de receptores de transplante de rim, nos pacientes que apresentaram altos níveis de virúria ou viremia, o aumento dos títulos de anticorpos específicos contra o BKPyV acompanhou a duração da replicação viral ^{69, 70, 71, 72}.
 - Resposta imune celular: os primeiros estudos de BKPyV demonstraram que o controle da replicação viral se correlacionava com o surgimento de uma resposta celular específica contra o BKPyV ^{73, 74}. Um estudo longitudinal

evidenciou que os receptores renais com reativação de BKPyV tinham níveis indetectáveis de células secretoras de INF- γ específicas de BKPyV. Outro achado importante evidencia que a diminuição da imunossupressão associada à diminuição da carga viral do BKPyV na urina e no sangue leva a um consequente aumento das células T específicas contra o vírus ⁶⁹. Resultados obtidos em um estudo em indivíduos saudáveis revelaram uma resposta celular contra o antígeno T largo do BKPyV, antígeno T pequeno e as proteínas VP1, VP2 e VP3, mas nenhum antígeno imunodominante foi identificado ^{75, 76}. Comoli et al.⁷⁷ demonstraram que a presença do antígeno T largo específico (BKPyV TL-antígeno específico), mas não VP1 específico, no pós-transplante imediato protege o receptor do risco de desenvolvimento de viruria. Nos pacientes com viruria a emergência do BKPyV LT antígeno específico está associado à proteção para desenvolvimento de viremia.

Apesar de vários estudos se concentrarem nas células específicas de imunidade do BKPyV, não está claro se a resposta ao vírus é mediada preferencialmente por linfócitos T CD4 ou CD8 ⁶⁹. Estudo publicado recentemente sugere um modelo de controle da replicação do BKPyV no qual as células T que expressam citocinas monofuncionais se mostraram eficazes em suprimir baixos níveis de viremia, porém para o controle de níveis de viremia acima de 1.000 cópias/mL, as células TCD8+ efetoras de

memória policlonais pareceram ser essenciais para o clareamento viral, através da produção de interleucinas pró-inflamatórias como IL-2, TNF- α e INF- γ , reduzindo assim a inflamação que leva a perda da função do enxerto. Nesse estudo os controladores de vírus BKPyV, definidos como aqueles que apresentaram viremia por até três meses ou menos, tiveram um aumento de 11 vezes na frequência de células T CD8 + polifuncionais expressando múltiplas citocinas, em comparação com paciente com episódios de viremia prolongados por BKPyV ⁷⁸.

O conhecimento da resposta imunológica no controle viral é importante para otimizar a vigilância e o manejo dos pacientes sob maior risco de replicação viral e evolução para nefropatia.

O ideal seria termos uma ferramenta de diagnóstico imunológico que identificasse as alterações imunológicas as quais levariam ao desenvolvimento da nefropatia para que pudessemos melhor manejar o ajuste da terapia imunossupressora dos pacientes sob risco com base na resposta imune ao BKPyV, e assim impedir o desenvolvimento da doença ⁷⁸. Entender o mecanismo de controle da replicação viral e o desenvolvimento de uma resposta de células T CD8+ polifuncional levará a avanços no estudo da infecção pelo BKPyV e abrirá possibilidades para opções de tratamento com imunomodulação, com consequente promoção da resposta imune antiviral, sem aumentar o risco de rejeição do enxerto ⁷⁸.

Na NABKPyV, a evolução para perda da função renal e do enxerto ocorre tanto pela própria nefropatia desencadeada pelo vírus, com efeitos tóxicos do vírus no tecido renal causando descamação das células epiteliais

na urina e indução de uma resposta inflamatória no interstício tubular com consequente fibrose, como pela rejeição aguda desencadeada pela diminuição da imunossupressão para o controle replicação viral ⁶⁵.

1.4.3 Vigilância da replicação do BKPyV

Diferentes testes de triagem para o diagnóstico dos poliomavírus têm sido desenvolvidos, entre os quais se destacam a citologia com demonstração de células contendo inclusões virais (*decoy cell*) em urina, a detecção de DNA do BKPyV ou mRNA do gene VP-1 em urina ^{61, 64}, e a detecção de DNA em plasma ⁶⁰.

Embora a vigilância do BKPyV seja recomendada, existem diferenças de metodologia e periodicidade entre as recomendações publicadas. Em 2005, o protocolo de Brennan et al.⁶⁰ indicou coletas de virúria e viremia com duas semanas, 1,2, 3, 6 e 12 meses pós transplante. Em 2009, Babel et al.⁷⁹ realizaram a vigilância semanal de 0 a 16 semanas pós-transplante. Em 2011, Alméras et al.⁸⁰ realizaram a vigilância mensal de 0 a 6 meses pós-transplante e após 12 meses pós-transplante. Em 2009, o KIDGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) publica uma recomendação para vigilância da replicação do BKPyV mensal até o terceiro mês pós-transplante, e trimestral até o primeiro ano ⁸¹. Além de seguir as recomendações do KIDGO, o *guideline* europeu, publicado em 2014, recomenda que a vigilância se estenda até o segundo ano e reforça a indicação de que a pesquisa do BKPyV deve ser coletada adicionalmente a

qualquer momento do período pós-transplante se o paciente apresentar piora da função renal ⁸².

A pesquisa da virúria pode ser realizada pela pesquisa de *decoy cell* na urina ou por técnicas de biologia molecular na urina ou no sangue. A *decoy cell*, cuja tradução é “células de engodo”, são assim denominadas por se tratar de células epiteliais com corpos de inclusão virais (Figura 7) ⁸³. A presença de *decoy cell* é sugestiva de virúria; contudo, há limitações de sua interpretação, uma vez que, através desse método, não é possível fazer a distinção entre BKPyV e JCPyV, bem como a distinção com outros agentes virais, como o CMV e o adenovírus ^{59, 62}. Nos casos de presença de *decoy cell* positiva, é necessário confirmar a replicação pelo BKPyV por técnica de biologia molecular no sangue e/ou na urina ^{84, 85}.

FONTE: Adaptado de Hirsh et al.⁵⁹, 2002.

Figura 7 - Citologia urinária demonstrando as *decoy cell* com inclusões virais intranucleares típicas (setas). Coloração de Papanicolaou

Ensaio quantitativo de carga viral baseado na detecção de ácidos nucleicos na urina ou no sangue estão sendo amplamente utilizados para o diagnóstico de replicação do BKPyV^{60, 64}. Porém, o maior limitante da ampla utilização deles é o custo; além disso, por apresentarem uma maior sensibilidade, acabam ampliando a necessidade de vigilância, se comparado com a pesquisa de virúria por citologia urinária⁸⁶. A presença de virúria tem baixa especificidade para o diagnóstico de NABKPyV; contudo, viremia apresenta um bom valor preditivo para o desenvolvimento de NABKPyV⁸⁷.

No entanto, diversos centros de transplante renal optam por utilizar a citologia urinária como a principal técnica de triagem^{59, 60}, com boa sensibilidade e menor custo, reservando as técnicas de PCR, sobretudo em sangue, para os casos com presença de *decoy cell* na urina.

No Brasil, alguns estudos descreveram a prevalência do BKPyV nos pacientes transplantados renais. Em 2010, Montagner et al.⁸⁸, recorrendo às técnicas de citologia, PCR e biopsia, determinaram que a prevalência de viruria por *decoy cell*, viruria por PCR e viremia por PCR para BKPyV em pacientes renais foi, respectivamente, de 25%, 61,7% e 42,5%. Em 2011, um estudo envolvendo 295 pacientes oriundos de três diferentes grupos – transplantados renais, doentes renais crônicos e grupo de controle – Pires et al.⁸⁹ encontraram prevalências de BKPyV de 30,5% entre os pacientes transplantados contra 22,4% no grupo de controle e apenas 3,9% dos pacientes crônicos apresentaram diagnóstico positivo para o vírus.

Atualmente, tem sido discutida a importância do *cut-off* de viremia para o manejo clínico dos transplantados renais como sugerido por muitos autores⁶⁰. Em 2005, Hirsch et al.⁶¹ publicaram um estudo com especificidade de 93% e sensibilidade de 70% para valores de viremia acima de 10.000 cópias/mL e de viruria acima de $6,5 \times 10^5$ cópias/mL para evolução para NABKPyV. Em 2011, Pollara et al.⁹⁰ demonstraram que uma viremia com 41.000 cópias/mL tem especificidade para evolução para NABKPyV de 100%. Em 2013, Elfadawy et al.⁹¹ encontraram um *cut-off* de viremia de 185.000 cópias/mL para evolução para nefropatia, com sensibilidade e especificidade de 97% e 75%, respectivamente. Essas

diferenças encontradas nos níveis de corte de viremia com possibilidade de prever a evolução para NABPKyV provavelmente são decorrentes de características da própria coorte de pacientes avaliados, com diferentes riscos imunológicos e terapia de imunossupressão variáveis, bem como da não padronização da técnica de q-PCR ⁹². Esses achados evidenciam a importância de cada centro de transplante renal ter conhecimento dos seus dados de prevalência de replicação do BKPyV e NABKPyV e definir o melhor valor de *cut-off* que melhor discrimine o risco de evolução para nefropatia.

1.4.4 Nefropatia associada ao BKPyV (NABKPyV)

A maioria dos casos de NABKPyV ocorre no primeiro ano pós-transplante, mas cerca de 25% pode ocorrer mais tardiamente ^{59, 60}. A evolução para perda da função renal e do enxerto pode variar de 10 a 80%, dependendo das rotinas de diagnóstico e intervenção dos casos de NABKPyV confirmados ou prováveis ⁹³.

Nos estudos, até o presente momento, nenhum fator de risco está uniformemente associado à NABKPyV, significando provavelmente que a patogênese da NABKPyV envolve a interação de múltiplos fatores, que incluem características do paciente e do órgão transplantado, imunossupressão e o próprio vírus ⁹⁴.

Em alguns estudos, o desenvolvimento de NABKPyV tem sido associado a fatores de risco relacionados ao paciente, tais como, idade avançada e gênero masculino ^{95, 96}, etnia branca ^{96, 97}, *diabetes mellitus* ^{96, 97, 98},

uso de *stent* urinário^{99, 100}, rejeição aguda¹⁰⁰ e sorologia negativa para o BKPyV em receptores pediátricos^{67, 98}. Entretanto, uma sorologia pré-transplante positiva para o BKPyV não confere proteção ao indivíduo contra a replicação viral, viremia e NABKPyV^{59, 60, 101}. Um estudo, publicado recentemente por Wunderink et al.¹⁰², evidenciou que na população adulta o nível de IgG do doador estava fortemente relacionado à carga viral e evolução para NABKPyV no receptor. Além dos fatores citados acima, muito se discute na literatura se o doador com virúria e/ou viremia positiva no pré-transplante influenciaria a evolução do receptor para nefropatia. Em 2012, Thakur et al.¹⁰³ evidenciaram que o par doador/receptor com viremia positiva no pré-transplante acarretava ao receptor um maior risco de evolução para NABKPyV no pós-transplante.

De forma geral, a imunossupressão aparece como importante fator de risco para o desenvolvimento de NABKPyV, isto se deve particularmente à intensidade desta no receptor, e não há, até o presente momento, identificação de um esquema específico de imunossupressão com maior risco de evolução para nefropatia^{60, 64}. Em 2005, foi publicado um estudo no qual o objetivo era avaliar a incidência de virúria, viremia e nefropatia nos receptores de transplante renal em uso de tacrolimo (TAC) e comparar com aqueles que estavam em uso de ciclosporina. Nesse estudo, foram randomizados 200 receptores, 134 receberam TAC e 66 receberam ciclosporina; ao final de um ano, 70 receptores (35%) desenvolveram virúria e 23 (11,3%) desenvolveram viremia. Os autores não encontraram associação entre virúria e viremia com uso de TAC ou ciclosporina⁶⁰.

Devido à capacidade de latência dos poliomavírus no rim, é sugerido que o próprio órgão transplantado com presença de poliomavírus possa ser um fator de risco para o desenvolvimento da NABKPyV ¹⁰⁴.

O diagnóstico da NABKPyV é confirmado por biópsia renal, com identificação de inclusões virais nas células epiteliais (túbulos renais, cápsula de Bowman); a confirmação é feita através de imunohistoquímica pelo SV40. Os poliomavírus JCPyV e BKPyV compartilham 72% de homologia em sua sequência de DNA e 70% com o SV40 ⁶³. Dessa forma, a imunohistoquímica positiva pelo SV40 não é capaz de diferenciar os BKPyV do JCPyV ^{18, 79}.

O diagnóstico de NABKPyV segue a classificação de acordo com o seguinte critério: estádios A - alterações citopáticas virais nenhuma ou pouca inflamação; B - alterações citopáticas virais, inflamação intersticial e atrofia de túbulos renais e C - intensa fibrose e pouco efeito citopático ⁶⁴. Importante ressaltar que o trabalho realizado em 2004 por Drachenberg et al.⁸⁷ demonstrou que a porcentagem de perda de enxerto está diretamente relacionada ao diagnóstico da NABKPyV em estadio mais tardio. Em pacientes com estágio A, a perda do enxerto foi de 12,9% e nos pacientes com estágio C chegou a 100% ⁸⁷.

O manejo dos pacientes que apresentam viremia positiva envolve diminuição das doses dos imunossupressores. No trabalho realizado em 2003 por Celik et al.¹⁰⁵, quatro de cinco pacientes tiveram piora dos níveis de creatinina quando não houve mudança na imunossupressão. No estudo de Brennan et al.⁶⁰ em 2005, apesar de não haver relação entre viruria e

viremia com nenhum esquema imunossupressor o estudo concluiu que monitorar e diminuir a imunossupressão de forma preemptiva levou ao controle da viremia e ausência de nefropatia.

Contudo, a redução da imunossupressão nos pacientes com viremia positiva pode acarretar em evolução para rejeição aguda do enxerto. No trabalho de Brennan et al.⁶⁰, que acompanhou 200 receptores de transplante renal, 10 (5%) pacientes da casuística apresentaram diagnóstico de rejeição aguda após o diagnóstico de nefropatia. Os autores discutem que nesses casos a evolução para rejeição aguda do enxerto provavelmente está relacionada à diminuição da imunossupressão para o controle da replicação viral.

Quando além da replicação viral com viremia positiva também há o diagnóstico histológico da NABKPyV, alguns centros optam por, além da diminuição da imunossupressão, iniciar o uso de drogas com atividade anti-BKPyV *in vitro*, como o cidofovir, leflunomide e quinolonas, bem como o uso de imunoglobulinas^{64, 106}. O papel terapêutico da redução das doses dos imunossupressores e das drogas utilizadas no tratamento da NABKPyV é discutido detalhadamente em uma recente revisão⁹⁴.

O uso de cidofovir, um análogo da citosina-fosfato normalmente utilizado para o tratamento de doença pelo CMV, tem mostrado atividade *in vitro* contra poliomavirus em murinos, e tem sido usado em alguns pacientes em doses menores daquelas usualmente utilizadas para o tratamento de CMV, com resultados variados. Estudos publicados não-controlados sobre casos de NABKPyV, tratados com pequenas doses de cidofovir (0,25 a

1 mg/kg/dose, a cada 1 a 2 semanas) têm relatado estabilização ou melhora da função renal a partir de 6 a 26 meses de acompanhamento ^{107, 108}.

A leflunomida é um imunossupressor que foi aprovado para tratamento de artrite reumatóide em 1988, e nessa área seu uso acabou se expandindo também para tratamento de artrite psoriática e esclerose múltipla. Essa droga é utilizada *off-label* como imunossupressor nos transplantados de órgãos sólidos para os quais fornece uma nova estratégia de tratamento através da combinação de efeitos imunossupressores e antivirais ^{109, 110}.

O efeito imunossupressor da leflunomida é exercido por meio de inúmeros mecanismos. A leflunomida bloqueia a proliferação linfocítica por bloqueio reversível da desidrogenase mitocondrial dihidro-orotato, uma enzima necessária para a síntese de pirimidinas ^{109, 110}. E também altera a sinalização intracelular dos linfócitos T e B por interferência na função de múltiplas proteínas quinases, NF-KB e outros fatores. Os mecanismos de sua ação antiviral não foram bem descritos e parecem relacionados aos efeitos da desidrogenase mitocondrial dihidro-orotato ¹¹⁰. Na infecção pelo CMV, a leflunomida inibe o envelope viral, porém o mesmo não acontece com BKPyV, uma vez que este é um vírus não envelopado. A dose usualmente prescrita na artrite reumatóide é de 10 a 20 mg/dia. A dosagem de leflunomida para efeito antiviral nos transplantados renais foi deduzida de testes *in vitro*. Na prática clínica a dose alvo é de 40 mg/dia. Os efeitos adversos da droga incluem diarreia, rash, hepatotoxicidade, pneumonite, neurotoxicidade e supressão medular ^{109, 110}.

O mecanismo de ação das quinolonas sobre o BKPyV é pela inibição da topoisomerase. Estudos retrospectivos demonstraram que fluoroquinolonas ajudam a prevenir a viremia BKPyV após o transplante renal ¹¹¹. Em 2012, um estudo publicado por Wojciechowski et al.¹¹² demonstrou que os pacientes que receberam profilaxia para BKPyV com ciprofloxacina por 30 dias tiveram menor incidência de viremia em três meses, mas não em 12 meses. Em 2014, Lee et al.¹¹³, em estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado, evidenciaram que um curso de 30 dias de levofloxacina não resultou em significativa redução da carga viral do BKPyV ou melhora da função do enxerto, mesmo quando associada a diminuição da imunossupressão. Um estudo prospectivo publicado recentemente não evidenciou alteração nas taxas de viruria, viremia ou NABPyV entre os pacientes que receberam profilaxia com ciprofloxacina por 3 meses no pós-transplante comparado aos que não receberam, ao final de 1 ano de seguimento ¹¹⁴.

Alguns estudos sugerem que a Imunoglobulina humana (IVIG) tem ação anti-BKPyV ¹¹⁵. Bohl et al.⁷¹ não demonstraram relação entre resposta ao anticorpo e clareamento viral. Provavelmente, a eficácia clínica da IVIG depende tanto dos títulos de anticorpos como da capacidade destes em acessar os túbulos renais onde ocorre a replicação viral.

Até o momento, não existem estudos comparativos randomizados entre a eficácia dessas drogas em relação apenas à diminuição da imunossupressão, bem como estudos comparativos das drogas antivirais. De acordo com a metanálise publicada em 2010, não há evidência de

benefício de associar leflunomida ou cidofovir à redução da dose dos imunossupressores para o manejo da NABKPyV ¹¹⁶.

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

Na última década, a NABKPyV é reconhecida como importante patologia em pacientes submetidos a transplante renal, causando perda da função renal e perda do enxerto ⁷.

Diante do potencial de múltiplos fatores de risco para evolução para NABKPyV, associados a características do doador, do receptor e do procedimento do transplante renal, a replicação do BKPyV parece surgir como a única característica comum de todos os pacientes transplantados renais em risco de desenvolver NABKPyV ^{63, 74, 87, 91}. Dessa forma, a monitorização da replicação do BKPyV pode permitir a intervenção precoce no manejo da imunossupressão com redução significativa do risco de evolução para NABKPyV e perda do enxerto ^{60, 87, 100, 101}.

Diferentes testes de triagem para o diagnóstico dos poliomavírus têm sido desenvolvidos, entre os quais se destacam a pesquisa de *decoy cell*, a detecção de DNA do BKPyV em urina ^{59, 63, 102, 103}, e a detecção de DNA viral em plasma ⁵⁹.

Ensaio quantitativo de carga viral baseado na detecção de ácidos nucleicos na urina ou no sangue estão sendo amplamente utilizados para o diagnóstico de replicação do BKPyV ^{59, 60, 80, 104}. A detecção da viremia tem maior valor preditivo positivo para evolução para NABKPyV do que apenas a detecção de vírus na urina. No entanto, diversos centros de transplante renal optam por utilizar a citologia urinária como a principal

técnica de triagem para avaliar a replicação viral^{68, 69}, com boa sensibilidade e menor custo, reservando as técnicas de PCR no sangue para a vigilância de pacientes pós aparecimento de virúria e para manejo de pacientes com diagnóstico de nefropatia.

Portanto, é importante que sejam desenvolvidos estudos de coorte de pacientes transplantados renais para determinação da prevalência de replicação do BKPyV e consequente risco de desenvolvimento de nefropatia, bem como a avaliação da dinâmica da replicação viral, com período de maior prevalência da replicação que justifique a vigilância laboratorial mais frequente e determinação do valor de *cut-off* que melhor discrimine o nível de viremia que se associe ao desenvolvimento da nefropatia, a partir do qual a imunossupressão deva ser reduzida.

Estudos de prevalência da replicação do BKPyV e evolução para nefropatia nos pacientes transplantados renais foram predominantemente desenvolvidos em países do Hemisfério Norte – Estados Unidos e Europa. Estudos locais são limitados e, idealmente, os serviços de transplante renal devem ter conhecimento dos dados de replicação do BKPyV e da nefropatia nos seus centros para melhor estabelecerem o protocolo assistencial de vigilância viral.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS

Determinar as prevalências de *decoy cell* na urina, viremia pelo BKPyV, viremia sustentada pelo BKPyV e NABKPyV, nos receptores de transplante renal do Serviço de Transplante Renal do HCFMUSP.

Determinar os possíveis fatores de risco associados à presença de viremia sustentada pelo BKPyV e NABKPyV nessa população.

Determinar o valor de viremia que melhor discrimine o risco para evolução para viremia sustentada e NABKPyV.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Estabelecer um protocolo assistencial para a vigilância da replicação do BKPyV para a prevenção de ocorrência de NABKPyV, no Serviço de Transplante Renal: estabelecer o momento de início da vigilância da replicação viral e duração do período da vigilância, a periodicidade da coleta dos exames de vigilância, a proposta do exame para a identificação inicial da replicação viral (pesquisa de *decoy cell* na urina e/ou viremia pelo BKPyV), e

estabelecer o *cut-off* de replicação viral no sangue que melhor discrimine a evolução para nefropatia.

Verificar a associação entre a replicação do BKPyV no doador no momento do pré-transplante, nos casos de transplantes intervivos, na evolução da replicação do BKPyV e na evolução para NABKPyV, nos receptores pós-transplante.

Descrever as características clínicas, histológicas e evolutivas dos casos de NABKPyV.

4 MÉTODO

4 MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo prospectivo do tipo coorte.

4.2 Pacientes

Os critérios de inclusão e exclusão são descritos abaixo.

Critério de inclusão:

- Todos os receptores e doadores de transplante renal (doadores dos transplantes intervivos) no Serviço de Transplante Renal (STR) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) de 01-08-2010 a 31-12-2011, após assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Receptores de transplante duplo;
- Receptores com dificuldade de coleta seriada de amostras de urina no período pós-transplante, como pacientes com cateterismo vesical intermitente ou com dificuldade de locomoção;
- Receptores e doadores que não aceitaram participar do estudo.
- Receptores com idade inferior a 18 anos.

4.3 Caracterização do Serviço de Transplante Renal

O STR do HC-FMUSP possui enfermaria exclusiva com 24 leitos (quatro leitos de Unidade de Terapia Intensiva), e três salas de cirurgia. O STR-HCFMUSP realiza uma média de 146 transplantes renais por ano e, no período de 2001 a 2011, realizou 1.472 transplantes. O STR-HCFMUSP conta também com atividade ambulatorial e realiza atendimento de, em média, 400 paciente/mês, em 12 consultórios.

O corpo clínico é composto por 25 médicos, sendo 17 médicos clínicos e oito cirurgiões urologistas, cinco médicos residentes (quatro pela nefrologia e um pela urologia) e cerca de 40 outros profissionais, incluindo farmacêuticos, enfermeiros, psicólogos, assistentes sociais e nutricionistas.

4.4 Protocolo seguimento clínico-laboratorial do estudo

A. No momento do transplante

Receptores e doadores de transplante intervivo:

Na internação hospitalar de rotina para o transplante, antes do procedimento cirúrgico, foram realizadas coletas de urina para pesquisa de viruria, e de sangue para pesquisa de viremia de BKPyV.

Nos receptores de transplante renal anúricos, foram realizadas apenas a coleta de sangue para pesquisa de viremia de BKPyV.

As coletas de urina e sangue até 15 dias pós-transplante foram analisadas como coletas do momento do transplante.

B. No período pós-transplante

Receptores:

Os pacientes transplantados renais foram monitorados para detecção de viremia de BKPyV e desenvolvimento de NABKPyV durante o período de dois anos pós-transplante.

Os pacientes colheram amostras de urina mensalmente durante o primeiro ano pós-transplante e a cada três meses durante o segundo ano pós-transplante para pesquisa de viruria. Os pacientes com perda de três coletas de amostra de urina consecutivas foram considerados perda de seguimento.

A pesquisa de viruria também poderia ser realizada a qualquer momento do período pós-transplante se houvesse piora da função renal ou indicação médica de acordo com o acompanhamento de rotina do paciente.

A detecção de viruria indicava o início de monitorização mensal de viremia pelo BKPyV. A monitorização mensal da viremia era realizada até obtenção de três amostras de viremia negativas consecutivas quando, então, os pacientes reiniciavam a monitorização periódica da viruria (mensal no primeiro ano e trimensal no segundo ano pós-transplante). No caso de uma nova pesquisa de viruria positiva, o paciente reiniciava exatamente o mesmo fluxo de vigilância com viremia, conforme descrito anteriormente (Figura 8).

Figura 8 - Fluxograma 1. Triagem para detecção da replicação do BKPyV

A detecção de viremia positiva deveria ser confirmada por uma segunda amostra colhida após intervalo de duas semanas (amostra de confirmação positiva); se o exame repetido confirmasse a viremia positiva, os pacientes eram submetidos à biópsia renal percutânea para investigação de NABKPyV, independente da função renal (Figura 9).

Figura 9 - Fluxograma 2. Monitorização da viremia pelo BKPyV

Os pacientes com piora da função renal (definida como aumento da creatinina sérica acima de 20% do nível basal do paciente) eram submetidos à biópsia renal percutânea, por indicação da equipe médica do STR, independente da confirmação da viremia positiva, para investigação da causa da perda da função renal.

Todos os pacientes com viremia positiva foram acompanhados no Ambulatório de Infecção em Imunodeprimidos da Divisão de Doenças Infecciosas e Parasitárias – HCFMSUP pela equipe de infectologia do transplante renal.

NABKPyV foi classificada como NABKPyV confirmada, se achados histológicos compatíveis com imunohistoquímica com SV40 positiva ou NABKPyV provável, se achados histológicos compatíveis e imunohistoquímica com SV40 negativa.

4.5 Definições

As definições utilizadas neste projeto para infecção por poliomavírus, replicação viral, viruria positiva, viremia positiva e nefropatia confirmada seguem as definições propostas por Hirsch et al.⁶¹ em 2005. As definições de viremia sustentada e nefropatia provável foram propostas pelos autores do projeto. A definição de rejeição aguda foi baseada na classificação internacional corrente de Banff ¹¹⁷.

Infecção por poliomavírus: definida por evidência sorológica ou virológica de exposição ao vírus sem distinção entre replicação ou latência.

Replicação de poliomavírus: definida por evidência de vírus em multiplicação, como por exemplo, presença de DNA viral no plasma (pela técnica de PCR) ou demonstração do efeito citopático viral pela detecção de *decoy cell* na urina.

Viruria positiva: adotada como presença de DNA viral na urina (pela técnica de PCR), independente da carga viral e/ou presença de *decoy cell* na urina.

Viremia positiva: adotada como qualquer valor de viremia detectada. Os pacientes foram classificados como viremia positiva e viremia acima de 10.000 cópias/mL.

Viremia sustentada: definida neste estudo como duas ou mais viremias acima de 10.000 cópias/mL consecutivas ou não.

NABKPyV provável: definida pela demonstração histopatológica de inflamação tecidual sem a demonstração do vírus no tecido por técnicas de imuno-histoquímica hibridização *in situ* ou demonstração de partículas virais por microscopia eletrônica compatíveis com poliomavírus.

NABKPyV confirmada: definida pela demonstração histopatológica de inflamação tecidual e demonstração do vírus no tecido por técnicas de imunohistoquímica, hibridização *in situ* ou demonstração de partículas virais por microscopia eletrônica compatíveis com poliomavírus.

Rejeição Aguda: a rejeição aguda de enxerto renal é, em geral, definida como uma deterioração aguda da função do enxerto associada às alterações histopatológicas definidas de acordo com a classificação internacional de Banff publicada em 2007¹¹⁷.

4.6 Seguimento clínico-laboratorial pós-transplante renal do STR

Os pacientes foram seguidos clínico-laboratorialmente no período pós-transplante de acordo com o protocolo de rotina do STR. A imunossupressão utilizada no STR é definida considerando as características clínicas e imunológicas do candidato ao transplante, as

características do doador e a chance de evolução para rejeição. São considerados critérios para receber a terapia imunossupressora de indução com anticorpo monoclonal os pacientes com Anticorpos Reativos contra Painel (PRA) < 50% e isquemia fria menor que 24 horas. Já os pacientes com PRA > 50% e isquemia fria > 24 horas recebem como terapia imunossupressora de indução timoglobulina. Apenas os pacientes HLA idênticos não são submetidos à terapia imunossupressora de indução. O esquema imunossupressor de manutenção de rotina no STR é feito com prednisona (pred), TAC e micofenolato - micofenolato de mofetil ou micofenolato de sódio (MF). A dose dos imunossupressores é diminuída de rotina a partir do sexto mês pós-transplante e se mantém para o resto da vida.

O esquema de profilaxia de infecção de sítio cirúrgico foi cefalosporina de 1ª geração e amicacina, a partir de julho 2012, por 24 – 48 horas. Profilaxia de doença por CMV para os pacientes de alto risco (doador positivo/receptor negativo para CMV e para os pacientes que fizeram uso de timoglobulina) foi feita com ganciclovir 5 mg/kg/dia, ajustado para função renal, durante a internação hospitalar do transplante e valganciclovir oral 450 a 900 mg/dia ajustado para função renal, após a alta hospitalar durante os primeiros três meses pós-transplante. Todos os pacientes receberam profilaxia para pneumocistose e toxoplasmose com sulfametoxazol-trimetropim 400/80 mg/dia, durante os primeiros seis meses pós-transplante.

Os pacientes que apresentaram viremia sustentada ou diagnóstico provável ou definitivo de NABKPyV foram avaliados pelo médico do STR e

pelo infectologista do grupo para decisão de conduta conjunta, de acordo com a rotina já estabelecida pelo serviço, que é independente do protocolo de investigação de NABKPyV proposto.

De forma geral, esses pacientes foram submetidos à diminuição da imunossupressão (diminuição doses dos imunossupressores e/ou diminuição do esquema imunossupressor, quando possível), e os pacientes com diagnóstico de NABKPyV confirmada foram submetidos a tratamento antiviral.

A diminuição da imunossupressão, bem como o início de drogas com ação antiviral, foi definida caso a caso, conforme a evolução dos resultados de replicação do poliomavírus, dos achados das biópsias renais e da evolução da função renal. Quando possível, a dose do TAC foi reduzida em 50% e a dose do micofenolato em 25%. O uso de inibidor de mTOR, em substituição ao micofenolato ou como 4ª droga no esquema de imunossupressão, também foi uma opção terapêutica no manejo da NABKPyV pelo grupo. O tratamento antiviral para os pacientes com NABKPyV confirmada foi com cidofovir (doses quinzenais 1 mg/kg/dose) até julho de 2013; após, por falta de disponibilidade do cidofovir no Hospital das Clínicas, os pacientes com indicação de droga antiviral pelo grupo foram tratados com leflunomida (dose ataque 80 a 100 mg/dia durante 5 dias, e dose de manutenção de 20 a 40 mg/dia).

Os pacientes com diagnóstico histológico concomitante de NABKPyV e rejeição foram tratados para as duas patologias.

Uma nova biópsia renal foi indicada nas seguintes situações: 1. na vigência de NABKPyV o paciente evoluiu com piora da função renal, a despeito da diminuição da imunossupressão, com ou sem uso de antivirais, para investigação de rejeição concomitante ou subsequente; 2. na vigência de NABKPyV o paciente persistiu com viremia positiva, independente da piora da função renal, para ajudar a otimizar o tratamento da NABKPyV; 3. e sempre que o médico do STR indicasse.

4.7 Análise dos fatores de risco para viremia sustentada e NABKPyV

Para a análise dos fatores de risco para viremia sustentada e NABKPyV na evolução pós-transplante, as variáveis independentes foram as características clínico-epidemiológicas do doador e receptor, dados do transplante renal, dados de evolução no pós-transplante renal, com detecção de viruria e viremia, conforme segue abaixo.

- **Características clínico-epidemiológicas do doador:** gênero, idade, tipo de doador (falecido, vivo-relacionado e vivo não-relacionado), e presença de *decoy cell* na urina no momento do transplante (para doador vivo);
- **Características clínico-epidemiológicas do receptor:** gênero, idade, causa da nefropatia/perda da função renal, história de diálise pré-transplante, número de transplante de prévio, uso de droga imunossupressora no momento do transplante;

- **Características do transplante renal:** duração de isquemia fria, terapia de indução, esquema de imunossupressão inicial, uso de *stent* uretral na cirurgia do transplante;
- **Características do pós-transplante:** resultado vigilância de viruria (por *decoy cell* ou técnica de PCR), resultado de vigilância de viremia positiva (qualquer valor de número de cópias), diagnóstico histológico de rejeição aguda antes do diagnóstico de NABKPyV, tratamento da rejeição aguda antes do diagnóstico de NABKPyV, e esquema de imunossupressão no momento da NABKPyV.

4.8 Técnicas de diagnóstico Laboratorial

A pesquisa de viruria foi realizada por pesquisa de *decoy cell* na urina, conforme será descrito adiante. A partir de julho de 2011, a pesquisa de viruria passou a ser realizada tanto pela pesquisa de *decoy cell* na urina, quanto pela pesquisa do BKPyV por técnica de biologia molecular. Essa conduta foi adotada após análise preliminar dos dados de viruria realizados por biologia molecular do início do estudo até julho de 2011, demonstrando que 79% dos pacientes com *decoy cell* na urina negativa apresentavam viruria positiva pela técnica de PCR.

4.8.1 Pesquisa de *decoy cell* na urina

A pesquisa de *decoy cell* na urina foi realizada pelo Departamento de Anatomia Patológica do HCFMUSP, Grupo de Citopatologia.

Uma amostra de 50 mL de urina fresca foi coletada no hospital, sendo o material imediatamente encaminhado ao Departamento de Anatomia Patológica, onde foi processado em até 3 horas do ato da coleta. Amostras de cada material foram centrifugadas em 302 g por 20 minutos, desprezando-se o sobrenadante. O sedimento obtido será diluído em 5 mL de PBS (phosphate buffered saline). O líquido resultante foi então utilizado para preparação de lâminas (oito lâminas por caso): 100 µl por lâmina foram colocados no aparelho de citocentrífuga por 10 minutos a 62 g. As lâminas foram então fixadas em álcool 95% e duas foram coradas em Papanicolaou para pesquisa de células com inclusões virais por microscopia óptica. As inclusões virais foram identificadas quando as células uroteliais exibem núcleos aumentados, densos, basofílicos, opacos e homogêneos e citoplasma degenerado ^{118, 119}.

4.8.2 Pesquisa e quantificação de viruria e de viremia por técnica de biologia molecular

As pesquisas de viruria e viremia foram determinadas por técnica de q-PCR realizadas pelo Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical, da Universidade de São Paulo.

Para realização da quantificação das cargas virais de BKPyV em amostras de urina e plasma, o Laboratório de Virologia desenvolveu uma reação em cadeia por polimerase quantitativa (qPCR) baseada em Pal et al.¹²⁰, para detecção do gene do antígeno T do BKPyV. A padronização da técnica foi tema de tese do aluno Renato dos Reis Oliveira, pelo Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias da FMUSP, para obtenção de título de Doutor, sob a orientação do Professor Cláudio Sérgio Pannutti (dados não publicados)¹²¹.

Para extração do DNA, as alíquotas de urina foram submetidas à centrifugação para sedimentação a 3.354 g durante 5 minutos; 70 µl do sedimento remanescente foi eluído em 70 µl de urina não-sedimentada perfazendo-se um volume total de 140 µl. As amostras de sangue foram submetidas a uma centrifugação de 302 g durante 10 minutos, de modo a ser extraído somente material genético do plasma sanguíneo no sobrenadante.

Após a extração, as amostras de DNA total foram processadas com o kit QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) conforme recomendações do fabricante.

A reação apresentou uma sensibilidade analítica de 1.000 cópias/mL, tanto para viremia quanto para virúria. As reações com detecção de quantidade de cópias inferiores a 1.000 cópias/mL foram consideradas indetectáveis.

4.8.3 Biópsia renal

As biópsias renais percutâneas foram realizadas pelo STR do HCFMUSP conforme rotina padronizada. O processamento e análise do material foram realizados pelo Departamento de Anatomia Patológica do HCFMUSP.

As amostras de tecido renal foram processadas e coradas pelo método de hematoxilina-eosina, além da realização de imunohistoquímica com antígeno SV40.

O diagnóstico histológico de NABKPyV foi baseado na identificação de inclusões virais nucleares basofílicas nas células do epitélio dos túbulos renais e glomérulos, e confirmado pela coloração específica com SV40 na imunohistoquímica. Baseado no padrão histológico e na extensão do infiltrado inflamatório e fibrose associado à infecção viral, o resultado da NABKPyV foi classificado conforme se segue, baseado na classificação proposta por Drachenberg et al.⁸⁷ em 2004:

Padrão A: alterações citopáticas virais em parênquima renal sem alterações; atrofia tubular, inflamação e fibrose intersticial ausentes ou mínimas.

Padrão B: combinação de alterações citopáticas virais focal/multifocal e atrofia tubular, inflamação e fibrose intersticial.

Padrão C: escassas alterações citopáticas em tecido renal cicatricial. Extensa atrofia tubular, inflamação e fibrose intersticial, ausência de túbulos sem atrofia.

4.9 Estimativa do número de amostras e reações

Baseado nos dados históricos do número de transplantes do STR do HC-FMUSP, estimou-se que o número total de transplantes no período de dois anos seria de 240, e seriam incluídos todos os pacientes que preenchessem os critérios de inclusão e não fizessem parte dos critérios de exclusão, formando, assim, uma amostra de conveniência.

Baseados nos dados de literatura, estimamos que cerca de 30% dos pacientes apresentariam *decoy cell* positiva com indicação de vigilância de viremia ^{9, 60}. Destes, estimamos que cerca de 10% apresentariam viremia positiva e, independentemente da evolução para NABKPyV e do resultado da biópsia renal, seriam acompanhados por, em média, 10 meses, com coleta de amostras mensais de urina e de sangue, se indicado.

4.9.1 Cálculo de número de amostras de urina para pesquisa de *decoy cell* e amostras de sangue para pesquisa de viremia

a) Estimativa do número de amostras de urina:

- Estimativa de receptores: 240

Estimativa do número de amostras de urina a serem processadas:

Primeiro-ano = 240 X 12 amostras (mensais)

Segundo-ano = 240 X 4 amostras (trimestrais)

Total = 3840 amostras de urina para pesquisa de *decoy cell*

- Estimativa do número de doadores intervivo: 80 amostras (uma amostra única por transplante renal)
- Estimativa do número total de amostras de urina a serem processadas = **3.840 + 80 = 3.920 amostras**

b) Estimativa do número de amostras de sangue:

- Estimativa de receptores pós-transplante com indicação de vigilância de viremia (somente nos casos com *decoy cell* positiva):
30% de 240 = 80 pacientes
 - Evolução sem viremia positiva sustentada, com indicação de três exames consecutivos = $80 \times 3 = 240$ amostras
- Estimativa de receptores pós-transplante com viremia positiva sustentada: 10% de 80 pacientes = 8 pacientes
 - Evolução com viremia positiva sustentada e indicação de monitorização mensal: = 8×10 coletas = 80 amostras
- Estimativa do número total de amostras de sangue = $240 + 8 + 80 = 640$ amostras

4.10 Ética

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição envolvida (Anexo 1). Foi mantido sigilo em relação à identidade dos pacientes e resultados dos testes. Todos os indivíduos participantes assinaram o termo

de consentimento livre e esclarecido (T.C.L.E.) (Anexos 3 e 4) na entrada do estudo.

Cabe salientar que esta tese de doutorado faz parte de um projeto maior, intitulado “Infecção pelos poliomavírus humanos BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial”, financiado pela FAPESP e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq (Processo número 0234/10) – Anexo 2 e adendo do projeto para inclusão da viruria positiva por técnica de PCR na indicação de coleta de viremia – Anexo 5.

4.11 Análise dos dados

Os dados coletados foram inseridos em uma planilha Excel para posterior análise estatística.

As características quantitativas avaliadas foram descritas com uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) e as características qualitativas foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas em todos os pacientes do estudo ^{122, 123}.

O tempo do transplante até o aparecimento de *decoy cell* e viremia no pós-transplante foi calculado considerando apenas os pacientes incluídos no estudo que realizaram pelo menos uma coleta de exame após a coleta do momento do transplante.

Foram avaliados como desfecho viremia sustentada e NABKPyV.

Foram descritas as ocorrências de viremia sustentada e de NABKPyV segundo cada característica do receptor e do doador, bem como características do procedimento do transplante e da evolução pós-transplante, incluindo medicação imunossupressora e presença de *decoy cell* na monitorização pós-transplante. Foi verificada a existência de associação de cada desfecho com as características qualitativas com uso de testes qui-quadrado, testes exatos de Fisher ou testes da razão de verossimilhanças^{122, 123}. As características quantitativas foram descritas segundo cada desfecho e comparadas com uso de testes t-Student ou testes Mann-Whitney^{118, 119}. Foram estimados os Odds Ratio de cada variável de interesse com viremia sustentada e nefropatia com os respectivos intervalos com 95% de confiança com uso de regressão logística simples^{122, 123}.

Foram estimados modelos de regressão logística múltipla, quando possível^{122, 123, 124}, para cada um dos desfechos, selecionando-se as variáveis que nos testes bivariados apresentaram níveis de significância inferiores a 0,20 ($p < 0,20$).

Para os valores de viremia positivos foram os percentuais de positividade e testes inconclusivos da viruria detectadas por *decoy cell* para os pacientes que colheram os exames com uso de gráficos de barras.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Dados clínicos-epidemiológicos da coorte

No período de agosto de 2010 a dezembro de 2011 foram realizados 326 transplantes. Foram excluídos oito pacientes que evoluíram para óbito na internação do transplante, 39 recusas, 11 pacientes menores de 18 anos, 7 perdas de enxerto na internação do transplante, 10 transplantes rim-fígado, 5 transplantes rim-pâncreas. Foram incluídos 246 pacientes, destes 177 concluíram o protocolo. Foram 49 perdas de seguimento, 10 perdas de enxerto e 9 óbitos com enxerto funcionante (Figura 10). Os pacientes incluídos foram seguidos por dois anos.

Figura 10 - Fluxograma 3. Descrição dos dados do estudo: pacientes incluídos, pacientes excluídos, óbitos, perdas, e conclusão do seguimento

As causas de óbito e de perda de enxerto na internação do transplante estão descritas no Quadro 3.

Quadro 3 - Distribuição das causas de perda de enxerto e óbito na internação do transplante renal, STR – HCFMUSP – agosto de 2010 a dezembro de 2013

	Causas
7 Perdas de enxerto na internação do transplante	1 Choque Hemorrágico
	1 Infarto Renal
	2 Tromboses de Artéria Renal
	3 Tromboses de Veia Renal
8 Óbitos na internação do transplante	1 Coagulação Intravascular Disseminada (CIVD)
	4 Choque séptico
	1 Choque Hemorrágico
	1 Broncopneumonia
	1 Hemorragia Alveolar

No período de seguimento pós-transplante, as causas de óbito, de perda de enxerto e perda de seguimento estão descritas no Quadro 4.

Quadro 4 - Distribuição das causas de perda de enxerto, perda de seguimento e óbito no seguimento pós-transplante, STR – HCFMUSP – agosto de 2010 a dezembro de 2013

	Causas
9 Óbitos no seguimento pós-transplante	3 Infartos Agudos do Miocárdio
	1 Isquemia Mesentérica
	2 Acidentes Vasculares Cerebrais
	3 Óbitos em outro serviço
11 Perdas de enxerto no seguimento pós-transplante	2 NABKPyV
	2 Infarto Renal
	1 Peritonite Bacteriana Espontânea
	3 Rejeição Crônica
	1 Infecção intrabdominal
	2 Trombose de artéria renal
49 Perdas de seguimento no pós-transplante	2 Trocas de equipe transplantadora
	47 pacientes perderam 3 coletas consecutivas de virúria

As características dos receptores e doadores de transplante renal incluídos na coorte (N=246), que completaram o seguimento (N=177) e que evoluíram para óbito, perda de enxerto ou perda de seguimento (N=59), de acordo com os critérios epidemiológicos, tipo de doador, história de diálise pré-transplante, estão descritas na Tabela 1.

Dentre os 246 receptores incluídos, 53% eram do gênero masculino, a idade média foi de 43,6 anos, a mediana de 48,3 anos e o intervalo de 18 a 72,8 anos.

O tipo de doador mais frequente foi o doador falecido (65,9%), doadores vivos aparentados correspondem a 23,2% da amostra e vivo não aparentado 11%. Dentre os doadores 55,7% eram do gênero feminino e

44,3%% eram do gênero masculino. A média de idade entre os doadores dos de 43,6 anos, com mediana de 44,1 e intervalo de 2,3 a 71,5 anos.

Antes da cirurgia do transplante 91,1% dos pacientes estavam em regime dialítico. A duração de isquemia fria foi em média 15,9 horas, com uma mediana de 20 e um intervalo de 0 a 38 horas. A indução foi realizada em 98% dos casos, sendo que em 44,3% ocorreu com timoglobulina (ATG) e em 53,7% com anticorpo monoclonal.

O esquema imunossupressor inicial em 98% dos casos foi realizado com Pred, TAC e MF; em 1,2% com Pred, TAC, MF e rapamicina, e em 0,8% dos casos, ccom Pred, TAC e Azatioprina (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos doadores e receptores de transplante renal, de acordo com os critérios epidemiológicos, tipo de doador, história de diálise pré-transplante, e dados do transplante renal, STR – HCFMUSP – agosto de 2010 a dezembro de 2013

Variável	N=246	Descrição N=177	N=69
Gênero do Receptor			
Feminino	115 (46,7)	84 (47,5)	31 (44,9)
Masculino	131 (53,3)	93 (52,5)	38 (55,1)
Idade do pacientes (anos)			
Média (DP)	46,3 (12,8)	46,6 (12,7)	45,5 (12,8)
Mediana (mín, máx)	48,3 (17,6; 72,8)	48,5 (18,1; 72,8)	45,1 (17,6; 69,3)
Tipo de Doador			
Falecido	162 (65,9)	117 (66,1)	45 (65,2)
Vivo não relacionado	27 (11)	19 (10,7)	8 (11,6)
Vivo relacionado	57 (23,2)	41 (23,2)	16 (23,2)
Genêro do Doador			
Feminino	137 (55,7)	101 (57,1)	36 (52,2)
Masculino	109 (44,3)	76 (42,9)	33 (47,8)
Idade do doador (anos)			
Média (DP)	46,3 (11,8)	43,1 (11,4)	44,4 (10,1)
Mediana (mín, máx)	44,1 (4,3; 71,5)	44,1 (8,7; 68,1)	44,9 (4,3; 71,5)
Mismatches total			
Média (DP)	1,5 (1,9)	1,5 (1,8)	1,6 (1,6)
Mediana (mín, máx)	0 (0;7)	0 (0;7)	0 (0;6)
Hemodiálise antes do transplante*			
Não	15 (6,2)	11 (6,3)	4 (6,0)
Sim	227 (93,8)	164 (93,7)	63 (94,0)
Indução			
Anticorpo monoclonal	135 (54,9)	104 (58,8)	31 (44,9)
Timoglobulina	109 (44,3)	71 (40,1)	38 (55,1)
Sem indução	2 (0,38)	2 (1,1)	0 (0,0)
Isquemia fria (horas)			
Média (DP)	15,9 (11,8)	11,6 (11,8)	8,2 (10,1)
Mediana (mín, máx)	20 (0; 38)	20 (0; 38)	21 (0,8; 38)
Stent ureteral na cirurgia do transplante			
Não	175 (71,1)	125 (70,6)	50 (72,5)
Sim	71 (28,9)	52 (29,4)	19 (27,5)
Micofenolato			
Não	2 (0,8)	2 (1,1)	0 (0,0)
Sim	244 (99,2)	175 (98,9)	69 (100,0)
Tacrolimo			
Não	3 (1,2)	3 (1,7)	0 (0,0)
Sim	243 (98,8)	174 (98,3)	69 (100,0)
Rapamicina			
Não	243 (98,8)	174 (98,3)	69 (100,0)
Sim	3 (1,2)	3 (1,7)	0 (0,0)
Prednisona			
Não	7 (2,8)	6 (3,4)	1 (1,4)
Sim	239 (97,2)	171 (96,6)	68 (98,6)
Azatioprina			
Não	244 (99,2)	175 (98,9)	69 (100,0)
Sim	2 (0,8)	2 (1,1)	0 (0,0)

* 4 casos não tinham informação

Dos 246 pacientes incluídos no estudo, 12 realizaram exame apenas no momento da inclusão no estudo, na admissão para o transplante. Dos 234 pacientes com pelo menos uma coleta de exame após a internação do transplante, o tempo de seguimento dos receptores pós-transplante renal foi de 20,5 meses em média, com uma mediana de 24,3 meses e um intervalo de tempo de 0,6 a 25 meses (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição do tempo de seguimento dos receptores pós-transplante renal, em meses - STR – HCFMUSP – agosto de 2010 a dezembro de 2013

	Tempo de seguimento em meses
Média	20,5
Mediana	24,3
Intervalo	0,6 a 25

Durante o período do estudo, foram coletadas um total de 2.229 amostras de urina para realização da pesquisa de *decoy cell* e 739 amostras para realização de viremia. Dentre os pacientes que apresentaram *decoy cell* positiva a média de tempo entre o transplante e a primeira *decoy cell* positiva foi de 7,2 meses, com mediana de 6,3 meses e intervalo de 0,5 a 24,5 meses (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição do intervalo de tempo entre o transplante renal e a detecção de viruria por *decoy cell* positiva - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Intervalo de tempo entre transplante e <i>decoy cell</i> positiva em meses	
Média	7,2
Mediana	6,3
Intervalo	0,5 a 24,5

5.2 Resultados de *decoy cell*, viremia, viremia sustentada e NABKPyV

Considerando apenas os pacientes incluídos no estudo que realizaram pelo menos uma coleta de exame após a coleta do momento do transplante, 91 pacientes apresentaram *decoy cell* positiva em pelo menos um momento pós-transplante, 55 viremia positiva, 29 pacientes apresentaram viremia positiva acima de 10.000 cópias/mL, 14 viremia sustentada em pelo menos um momento pós-transplante e oito pacientes evoluíram com diagnóstico de NABKPyV durante o seguimento do estudo.

A distribuição da proporção de pacientes com *decoy cell* positiva, viremia positiva, e viremia sustentada positiva, ao longo do seguimento, considerando toda a coorte dos pacientes em seguimento em cada mês, é apresentada no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Distribuição das taxas de viremia por pesquisa de *decoy cell*, viremia por BKPyV e viremia acima de 10.000 cópias/mL ao longo do seguimento para os casos detectados

A distribuição da *decoy cell* ao longo do tempo, demonstrada no Gráfico 2, sugere crescimento da positividade de viruria ao longo do seguimento, com oscilações em determinados momentos e redução nos percentuais de resultados inconclusivos. No momento do transplante, 208 pacientes eram anúricos e não conseguiram coletar o exame de virua e 38 pacientes coletaram urina para pesquisa da *decoy cell*; destes, apenas dois apresentaram a viruria positiva.

Gráfico 2- Distribuição das taxas de resultados positivos e inconclusivos de viruria por pesquisa de *decoy cell* ao longo do tempo pós-transplante

Dos 91 pacientes que apresentaram *decoy cell* positiva, 35 também apresentaram viremia positiva.

Dos 55 pacientes que evoluíram com viremia positiva, 20 apresentaram viremia positiva sem positividade da *decoy cell*; nesses pacientes, viremia foi solicitada após detecção da viruria por q-PCR (Figura 11).

		Viremia			
		Dados	Positiva	Negativa	Total
Decoy Cell	Positiva		35	56	91
	Negativa		20	135	155
	Total		55	191	246

Figura 11 - Resultados da detecção do BKPyV por citologia urinária (pesquisa de *decoy cell*) em amostras de urina em relação aos resultados em amostras sequenciais para a detecção de viremia por q-PCR em plasma

A Figura 12 apresenta a descrição dos 35 pacientes que tiveram *decoy cell* e viremia positivas, de acordo com ordem de aparecimento das positivities. Vinte e oito apresentaram viremia positiva após viruria por *decoy cell*, após um período em média de 4,0 meses, mediana de 2,6 meses e intervalo de 0 a 20,8 meses (zero significa que alguns pacientes apresentaram viruria por *decoy cell* e viremia positivas na mesma coleta); 16 pacientes evoluíram com viremia positiva acima de 10.000 cópias/mL, oito evoluíram com viremia sustentada e seis tiveram diagnóstico de NABKPyV. Dentre os 12 pacientes que não apresentaram viremia positiva acima de 10.000 cópias/mL em nenhum momento do seguimento pós-transplante, um paciente evoluiu com NABKPyV.

Na mesma figura, observamos que, em sete pacientes, a viremia positiva precedeu a viruria positiva por *decoy cell*; a viremia ocorreu em média 3,7 meses antes da viruria, mediana de 1,2 meses e intervalo de 1,0 a 10,8. Destes, dois evoluíram com viremia sustentada e um deles evoluiu com NABKPyV. O paciente que evoluiu com nefropatia apresentou *decoy cell* inconclusivas persistentemente durante os quatro primeiros meses pós-transplante, com positividade da *decoy cell* a partir do 5º mês pós-transplante e a viremia positivou no 4º mês pós-transplante.

Figura 12 - Fluxograma 4. Descrição da evolução dos pacientes com *decoy cell* positiva em relação ao desenvolvimento de viremia

Considerando todos os pacientes que evoluíram com viremia positiva, 55 casos, nota-se um intervalo de tempo entre o transplante e a primeira viremia positiva maior para os grupos viremia positiva e viremia acima de 10.000 cópias/mL, em comparação aos grupos viremia sustentada ou com evolução para NABKPyV (Tabela 4).

Tabela 4 - Tempo entre o transplante renal e primeira viremia por BKPyV positiva - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Tempo (meses) entre Tx e 1° Viremia	Pacientes com viremia positiva	Pacientes com viremia positiva > 10.000 cps/mL	Pacientes com viremia sustentada	Pacientes com NABKPyV
Média	7,9	7,7	6,4	6
Mediana	5,5	5,2	5,6	5,6
Intervalo	0,1 a 24,7	0,1 a 24,7	2,8 a 20,1	2,0 a 13,2

O Gráfico 3 mostra a evolução das medianas das viremias por BKPyV de acordo com o grupo de pacientes analisados: pacientes com viremia positiva, pacientes com viremia acima de 10.000 cópias/mL, pacientes com viremia sustentada e pacientes com diagnóstico de NABKPyV. Os pacientes com NABKPyV apresentaram maior mediana de viremia nos 24 meses de seguimento pós-transplante.

Gráfico 3 - Valores de viremia por BKPyV ao longo do tempo pós-transplante para os casos que evoluíram com viremia por BKPyV positiva

Oito pacientes evoluíram com NABKPyV. Todos apresentaram viremia positiva antes do diagnóstico da nefropatia. Nenhum teve nefropatia classificada como estágio A, seis pacientes tiveram nefropatia estágio B e dois pacientes tiveram nefropatia estágio C.

O tempo entre o transplante e o diagnóstico da NABKPyV foi em média 8,5 meses, mediana de 7,8 e intervalo de 3,2 a 14,3 meses (Tabela 5).

Tabela 5 - Tempo entre o transplante renal e o diagnóstico de NABKPyV - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Tempo entre transplante e NABKPyV em meses	
Média	8,5
Mediana	7,8
Intervalo	3,2 a 14,3

Nos pacientes que evoluíram com NABKPyV, os intervalos de tempo do transplante em relação ao aparecimento de *decoy cell* positiva, viremia positiva e o diagnóstico de nefropatia está demonstrado na Figura 13. É possível observar que na média estes pacientes apresentaram virúria positiva por pesquisa de *decoy cell* 3,9 meses após o transplante, viremia positiva 5,6 meses e NABKPyV 8,5 meses pós transplante (Figura 13).

Figura 13 - Evolução em meses desde o transplante renal até o diagnóstico de NABKPyV nos pacientes que tiveram diagnóstico de NABKPyV

O Gráfico 4 mostra que, após 12 meses do transplante, a probabilidade de virúria, viremia e NABKPyV foram respectivamente 37,3%, 20,5% e 3,4%. Após 24 meses, as probabilidades passaram para 48,4%, 33,3% e 3,9% respectivamente.

Gráfico 4 - Estimativas das funções Kaplan-Meier para a ocorrência de virúria, viremia e NABKPyV nos pacientes transplantados de rim

5.3 Análise dos potenciais fatores de risco para evolução para viremia sustentada e NABKPyV

5.3.1 Análise dos fatores de risco para viremia sustentada

A Tabela 6 mostra que, isoladamente, o gênero do receptor influenciou estatisticamente na ocorrência de viremia sustentada ($p = 0,012$), sendo que receptores do gênero masculino apresentaram chance de viremia sustentada 5,7 vezes a chance de receptores do gênero feminino.

Tabela 6 - Descrição da viremia sustentada por BKPyV segundo características de interesse e resultado dos testes estatísticos STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Variável	Viremia Sustentada				OR	IC (95%)		Total	p
	Não		Sim						
	n	%	n	%					
Gênero do Receptor									0,012
Feminino	113	98,3	2	1,7	1,0				
Masculino	119	90,8	12	9,2	5,7	1,25	26,02	131	
Idade do pacientes (anos)					1,02	0,97	1,06		0,481&
Média (DP)	46,2 (12,9)		48,7 (12,7)					46,3 (12,8)	
Mediana (mín, máx)	48,3 (17,6; 72,8)		50,5 (25,7; 66,1)					48,3 (17,6; 72,8)	
Tipo de Doador									0,171#
Falecido	151	93,2	11	6,8	1,00			162	
Vivo não relacionado	27	100,0	0	0	a			27	
Vivo relacionado	54	94,7	3	5,3	0,76	0,21	2,84	57	
Gênero do Doador									
Feminino	129	94,2	8	5,8	1,00				0,91
Masculino	103	94,5	6	5,5	0,94	0,32	2,79	109	
Idade do doador (anos)									0,945&
Média (DP)	43,6 (11,8)		43,8 (13,6)					46,3 (11,8)	
Mediana (mín, máx)	44,3 (4,3; 71,5)		40,5 (19,6; 66,4)					44,1 (4,3; 71,5)	
Mismatches total									0,244£
Média (DP)	1,5 (1,9)		2 (1,9)		1,00			1,5 (1,9)	
Mediana (mín, máx)	0 (0; 7)		2 (0; 5)		1,14	0,87	1,50	0 (0; 7)	
Hemodiálise antes do transplante									0,602*
Não	14	93,3	1	6,7	1,00			15	
Sim	214	94,3	13	5,7	0,85	0,10	6,98	227	
Indução									0,880#
Anticorpo monoclonal	127	94,1	8	5,9	1			135	
Timoglobulina	103	94,5	6	5,5	0,93			109	
Sem indução	2	100	0	0	a	0,31	2,75	2	
Isquemia fria (horas)									0,087£
Média (DP)	15,7 (11,8)		19,1 (12,2)					15,9 (11,8)	
Mediana (mín, máx)	20 (0; 38)		24 (1; 33)					20 (0; 38)	
Stent ureteral na cirurgia do transplante									0,124*
Não	168	96,0	7	4,0	1,00			175	
Sim	64	90,1	7	9,9	2,63	0,89	7,78	71	
Micofenolato									>0,999*
Não	2	100,0	0	0,0	1,0			2	
Sim	230	94,3	14	5,7	a			244	
Tacrolimus									>0,999*
Não	3	100,0	0	0	1,0			3	
Sim	229	94,2	14	5,8	a			243	
Rapamicina									0,162*
Não	230	99,7	13	5,3	1,0			243	
Sim	2	66,7	1	33,3	8,85	0,75	104,02	3	
Prednisona									>0,999*
Não	7	100,0	0	0	1,0			7	
Sim	225	94,1	14	5,9	a			239	
Azatioprina									>0,999*
Não	230	94,3	14	5,7	1,0			244	
Sim	2	100	0	0	a			2	
Rejeição Aguda									0,502*
Não	184	94,8	10	5,2	1,00			194	
Sim	48	92,3	3	7,7	1,53	0,46	5,10	52	
Total	232	94,2	14	5,7				246	

Teste qui-quadrado; *Teste exato de Fisher; # Teste da razão de verossimilhanças; & Teste de t-Student; £ Teste de Mann-Whitney; a não é possível calcular

A Tabela 7 mostra os resultados da análise multivariada por modelo de regressão logística. Após ajuste das características que poderiam influenciar na ocorrência de viremia sustentada, o gênero dos receptores permaneceu estatisticamente significativo, sendo a chance de receptores do gênero masculino apresentarem viremia sustentada 6,33 vezes a chance de pacientes do gênero feminino ($p = 0,018$).

Tabela 7 - Resultado do modelo de regressão logística múltipla para avaliar conjuntamente a influência das características na ocorrência de viremia sustentada por BKPyV - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Variável	OR	IC (95%)		P
		Inferior	Superior	
Gênero do receptor				
Feminino	1,00			
Masculino	6,33	1,37	29,22	0,018
Tipo de doador				
Falecido	1,00			
Vivo não relacionado	a			0,998
Vivo relacionado	1,46	0,27	7,91	0,658
Isquemia fria (horas)	1,03	0,96	1,09	0,421

Regressão logística múltipla: a não é possível calcular

5.3.2 Análise dos fatores de risco para NABKPyV

Assim como para viremia sustentada, a Tabela 8 mostra que a ocorrência de nefropatia só apresentou influência estatisticamente significativa do gênero do receptor ($p = 0,008$), sendo maior a ocorrência de nefropatia em pacientes do gênero masculino. Não foi possível estimar a chance de nefropatia segundo o gênero e também não foi possível estimar o modelo conjunto das características na ocorrência de nefropatia devido ao baixo número de casos ocorridos, e principalmente porque todos os casos de nefropatia ocorreram em pacientes do gênero masculino.

Tabela 8 - Descrição da NABKPyV segundo características de interesse e resultado dos testes estatísticos - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Variável	NABKPyV				OR	IC (95%)		Total	p
	Não		Sim			Inferior	Superior		
	n	%	n	%					
Gênero do Receptor									
Feminino	115	100	0	0	1,0			115	0,008*
Masculino	123	93,8	8	6,1	a			131	
Idade do pacientes (anos)									
Média (DP)	46,2 (12,8)		46,9 (12,9)		1,02	0,97	1,08	46,3 (12,8)	0,464&
Mediana (mín, máx)	48,3 (17,6;72,8)		52,2 (25,7; 66,1)					48,3 (17,6; 72,8)	
Tipo de Doador									
Falecido	157	96,9	5	3,1	1,00			162	0,979#
Vivo não relacionado	26	96,3	1	3,7	1,21	0,22	10,76	27	
Vivo relacionado	55	96,5	2	3,5	1,14	0,14	6,06	57	
Gênero do Doador									
Feminino	106	97,2	3	2,8	0,75	0,18	3,2	109	>0,999*
Masculino	132	96,4	5	3,6	1,00			137	
Idade do doador (anos)									
Média (DP)	46,6 (11,8)		47 (13,5)		1,03	0,97	1,09	43,6 (11,8)	0,410&
Mediana (mín, máx)	44,2 (4,3; 71,5)		42,1(32,6;66,4)					44,1 (4,3; 71,5)	
Mismatches total									
Média (DP)	1,5 (1,9)		1 (1,4)		0,83	0,53	1,3		0,464£
Mediana (mín, máx)	0 (0;7)		0 (0;3)						
Hemodiálise antes do transplante									
Não	14	93,3	1		1,00			15	0,405*
Sim	220	96,9	7		0,45	0,05	3,88	227	
Indução									
Anticorpo monoclonal	132	97,8	3		1			135	0,551#
Timoglobulina	104	95,4	5		2,12	0,49	9,06	109	
Sem indução	2	100	0		a			2	
Isquemia fria (horas)									
Média (DP)	15,7 (11,8)		20,8 (12,6)		1,04	0,97	1,11	15,9 (11,8)	0,088£
Mediana (mín, máx)	20 (0;38)		24,5 (1;33)					20 (0;38)	
Stent ureteral na cirurgia do transplante									
Não	171	97,7	4		1,00			175	0,233*
Sim	67	94,4	4		2,55	0,62	10,5	71	
Micofenolato									
Não	2	100,0	0		1,0			2	>0,999*
Sim	236	96,7	8		a			244	
Tacrolimus									
Não	3	100,0	0		1,0			3	>0,999*
Sim	235	96,7	8		a			243	
Rapamicina									
Não	235	96,7	8		1,0			7	>0,999*
Sim	3	100,0	0		a			239	
Prednisona									
Não	7	100,0	0		1,0			7	>0,999*
Sim	231	96,7	8		a			239	
Azatioprina									
Não	236	96,7	8		1,0			244	>0,999*
Sim	2	100,0	0		a			2	
Rejeição Aguda									
Não	190	97,9	4		1,00			194	0,064*
Sim	48	92,3	4		3,96	0,96	16,4	52	
Total	238	96,7	8		3,3				

Teste qui-quadrado; *Teste exato de Fisher; # Teste da razão de verossimilhanças; & Teste de t-Student; £ Teste de Mann-Whitney; a não é possível calcular

A Tabela 9 mostra que, mesmo sem considerar o gênero dos receptores, as características avaliadas não influenciam conjuntamente na ocorrência de nefropatia ($p > 0,05$).

Tabela 9 - Resultado do modelo de regressão logística múltipla para explicar a NABKPyV sem considerar o gênero dos pacientes - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Variável	OR	IC (95%)		P
		Inferior	Superior	
Isquemia fria (horas)	1,04	0,97	1,11	0,292
Rejeição				
Não	1,00			
Sim	3,71	0,89	15,53	0,073

5.4 Descrição das curvas ROC da viremia para determinação do *cut-off* para risco de viremia sustentada e evolução para nefropatia, e tempo de ocorrência da primeira viremia positiva e evolução para NABKPyV

O Gráfico 5 mostra que o valor de viremia que melhor discrimina o risco de evolução para viremia sustentada foi de 37.487 cópias/mL, fornecendo sensibilidade de 78,6% e especificidade de 90,2%.

Gráfico 5 - Curva ROC da viremia para discriminação da viremia sustentada por BKPyV

O Gráfico 6 mostra que o valor de viremia que melhor discrimina o risco para evolução para NABKPyV foi de 44.955 cópias/mL, fornecendo sensibilidade de 75,0% e especificidade de 83,0%.

Gráfico 6 - Curva ROC da viremia por BKPyV para discriminação da NABKPyV

O Gráfico 7 mostra que o tempo entre o transplante para a ocorrência da primeira viremia não discrimina a ocorrência de nefropatia, pois a área sobre a curva ROC foi de 0,537, ou seja, praticamente 50% ($p = 0,738$).

Gráfico 7 - Curva ROC do tempo de ocorrência da primeira viremia positiva por BKPyV para discriminação da NABKPyV

5.5 Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN)

A Tabela 10 apresenta os resultados de valor preditivo positivo e negativo para viremia sustentada e NABKPyV de acordo com os valores de sensibilidade e especificidade das respectivas curvas ROC. O valor de viremia de 37.487 cópias/mL, que melhor discrimina a evolução para viremia sustentada, apresenta sensibilidade de 78,6% e especificidade de 90,2%, com VPP de 73,3% e VPN 92,5%. O valor de viremia sustentada de 44.955 cópias/mL, que melhor discrimina a evolução para NABKPyV, apresenta sensibilidade de 75% e especificidade de 83%, com VPP de 42,9% e VPN 95,1%.

Tabela 10 - Valores de viremia para os desfechos estudados, viremia sustentada por BKPyVe NABKPyV, e análise da especificidade, VPP e VPN para valores de sensibilidade de 25%, 50% e 75% - STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

Desfecho	Valor da viremia	Sensibilidade IC (95%)	Especificidade IC (95%)	Área da curva ROC IC (95%)	LR+ IC (95%)	LR- IC (95%)	VPP IC (95%)	VPN IC (95%)
Viremia sustentada	9655	78,6 (49,2; 95,3)	61 (44,5; 75,8)	0,698 (0,563; 0,832)	2,01 (1,26; 3,22)	0,35 (0,13; 0,99)	40,7 (22,4; 61,2)	89,3 (71,8; 97,7)
	88665	50 (23; 77)	92,7 (80,1; 98,5)	0,713 (0,572; 0,855)	6,83 (2,04; 22,9)	0,54 (0,32; 0,92)	70 (34,8; 93,3)	84,4 (70,5; 93,5)
	196000	21,4 (4,7; 50,8)	97,6 (87,1; 99,9)	0,595 (0,481; 0,709)	8,79 (0,99; 77,7)	0,81 (0,61; 1,06)	75 (19,4; 99,4)	78,4 (64,7; 88,7)
	37487	78,6 (49,2; 95,3)	90,2 (76,9; 97,3)	0,844 (0,723; 0,965)	8,05 (3,05; 21,3)	0,24 (0,09; 0,65)	73,3 (44,9; 92,2)	92,5 (79,6; 98,4)
NABKPyV	1075	75 (34,9; 96,8)	2,1 (0,1; 11,3)	0,386 (0,224; 0,547)	0,77 (0,51; 1,15)	11,8 (1,2; 115)	11,5 (4,4; 23,4)	33,3 (0,8; 90,6)
	88665	50 (15,7; 84,3)	87,2 (74,3; 95,2)	0,686 (0,495; 0,878)	3,92 (1,41; 10,9)	0,57 (0,28; 1,16)	40 (12,2; 73,8)	91,1 (78,8; 97,5)
	175491	25 (3,2; 65,1)	93,6 (82,5; 98,7)	0,593 (0,429; 0,757)	3,92 (0,77; 19,9)	0,8 (0,53; 1,2)	40 (5,3; 85,3)	88 (75,7; 95,5)
	44955	75 (34,9; 96,8)	83 (69,2; 92,4)	0,79 (0,621; 0,959)	4,41 (2,09; 9,3)	0,3 (0,09; 1,01)	42,9 (17,7; 71,1)	95,1 (83,5; 99,4)

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; LR+: likelihood ratio positivo; LR-: likelihood ratio negativo; IC: intervalo de confiança

5.6 Impacto do doador vivo positivo

Dentre os doadores vivos nenhum apresentou viruria positiva por *decoy cell*. A Figura 14 mostra a evolução da viremia dos receptores de acordo com a viruria por *decoy cell* dos doadores vivos.

		Receptor		Total
		Viremia Positiva	Viremia Negativa	
Doador Vivo	DC positiva	0	0	0
	DC negativa	4	12	16
	DC inconclusiva	27	7	34
	DC não realizada	27	7	34
	Total	58	26	84

Figura 14 - Evolução da viremia por BKPyV nos receptores de transplante de doador vivo de acordo com o resultado da viruria por *decoy cell* do doador

5.7 Descrição dos casos de NABKPyV

O Quadro 5 descreve os dados epidemiológicos, clínicos, seguimento e desfecho dos pacientes que evoluíram com NABKPyV; dos oito pacientes com diagnóstico de NABKPyV, dois evoluíram com perda do enxerto, ou seja 25%.

Dentre os oito pacientes que evoluíram com diagnóstico de nefropatia, quatro apresentaram diagnóstico de rejeição aguda antes do diagnóstico de NABKPyV. Nesses casos, tanto o manejo da imunossupressão quanto o tratamento antiviral ocorreram de acordo com as diretrizes assistenciais do serviço e foram bastante variáveis.

Quadro 5 - Descrição dos casos de NABKPyV segundo características epidemiológicas e clínicas e desfecho STR – HCFMUSP - agosto de 2010 a dezembro de 2013

DADOS	1	2	3	4	5	6	7	8
Gênero do receptor	M	M	M	M	M	M	M	M
Idade do receptor	54	52	26	52	37	66	48	61
Data do transplante	21/10/2010	06/11/2010	28/02/2011	13/04/2011	03/08/2011	06/09/2011	10/11/2011	10/11/2011
Tipo de doador	falecido	vivo relacionado	falecido	falecido	vivo não relacionado	vivo relacionado	falecido	falecido
Decoy Cell doador		não realizou			não realizou	inconclusivo		
Hemodiálise antes do transplante	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Dialise peritoneal	Sim
Indução	ATG	Anticorpo monoclonal	ATG	ATG	ATG	ATG	Anticorpo monoclonal	Anticorpo monoclonal
Isquemia Fria (horas)	26	1	24	24	32	1,5	25	33,2
Stent Ureteral na cirurgia do transplante	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não
Imunossupressão inicial	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF	Pred+TAC+ MF
Viremia acima de 10.000 cópias/mL	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
Rejeição aguda antes da NABKPyV	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não
Tratamento da rejeição aguda	Metilprednisolona		Imunoglobulina	Metilprednisolona	Metilprednisolona			
Tempo rejeição e NABKPyV (em meses)	3,3		10,8	0,0	2,3			
Tempo entre o transplante e diagnóstico de NABKPyV (em meses)	12,4	3,2	14,3	9,6	12,7	4,3	6,1	5,1
Tempo entre viremia acima de 10.000 cópias/mL e biópsia renal (em meses)	9,5	0,0	5,6	3,6	Não se aplica	0,4	2,8	0,0
Estadio da biópsia no diagnóstico	ESTADIO B	ESTADIO B	ESTADIO C	ESTADIO B	ESTADIO B	ESTADIO B	ESTADIO C	ESTADIO B
Tratamento antiviral	Cidofovir	Leflunomida	Perda do Enxerto antes	Diminuição da Imunossupressão + inibidor de Mtor	Cidofovir	Cidofovir	Leflunomida	Cidofovir
Manejo da Imunossupressão	Rapamicina (1mg/dia)+Pred (5mg/dia)	Everolimo (2mg/dia)+Pred (5mg/dia)			Rapamicina (2mg/dia)+Pred (5mg/dia)+TAC(2mg/dia)	Rapamicina (3mg/dia)+Pred (5mg/dia)+TAC (2mg/dia)	TAC (6mg/dia) + Prednisona (5mg/dia)	TAC (6mg/dia) + Prednisona (5mg/dia)+ Micofenolato (720mg/dia)
Tempo de seguimento (em meses)	24,0	24,4	16,6	15,7	24,3	24,3	24,3	12,8
Desfecho	TERMINO DO PROTOCOLO	TERMINO DO PROTOCOLO	PERDA DO ENXERTO	PERDA DE SEGUIMENTO	TERMINO DO PROTOCOLO	TERMINO DO PROTOCOLO	TERMINO DO PROTOCOLO	PERDA DO ENXERTO
Tempo entre diagnóstico de NABKPyV e a perda do enxerto em meses			2,1					7,7

ATG: timoglobulina; Pred: prednisona; TAC: tacrolimo; MF: micofenolato.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

No período do estudo foram realizados 326 transplantes, foram incluídos na coorte 246 pacientes, destes 177 completaram o seguimento pós-transplante de 2 anos, e 69 perderam o seguimento, ou seja, uma perda de 28%. Na Tabela 1, é possível observar que as características clínico-epidemiológicas do receptor e do doador, e as variáveis do transplante foram semelhantes entre os pacientes que completaram o seguimento e aqueles que perderam, evidenciando que as perdas foram homogêneas e não comprometeram os resultados do estudo. O tempo médio de seguimento dos pacientes foi de 20,5 meses, e foram coletadas 2.229 amostras de urina (nove amostras por paciente) e 739 amostras de sangue para monitorização da replicação viral, demonstrando a adesão do paciente ao protocolo de vigilância proposto.

As características da coorte caracterizam uma população de receptores de predomínio do gênero masculino, com média de idade de 46,3 anos, com a maioria (93,8%) em regime dialítico antes do transplante.

Esses dados não diferem de outras coortes de pacientes transplantados renais monitorados para replicação e nefropatia pelo BKPyV. Em 2005, Brennan et al.⁶⁰ incluíram 200 pacientes na coorte e 64% eram do gênero masculino, com média de idade de 44 anos. No trabalho publicado por Elfadawyet al.⁹¹, em 2013, com seguimento de 609 pacientes, 63% eram do gênero masculino, com média de idade de 50 anos e 77% estavam em

regime dialítico antes do transplante. Em 2017, na coorte descrita por Simard-Meilleur et al.⁹² que incluiu 305 pacientes, 60,5% dos pacientes eram do gênero masculino e a média de idade foi de 49 anos.

O tipo de doador mais frequente foi o falecido (65,9%); o predomínio do doador falecido nas casuísticas de pacientes monitorados para replicação viral e evolução para nefropatia também foi encontrado em outros estudos e refletem dados do perfil de doadores de transplante renal no Brasil e no mundo^{60, 91, 92}. No Brasil no ano de 2016 foram realizados 5492 transplantes renais com predomínio de doador falecido (78%), gênero masculino (58%) e idade entre 50 e 64 anos¹²⁵. Dados americanos de 2017, divulgados pela *United Network for Organ Sharing* (UNOS) apontam também o predomínio de doador falecido no transplante renal (63,6%)¹²⁶.

A casuística do presente estudo apresenta uma média de 1,5 mismatches de HLA do doador-receptor, interpretado como um melhor perfil de histocompatibilidade doador-receptor em relação a outras casuísticas de estudos de replicação e NABKPyV, que incluíram pacientes com média de 4 e de 2,28 mismatches de HLA^{59, 60}. Por outro lado, o tempo de isquemia fria encontrado em nosso estudo foi em média de 15,9 horas, bastante superior a outras casuísticas de avaliação de replicação e nefropatia pelo BKPyV. O estudo publicado por Simard-Meilleur et al.⁹² reporta uma média de 9 horas de isquemia fria, e, em 2013, Hirsh et al. publicaram um estudo com tempo de isquemia fria médio de 14,3 horas¹²⁷.

Em relação à imunossupressão, a indução foi realizada em 53,7% dos casos com anticorpo monoclonal; e o esquema imunossupressor mais

frequentemente prescrito no período pós-transplante imediato foi prednisona, micofenolato e tacrolimo. Esse regime de três drogas é o regime preferencial de imunossupressão pós-transplante renal de muitos serviços de transplante e o mesmo utilizado pela maioria dos pacientes monitorados em outros estudos^{59, 60, 91} e por 100% dos pacientes monitorados por Simard-Meilleur et al.⁹².

Portanto, como podemos observar os dados referentes ao doador, ao receptor e ao transplante do presente estudo foram semelhantes a outras casuísticas.

Na história natural da NABKPy a presença de virúria precede a viremia e esta a nefropatia, conforme relatado por Brennan et al.⁶⁰ e Hirsch et al.⁵⁹. Em nosso estudo, a pesquisa de *decoy cell* foi positiva em cerca de um terço da casuística, dado muito semelhante aos encontrados na literatura. O intervalo de tempo entre o transplante e a primeira *decoy cell* positiva foi em média 7,2 meses com mediana de 6,3 meses. No trabalho realizado por Hirsch et al.⁵⁹, a prevalência da *decoy cell* foi de 29,5% e o tempo médio foi de 4 meses entre o transplante e primeira *decoy cell* positiva. A diferença no tempo de aparecimento da *decoy cell* após o transplante pode ser explicada pelo fato da *decoy cell* ser um exame com muitas dificuldades operacionais (urina fresca e que precisa ser processada em até 3 horas após a coleta) e um exame cujo resultado pode ser operador dependente. De fato, nos primeiros meses do nosso seguimento pós-transplante, conforme demonstrado no Gráfico 2, tivemos muitos resultados inconclusivos. A taxa de *decoy cell* inconclusiva foi de 45% no primeiro mês

e foi decaindo com o passar do tempo, alcançando aproximadamente 20% no 22º mês.

Acreditamos que a alta taxa de resultados inconclusivos nos primeiros meses pós-transplante possa estar relacionada à presença de maior sedimento urinário relacionado ao momento cirúrgico do transplante renal, o que dificultaria a leitura da lâmina para o resultado do exame. Devido ao grande número de resultados de *decoy cell* inconclusivos, a partir de julho de 2011 a pesquisa de viruria passou a ser realizada também pela técnica de biologia molecular com o uso de q-PCR e os pacientes que apresentavam *decoy cell* e/ou q-PCR na urina positivos eram submetidos à monitorização de viremia, conforme o protocolo previamente descrito.

No presente estudo, viremia por BKPyV foi detectada em 55 (22%) pacientes da casuística, uma prevalência semelhante a outros estudos reportados na literatura. Elfadawy et al.⁹¹ encontraram uma prevalência de 26,7% e Simard-Meilleur et al.⁹², de 25,9%. O tempo médio entre o transplante e a viremia foi de 7,6 meses. Essa média de tempo foi um pouco superior à encontrada por Hirsch et al.⁵⁹ em 2002 e Simard-Meilleur et al.⁹² em 2017, respectivamente 5,7 meses e 4 meses.

A avaliação do tempo de aparecimento da primeira viremia positiva em relação ao transplante mostra que o aparecimento da viremia nos pacientes que evoluíram para viremia positiva e viremia positiva acima de 10.000 cópias/mL foi mais tardio (em média, 7,6 e 7,9 meses, respectivamente) quando comparado aos pacientes que evoluíram com viremia sustentada e nefropatia (em média, 6,6 e 5,6 meses).

Um total de 35 pacientes apresentaram *decoy cell* e viremia positivas no período de vigilância pós-transplante. Sete pacientes apresentaram viremia positiva pré-urina detectada por *decoy cell*, um fato provavelmente relacionado às limitações do diagnóstico de urina pela detecção da *decoy cell*, conforme comentado previamente.

Viremia sustentada foi observada em 14 pacientes e, destes, sete (50%) evoluíram para diagnóstico confirmado de NABKPyV. Dos 41 pacientes que não apresentaram viremia sustentada, apenas um (2,4%) apresentou diagnóstico confirmado de NABKPyV. Se avaliarmos apenas os 35 casos de pacientes que apresentaram urina por *decoy cell* e viremia positivas, viremia sustentada foi observada em 10 pacientes e, destes, sete evoluíram com nefropatia (70%).

Os dados de viremia sustentada em relação à evolução para nefropatia do presente estudo podem ser comparados aos publicados em 2014, por Elfadawy et al.¹²⁸, que avaliaram os seguintes grupos de pacientes: pacientes com baixa viremia transitória (definida como viremia positiva por menos de 3 meses e com pico de viremia < 10.000 cópias/mL), pacientes com alta viremia transitória (definida como viremia positiva por menos de 3 meses e com pico > 10.000 cópias/mL), pacientes com baixa viremia persistente (definido como viremia positiva por mais de 3 meses e com pico < 10.000 cópias/mL) e pacientes com alta viremia persistente (definido como viremia positiva por mais de 3 meses e com pico > 10.000 cópias/mL); os autores encontraram que NABKPyV foi diagnosticada apenas no grupo de pacientes que evoluíram com alta viremia persistente, ou seja,

no grupo de pacientes que evoluíram com maiores cargas virais de BKPyV por mais tempo.

Adicionalmente, conforme observado no Gráfico 3, observamos que os pacientes com viremia sustentada e nefropatia tiveram maiores medianas de carga viral durante todo o seguimento. Em 2017, Simard-Meilleur et al.⁹² decreveram dados similares, com uma mediana de viremia 70.000 cópias/mL nos pacientes com diagnóstico de nefropatia. Em um estudo publicado em 2013, por Elfadawy et al.⁹¹, os autores acompanharam 609 pacientes por 4 anos e reportaram uma mediana de pico de carga viral de 642.000 cópias/mL entre os pacientes com diagnóstico de NABKPyV, e de 5.560 cópias/mL nos pacientes que não evoluíram com nefropatia.

Esses dados estão de acordo com outros estudos na literatura, que também identificaram a intensidade e duração da viremia como risco aumentado de evolução para nefropatia, ou seja, os pacientes de maior risco para o desenvolvimento de NABKPyV são aqueles que apresentam maiores valores de carga viral do NABKPyV e que mantêm a viremia positiva por mais tempo^{91, 129, 130}.

Também no Gráfico 3, podemos observar que as maiores prevalências de viremia positiva ocorrem entre o 3º e 9º mês pós-transplante. Como relatado na literatura nos estudos de Brennan et al.⁶⁰ e Hirsch et al.⁵⁹, a incidência de NABPyV é maior no primeiro ano pós-transplante. Nossos dados além de corroborar os dados da literatura evidenciam que a vigilância deveria ser mais intensa entre o 3º e 9º mês pós-transplante, período em que observamos os maiores valores de carga viral

de BKPyV e consequentemente o período de maior risco para evolução para nefropatia.

A partir do primeiro ano pós-transplante, há mais outros dois picos de maior prevalência de viremia: entre o 15º e 17º mês e entre o 19º e 24º mês, justificando a decisão do presente protocolo de monitorar os pacientes até 24 meses pós-transplante, conduta em concordância com os guidelines atuais ^{81, 82}. O guideline europeu recomenda a vigilância com pesquisa de BKPyV no sangue com PCR, mensalmente até o 3º mês e a partir daí a cada 3 meses até o final do segundo ano, além disso, sugere que a pesquisa do BKPyV deve ser coletada a qualquer momento se o paciente apresentar piora da função renal ⁸². Inicialmente, a nossa opção pela vigilância mensal ao longo de todo primeiro ano pós-transplante foi para a determinação da prevalência de replicação viral no serviço, bem como a dinâmica dessa replicação, até então desconhecida pela equipe. Consideramos que o rápido conhecimento do início da replicação viral e sua persistência seriam de fundamental importância para uma rápida tomada de decisão quando ocorrência de viremia. O atraso na detecção da virúria, ou da viremia, e consequente atraso no início do manejo da imunossupressão, colocaria o paciente sob maior risco de evolução para nefropatia. Esse atraso impossibilita que o sistema imune se torne capaz de montar uma resposta imunológica ao vírus e consiga, desta forma, controlar a replicação viral antes do estabelecimento da inflamação tecidual. Na literatura, há estudos que apontam perda de casos de NABKPyV quando a vigilância da replicação do BKPyV é realizada a cada 3 meses ¹³¹.

A prevalência de NABPyV em nosso estudo foi de 3,2%. Os estudos realizados entre 2002 e 2003 mostram uma variação importante na prevalência de nefropatia que varia de 1,1% a 10,3% ⁶¹. Alguns estudos mais recentes baseados em protocolos de vigilância de BKPyV nos serviços de transplante renais apresentam prevalências mais baixas (1,3% a 3,5%) ^{91, 102, 132}. As diferenças nos resultados de prevalência de nefropatia provavelmente ocorrem devido a diferentes fatores, como: protocolos não uniformes em relação ao método utilizado como monitorização de replicação viral, diferentes periodicidades na realização da monitorização, diferenças no manejo da imunossupressão após identificação da viremia, e das características clínico-epidemiológicas não uniformes do grupo de pacientes estudados.

Não tivemos nenhum paciente com diagnóstico de NABKPyV estágio A. Este dado provavelmente está relacionado ao atraso de semanas para a realização das biópsias renais após indicação por viremia positiva. Durante o período do estudo, as biópsias renais eram realizadas apenas em regime de internação hospitalar. Cabe ressaltar que a perda do enxerto está diretamente relacionada ao estágio da nefropatia conforme demonstrado em 2004 no estudo de Drachenberg et al.⁸⁷, no qual a perda de enxerto nos pacientes com estágio C chegou a 100%.

No presente estudo, a perda de enxerto ocorreu em 25% dos pacientes com diagnóstico de NABKPyV. No estudo realizado por Schwarz et al.¹³³, que acompanhou 214 pacientes durante um período de 4 anos, 22 pacientes evoluíram com diagnóstico de nefropatia e, destes, três (14%)

evoluíram com perda do enxerto. Possivelmente, a diferença nos resultados encontrados por nós e por Schwarz et al.¹³³ decorre do fato de que na nossa casuística 25% dos pacientes apresentaram diagnóstico de nefropatia no estágio C, que são os pacientes de maior risco de evolução para perda do enxerto, enquanto que na coorte de Schwarz et al.¹³³, 14% dos pacientes apresentaram nefropatia no estágio C da doença.

Em nosso estudo, 50% dos pacientes com diagnóstico de NABKPyV confirmada apresentaram quadro de rejeição aguda anterior ao diagnóstico da nefropatia, mas após o início do manejo da imunossupressão pelo diagnóstico de viremia sustentada e/ou nefropatia provável. Elfadawy et al.¹²⁸ reportaram que os pacientes com alta viremia transitória apresentaram, durante o seguimento, um risco de evolução para rejeição de 2,9 vezes quando comparados aos pacientes do grupo que não apresentaram viremia. Os autores atribuem este risco aumentado de evolução para rejeição aguda no grupo de pacientes que evoluem com viremia positiva à diminuição da imunossupressão após o diagnóstico.

As estimativas das funções de Kaplan-Meier para probabilidade de ocorrência de viruria e viremia aumentaram do primeiro para o segundo ano pós-transplante, de 37,3% e 20,5%, para 48,4%, 33,3%, respectivamente. Entretanto, a probabilidade de ocorrência para NABKPyV no primeiro ano pós-transplante foi semelhante após o segundo ano (3,4% e 3,9%, respectivamente). O início de replicação mais tardia no período pós-transplante, bem como a diminuição da imunossupressão realizada na rotina após o 6º ao 12º mês pós-transplante, podem contribuir para a menor

ocorrência de nefropatia após o primeiro ano pós-transplante. Estudos apontam que a maioria dos casos de NABKPyV ocorre no primeiro ano pós-transplante ¹³⁴. Em 2013, Elfadawy et al.⁹¹ descreveram que seis de oito pacientes (75%) da coorte por eles acompanhada apresentaram diagnóstico de NABKPyV no primeiro ano pós-transplante e apenas dois evoluíram com nefropatia após o segundo ano.

Na literatura, até o presente momento, nenhum fator de risco está uniformemente associado ao risco de evolução para NABKPyV, significando provavelmente que a patogênese da NABKPyV envolve a interação de múltiplos fatores, que incluem características do paciente e do órgão transplantado, a imunossupressão, e o próprio vírus ⁹³. Em alguns estudos, o desenvolvimento de NABKPyV tem sido associado a fatores de risco relacionados ao paciente, tais como idade avançada e gênero masculino ^{95, 96}, etnia branca ^{96, 97}, *diabetes mellitus* ^{96, 97, 98}, uso de stent urinário ^{99, 100}, rejeição aguda ¹⁰⁰ e sorologia negativa para o BKPyV em receptores pediátricos ^{67, 69}. Na análise univariada dos fatores de risco para a ocorrência de viremia sustentada, o único fator de risco que influenciou a ocorrência de viremia sustentada foi o gênero masculino ($p=0,012$), ou seja, um paciente do gênero masculino teve uma chance 5,7 vezes maior de evoluir com viremia sustentada do que um paciente do gênero feminino. Aplicamos o modelo de regressão logística múltipla para avaliar conjuntamente a influência das características para viremia sustentada e neste caso também apenas o gênero masculino permaneceu estatisticamente significativo ($p=0,018$), ou seja, a chance de o receptor

masculino evoluir com NABKPyV foi 6,33 vezes maior que o receptor feminino.

Ao analisarmos o desfecho NABKPyV, apenas o gênero masculino apresentou influência na ocorrência de NABKPyV na análise univariada ($p=0,008$). Para o desfecho NABKPyV não foi possível estimar a chance de nefropatia segundo os gêneros, uma vez que todos os casos de nefropatia ocorreram em pacientes do gênero masculino. Estes dados são corroborados por outros estudos, que também encontraram o gênero masculino como fator de risco para evolução para nefropatia^{95, 96}. Em 2009, Prince et al.¹³⁵ descreveram que os pacientes do gênero masculino tinham uma chance 2,2 vezes maior de evoluir com nefropatia do que os pacientes do gênero feminino. Entretanto, outros estudos não encontraram essa associação^{67, 136}. Um dos autores desses trabalhos discute a significância destes dados, uma vez que não são uniformes e, provavelmente, a chance de replicação do BKPyV e consequente risco para evolução para a nefropatia não tem uma relação com gênero, e conclui que estas discordâncias podem ser encontradas em decorrência das diferenças nos grupos estudados¹³⁵.

Excluindo a variável gênero, foi construído um modelo de regressão logística múltipla para o desfecho de nefropatia com as duas variáveis que mais influenciaram o risco de ocorrência de nefropatia no modelo de análise univariada, que foram tempo de isquemia fria e rejeição aguda. Contudo, essas variáveis continuaram não influenciando a ocorrência de nefropatia nesse modelo final.

Conforme descrito anteriormente, o presente estudo seguiu a recomendação atual dos *guidelines* para monitorização do BKPyV e realizamos a diminuição da imunossupressão de viremia sustentada para evitar desenvolvimento de NABKPyV ^{81, 82}. Nós questionamos a partir de qual valor de replicação viral no sangue o paciente encontra-se em maior risco de evolução para nefropatia, quando, a partir de então, devemos iniciar a redução da imunossupressão, mesmo sob o risco aumentado de evolução para rejeição.

A construção da curva ROC da viremia evidenciou que o valor de viremia que melhor discrimina o risco de evolução para viremia sustentada foi de 37.487 cópias/mL, com sensibilidade de 78,6% e especificidade de 90,2%. E o valor de viremia que melhor discrimina o risco de evolução para nefropatia foi de 44.955 cópias/mL, com sensibilidade de 75,0% e especificidade de 83,0%.

A definição correta dos níveis de corte de viremia para BKPyV com alta possibilidade de prever a ocorrência de NABKPyV é importante para não iniciar redução desnecessária da imunossupressão de pacientes com replicação viral em níveis abaixo daquele considerado de risco para evolução da nefropatia e, por outro lado, assumir o risco de evolução para rejeição ¹⁰⁵. Como sugerido por alguns autores, valores de *cut-off* acima de 10.000 cópias/mL determinam maior risco de evolução para nefropatia com indicação de biópsia renal independente da função renal ^{61, 137}. Hirsch et al.⁶¹ demonstraram que valores de viremia acima de 10.000 cópias/mL apresentam uma sensibilidade de 70% e especificidade de 93% para

evolução para NABKPyV. Entretanto, trabalhos mais recentes têm encontrado valores de *cut-off* de viremia para risco de evolução para nefropatia maiores, semelhantes aos nossos resultados. Pollara et al.⁹⁰ encontraram um valor de *cut-off* de viremia de 41.000 cópias/mL com sensibilidade de 94,9% e especificidade de 100% para evolução para NABKPyV. Em 2013, Elfadawy et al.⁹¹ encontraram o valor de *cut-off* de viremia, com possibilidade de prever NABKPyV, de 185.000 cópias/mL no início da viremia com sensibilidade de 75% e especificidade de 97% e, no pico, de 223.000 cópias/mL com sensibilidade de 88% e especificidade de 91%.

Essas diferenças encontradas nos diversos estudos de vigilância de replicação do BKPyV, em relação aos resultados de *cut-off* de viremia para maior risco de desenvolvimento de nefropatia, possivelmente refletem as diferenças clínico-epidemiológicas dos doadores e receptores, da imunossupressão utilizada na terapia de indução e no seguimento pós-transplante, bem como a redução da imunossupressão em situação de viremia positiva sustentada, na tentativa de obter o clareamento viral pelo sistema imune do paciente. O estudo publicado por Simard-Meilleur et al.⁹², em 2017, discute que o *cut-off* de 10.000 cópias/mL, para identificação dos pacientes em risco de desenvolver nefropatia com indicação de início de manejo da imunossupressão, não é aplicável em todos os centros transplantadores; os autores discutem, adicionalmente, que não há padronização da técnica de q-PCR, sendo, portanto, importante que cada

centro transplantador defina o seu próprio *cut-off* para o melhor manejo dos pacientes transplantados renais.

Em nosso estudo, o valor de viremia que melhor discriminou a evolução para NABKPyV foi de 44.955 cópias/mL, o que muitos autores chamam de viremia de pico, que é o maior valor de viremia no período do seguimento ^{91, 92, 128}. Contudo, é importante ressaltar que o paciente que apresenta viremia sustentada é um paciente de maior risco para evolução para nefropatia. No nosso estudo, 14 pacientes evoluíram com viremia sustentada e todos apresentaram também viremia de pico acima do valor do *cut-off* de 44.955 cópias/mL, sendo que sete evoluíram para nefropatia. Três pacientes que apresentaram viremia de pico acima de 44.995 cópias/mL sem viremia sustentada não evoluíram para nefropatia. Ou seja, para intervir com diminuição de imunossupressão nos pacientes de maior risco de evolução para NABKPyV, o grupo de escolha são os pacientes com viremia sustentada, que evoluem com maiores picos de viremia.

Entretanto, para guiar o início do manejo antes de aguardar um novo teste de viremia para definição de viremia sustentada, adotar um valor de *cut-off* de 44.995 cópias/mL mostrou-se melhor do que o valor de *cut-off* de 10.000 cópias/mL. Em nosso estudo, se tivéssemos adotado apenas o critério de *cut-off* de viremia acima de 10.000 cópias/mL para início da redução da imunossupressão, teríamos reduzido a imunossupressão de cerca de 12% da casuística (29 pacientes). Entretanto, assumindo o valor *cut-off* de viremia determinado pelo nosso estudo que melhor discriminou o risco de evolução para nefropatia, que foi de 44.955 cópias/mL, reduziríamos

a imunossupressão em cerca de metade desses casos - 17 pacientes, equivalente a 6,9% da casuística.

A curva ROC do tempo de transplante para ocorrência da primeira viremia não conseguiu discriminar a ocorrência de nefropatia.

Outro assunto não resolvido na literatura é o impacto do doador vivo com replicação do BKPyV na evolução do receptor para nefropatia. Em 2014, Verghese et al.¹³⁸ avaliaram a presença de viruria em 98 pares de doador e receptor de transplante renal com doador vivo e não encontraram relação entre viruria do doador no pré-transplante com o risco de evolução para viruria do receptor no pós transplante. Contudo, em 2012, Thakur et al.¹⁰³ encontraram que 25 de 87 (28,7%) dos receptores e 17 de 38 (44,7%) dos doadores apresentavam viremia positiva no pré-transplante e evidenciaram que o par receptor-doador de transplante renal, com viremia positiva no pré-transplante, impactava em maior risco para desenvolvimento de nefropatia no receptor no pós-transplante. Os autores desse trabalho avaliaram que os achados eram decorrentes de uma maior prevalência de infecção pelo BKPyV na população indiana. Em 2016, Schwarz et al.¹³³ acompanharam 214 pacientes de transplante com doador vivo e demonstraram que um doador com viruria positiva aumentava o risco do receptor de apresentar infecção pelo BKPyV no pós-transplante. Esses autores também encontraram doador de transplante de doador vivo com viremia positiva no pré-transplante, contudo, como foi apenas um doador, não foi possível estimar o risco de o receptor evoluir com infecção no pós-transplante de acordo com a presença ou não de viremia no doador. Em

nosso estudo, optamos por avaliar apenas a viruria dos doadores no momento do transplante renal, e não a viremia, porque, exceto pelo estudo de Thakur et al.¹⁰³, acima mencionado, as taxas de viremia na população geral são semelhantes à encontrada por Schwarz et al.¹³³, que reportaram 0,4% de viremia positiva entre doadores saudáveis. Na nossa casuística, nenhum doador apresentou viruria positiva e a viremia não foi avaliada. Portanto, os nossos dados não permitem elucidar essa questão.

O impacto da replicação do BKPyV no candidato a transplante renal no momento pré-transplante no risco de replicação viral no período pós-transplante tem sido avaliado por alguns autores. Alguns autores reportaram que a replicação viral encontrada em pacientes em estágio final de doença renal, no momento do transplante renal, aumentou o risco de replicação viral destes no período pós-transplante ^{139, 140}. Em 2014, Mitterhofer et al.¹⁴¹ estudaram 60 pacientes transplantados renais e encontraram uma associação entre viruria positiva no momento pré-transplante com replicação viral no pós-transplante. Contudo, em artigo publicado pelo nosso grupo, em 2016, avaliamos um subgrupo de 34 pacientes da presente casuística que haviam coletado amostras de urina para detecção do BKPyV por q-PCR no pré-transplante e mensalmente no primeiro ano pós-transplante, e não encontramos correlação entre viruria pré-transplante com evolução para viruria e viremia no pós-transplante ¹⁴².

No presente estudo, dos 246 receptores incluídos, dois apresentaram pesquisa de *decoy cell* positiva no momento do transplante, mas o dado de avaliação de viruria no momento pré-transplante foi bastante prejudicado

porque 208 pacientes não conseguiram colher amostra de urina por serem anúricos no momento do transplante. Os dois receptores que apresentaram *decoy cell* positiva no pré-transplante evoluíram com viremia no pós-transplante, contudo nenhum deles apresentou viremia sustentada ou diagnóstico de NABKPyV.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. O número de pacientes incluídos na coorte não permitiu a melhor análise dos fatores de risco para ocorrência de viremia sustentada e nefropatia. Outra limitação foi a construção da curva ROC para o cálculo de *cut-off* de viremia que melhor discrimine o risco para evolução de nefropatia. Para a construção dessa curva, foi considerado o maior valor de viremia nos pacientes que não evoluíram para nefropatia, ou o valor de viremia que o paciente apresentou imediatamente antes do diagnóstico de nefropatia para aqueles que evoluíram com esse diagnóstico. Entretanto, o valor de maior viremia para os pacientes que não evoluíram para nefropatia incluiu os casos de viremia sustentada e nefropatia prováveis, que foram submetidos ao manejo da imunossupressão para o controle da replicação viral. Como dito anteriormente, a replicação viral é a condição necessária para a evolução para nefropatia; assim sendo, não podíamos manter uma conduta apenas expectante de observação da dinâmica da replicação viral nesses casos, e assumimos ser como maior valor de viremia do seguimento pós-transplante, sem considerar o impacto da redução da imunossupressão na replicação viral desses pacientes.

Em resumo, a vigilância de replicação viral no nosso serviço detectou prevalência de *decoy cell*, viremia e nefropatia semelhantes à da literatura, um fato dentro do que esperávamos, uma vez que, conforme discutido anteriormente, as características do doador, do receptor e do transplante da nossa casuística também foram semelhantes a outras casuísticas de estudo de viremia e nefropatia pelo BKPyV.

Porém, o valor de *cut-off* para risco de desenvolvimento de nefropatia foi de 44.955 cópias/mL, acima do *cut-off* mais amplamente reportado na literatura. Nossos dados reforçam a necessidade de que os serviços de transplante renal estabeleçam seu próprio protocolo de vigilância de BKPyV, considerando os recursos e os exames disponíveis, bem como o *cut-off* de viremia para risco de evolução de nefropatia, que reflita as características da população em questão e da intensidade da imunossupressão utilizada pelo serviço.

Os dados do presente projeto possibilitaram a revisão do protocolo de vigilância do BKPyV no Serviço de Transplante Renal do HCFMUSP. Desde junho de 2014, os pacientes transplantados renais passaram a ser monitorados para replicação do BKPyV no sangue, mensalmente, do 3º ao 9º mês pós-transplante e a cada 3 meses a partir do 9º mês até o 24º mês pós-transplante, e biópsia renal passou a ser indicada quando o valor de viremia estivesse acima de 45.000 cópias/mL.

Diante dos resultados do presente estudo, considero interessante avaliar o impacto da utilização do *cut-off* de 45.000 cópias/mL na evolução para viremia sustentada e NABKPyV nos pacientes transplantados renais do

STR em seguimento sob o protocolo atual de monitorização de replicação pelo BKPyV, delineado após a análise dos dados do estudo em questão.

Adicionalmente, consideraria a oportunidade de avaliar a resposta imune celular específica no manejo dos pacientes que evoluem com viremia positiva por BKPyV para melhor discriminar os pacientes que de fato têm risco maior de desenvolvimento de nefropatia e, dessa forma, auxiliar na intensidade da redução da imunossupressão sem aumentar, de forma desnecessária, o risco de evolução para uma rejeição e possibilidade de perda do enxerto renal.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Com os achados deste estudo podemos concluir que:

- A prevalência de virúria por pesquisa de *decoy cell* foi de 36,9%, a de viremia por q-PCR foi de 22,3%, a de viremia sustentada foi de 5,7%, e a de NABKPyV foi de 3,2%.
- O único fator de risco encontrado para associação com evolução para viremia sustentada e para NABKPyV foi o gênero masculino.
- O valor de *cut-off* de viremia que melhor discriminou o risco para evolução para viremia sustentada foi de 37.487 cópias/mL e para NABKPyV foi de 44.955 cópias/mL.
- Os resultados do estudo permitiram a elaboração de um protocolo de monitorização de replicação do BKPyV dos pacientes transplantados renais do STR do HCFMUSP.
- Neste estudo não foi possível verificar a associação entre a replicação do BKPyV do doador no momento do transplante de doador intervivo na evolução da replicação viral e nefropatia do receptor.
- A evolução para perda do enxerto nos pacientes com diagnóstico de NABKPyV foi de 25%.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Gross L. A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1953;83(2):414-21.
2. Dalianis T, Hirsch HH. Human polyomaviruses in disease and cancer. *Virology*. 2013;37(2):63-72.
3. Sweet BH, Hilleman MR. The vacuolating virus, SV40. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1960;105:420-7.
4. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet*. 1971;(7712):1257-60.
5. Garner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (BK) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet*. 1971;1(7712):1253-7.
6. Allander T, Andreasson K, Gupta S, Bjerkner A, Bogdanovic G, Persson MA, et al. Identification of a third human polyomavirus. *J Virol*. 2007; 81(8):4130-6.
7. Gaynor AM, Nissen MD, Whiley DM, Mackay IM, Lambert SB, Wu G, et al. Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. *PLoS Pathog*. 2007;3(5):596-604.

8. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science*. 2008;319(5866):1096-100.
9. Van der Meijden E, Janssens RW, Lauber C, Bouwes Bavinck JN, Gorbalenya, AE, Feltkamp MC. Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient. *PLoS Pathog*. 2010;6(7):1-10.
10. Moens U, Van Ghelue M, Ehlers B. Are human polyomaviruses co-factors for cancers induced by other oncoviruses? *Rev Med Virol*. 2014;24(5):343-60.
11. Pastrana DV, Fitzgerald PC, Phan GQ, Raiji MT, Murphy PM, McDermott DH, et al. A divergent variant of the eleventh human polyomavirus species, Saint Louis polyomavirus. *Genome Announc*. 2013;1(5):e00812-13.
12. Feltkamp MC, Kazem S, van der Meijden E, Lauber C, Gorbalenya AE. From Stockholm to Malawi: Recent developments in studying human polyomaviruses. *J Gen Virol*. 2013;94(3):482-96.
13. Johne R, Buck CB, Allander T, Atwood WJ, Garcea RL, Imperiale MJ, et al. Taxonomical developments in the family Polyomaviridae. *Arch Virol*. 2011;156:1627-34.
14. Rinaldo CH, Tylden GD, Sharma BN. The human polyomavirus BK (BKPyV): virological background and clinical implications. *APMIS*. 2013;121(8):728-45.

15. Hirsch HH. BK Virus: Opportunity Makes a Pathogen. *Clin Infect Dis.* 2005;41:354-60.
16. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis.* 2003; 3(10):611-23.
17. Dolei A, Pietropaolo V, Gomes E, Di Taranto C, Ziccheddu M, Spanu MA, et al. Polyomavirus persistence in lymphocytes: prevalence in lymphocytes from blood donors and healthy personnel of a blood transfusion centre. *J Gen Virol.* 2000;81:1967-73.
18. Fishman JA. BK virus Nephropathy-Polyomavirus adding insult to injury. *N Engl J Med.* 2002;347(7):527-30.
19. Puneet S, Sundaram H. BK virus infection after renal transplantation. *Dial Transplant.* 2011;40(3):102-7.
20. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hamze O, Fink JC, Klassen DK, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:2145-51.
21. Zheng HY, Nishimoto Y, Chen Q, Hasegawa M, Zhong S, Ikegaya H, et al. Relationships between BK virus lineages and human populations. *Microbes Infect.* 2007;9(2):204-13.
22. Nishimoto Y, Zheng HY, Zhong S, Ikegaya H, Chen Q, Sugimoto C, et al. An Asian origin for subtype IV BK virus based on phylogenetic analysis. *J Mol Evol.* 2007;65(1):103-11.

23. Zalona AC, Lopes GS, Schrago CG, Gonçalves RT, Zalis MG, Varella RB. Molecular characterization of BK polyomavirus subtypes in renal transplant recipients in Brazil. *J Med Virol.* 2011;83(8):1401-5.
24. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E. Histologic versus molecular diagnosis of BK polyomavirus-associated nephropathy: a shifting paradigm? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;1(3):374-9.
25. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, Buser A, Samaridis J, Stebler C, et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis.* 2009;199(6):837-46.
26. Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog.* 2009;5(3)e100036.
27. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DW, et al. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *J Med Virol.* 2003;71(1):115-23.
28. Antonsson A, Green AC, Mallitt KA, O'Rourke PK, Pawlita M, Waterboer T, et al. Prevalence and stability of antibodies to the BK and JC polyomaviruses: a long-term longitudinal study of Australians. *J Gen Virol.* 2010;91(7):1849-53.
29. Viscidi RP, Rollison DE, Sondak VK, Messina JL, Giuliano AR, et al. Age-specific seroprevalence of Merkel cell polyomavirus, BK virus, and JC virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2011;18(10):1737-43.
30. Carter JJ, Paulson KG, Wipf GC, Miranda D, Madeleine MM, Johnson LG, et al. Association of Merkel cell polyomavirus-specific antibodies with Merkel cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(21):1510-22.

-
31. Pastrana DV, Tolstov YL, Becker JC, Moore PS, Chang Y, Buck CB. Quantitation of human seroresponsiveness to Merkel cell polyomavirus. *PLoS Pathog.* 2009;5(9) e1000578.
32. van der Meijden E, Kazem S, Burgers MM, Janssens R, Bouwes Bavinck JN, de Melker H, et al. Seroprevalence of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(8):1355-63.
33. Schowalter RM, Pastrana DV, Pumphrey KA, Moyer AL, Buck CB. Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin. *Cell Host Microbe.* 2010;7(6):509-15.
34. Nicol JT, Robinot R, Carpentier A, Carandina G, Mazzoni E, Tognon M, et al. Age-specific seroprevalences of merkel cell polyomavirus, human polyomaviruses 6, 7, and 9, and trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(3):363-8.
35. Trusch F, Klein M, Finsterbusch T, Kühn J, Hofmann J, Ehlers B. Seroprevalence of human polyomavirus 9 and cross-reactivity to African green monkey-derived lymphotropic polyomavirus. *J Gen Virol.* 2012;93(4):698-705.
36. Korup S, Rietscher J, Calvignac-Spencer S, Trusch F, Hofmann J, Moens U, et al. Identification of a novel human polyomavirus in organs of the gastrointestinal tract. *PLoS One.* 2013;8(3)e58021.
37. De Gascun CF, Carr MJ. Human polyomavirus reactivation: disease pathogenesis and treatment approaches. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:373579.

38. Fredriksen K, Osei A, Sundsfjord A, Traavik T, Rekvig OP. On the biological origin of anti-double-stranded (ds) DNA antibodies: systemic lupus erythematosus-related anti-dsDNA antibodies are induced by polyomavirus BK in lupus-prone (NZBxNZW) F1 hybrids, but not in normal mice. *Eur J Immunol.* 1994;24(1):66-70.
39. Linden PK. History of solid organ transplantation and organ donation. *Crit Care Clin.* 2009;25(1):1651-84.
40. Dagoor JY, Hakim DN, Singh RP, Hakim NS. Transplantation: a brief history. *Exp Clin Transpl.* 2015;13(1):1-5.
41. Hill RB, Dahrling BE 2nd, Starzl TE, Rifkind D. Death after transplantation; an analysis of sixty cases. *Am J Med.* 1967;42(3):327-34.
42. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med.* 2007;357(25):2601-14.
43. Fishman JA, Issa NC. Infection in organ transplantation: risk factors and evolving patterns of infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2010;24(2):273-83.
44. Fishman JA, Emery V, Freeman R, Pascual M, Rostaing L, Schlitt HJ, et al. Cytomegalovirus in transplantation – challenging the status quo. *Clin Transplant.* 2007;21(2):149-58.
45. Ramsay M. Advances in transplantation 1940-2014. *Anesthesiol Clin.* 2013;31(4):645-58.
46. Razonable RR. Cytomegalovirus infection after liver transplantation. *Liver Transplantation.* 2010;16(10):S45-S53.

47. Pérez-Sola MJ, Castón JJ, Solana R, Rivero A, Torre-Cisneros J. Indirect effects of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(1):38-47.
48. Galliford J, Game DS. Modern renal transplantation: present challenges and future prospects. *Postgrad Med J*. 2009;85(1000):91-101.
49. Fernandes-Pêgo, PM, Garcia, VD. Estado atual do transplante no Brasil. *Diagn Tratamento*. 2010;15(2):51-2.
50. Coleman DV, Garner SD, Field AM. Human Polyomavirus in Renal Allograft Recipients. *Br Med J*. 1973;3(5876):371-5.
51. Ramos E, Drachenberg CB, Wali R, Hirsch HH. The decade of polyomavirus BK-associated nephropathy: state of affairs. *Transplantation*. 2009;87(5):621-30.
52. Joseph A, Pilichowska M, Boucher H, Kiernan M, DeNofrio D, Inker LA. BK virus nephropathy in heart transplant recipients. *Am J Kidney Dis*. 2015;65(6):949-55.
53. Muñoz P, Fogeda M, Bouza E, Verde E, Palomo J, Bañares R. Prevalence of BK virus replication among recipients of solid organ transplants. *Clin Infect Dis*. 2005;41(12):1720-5.
54. Loeches B, Valerio M, Pérez M, Bañares R, Ledesma J, Fogeda M, et al. BK virus in liver transplant recipients: a prospective study. *Transplant Proc*. 2009;41(3):1033-7.

56. Zeng Y, Magil A, Hussaini T, Yeung CK, Erb SR, Marquez-Alazagara V, et al. First confirmed case of native polyomavirus BK nephropathy in a liver transplant recipient seven years post-transplant. *Ann Hepatol.* 2015; 14(1):137-40.
57. Egli A, Helmersen DS, Taub K, Hirsch HH, Johnson A. Renal failure five years after lung transplantation due to polyomavirus BK-associated nephropathy. *Am J Transplant.* 2010;10(10):2324-30.
58. Gargiulo G, Orlando L, Alberani F, Crabu G, Di Maio A, Duranti L, et al. Haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): a prospective observational study of incidence and management in HSCT centres within the GITMO network (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo). *Ecancermedicalscience.* 2014;10(8):1-12.
59. DelaCruz J, Pursell K. BK virus and its role in hematopoietic stem cell transplantation: evolution of a pathogen. *Curr Infect Dis Rep.* 2014;16(8):417.
60. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus tipe BK replication and nephropathy in renal transplant recipients. *N Engl J Med.* 2002;347(7):488-96.
61. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant.* 2005; 5(3):582-94.

63. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005; 79(10):1277-86.
64. Kwak EJ, Vilchez RA, Randhawa P, Shapiro R, Butel JS, Kusne S. Pathogenesis and management of polyomavirus infection in transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2002;35(9):1081-7.
65. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers WK, Gloor JM, et al. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int*. 2003;64(2): 665-6.
66. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, Bourquin PM, Simsir A, Fink J, et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol*. 1999;30(8):970-7.
67. Dekeyser M, François H, Beaudreuil S, Durrbach A. Polyomavirus-specific cellular immunity: from BK-virus-specific cellular immunity to BK-virus-associated nephropathy? *Front Immunol*. 2015;16(6):307.
68. Ribeiro A, Wörnle M, Motamedi N, Anders HJ, Gröne EF, Nitschko H, et al. Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy. *Kidney Int*. 2012;81(1):100-11.
69. Ginevri F, De Santis R, Comoli P, Pastorino N, Rossi C, Botti G, et al. Polyomavirus BK infection in pediatric kidney-allograft recipients: a single-center analysis of incidence, risk factors, and novel therapeutic approaches. *Transplantation*. 2003;75(8):1266-70.

70. Smith JM, McDonald RA, Finn LS, Healey PJ, Davis CL, Limaye AP. Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2004;4(12):2109-17.
71. Ginevri F, Azzi A, Hirsch HH, Basso S, Fontana I, Cioni M, et al. Prospective monitoring of polyomavirus BK replication and impact of pre-emptive intervention in pediatric kidney recipients. *Am J Transplant.* 2007;7(12):2727-35.
72. Bohl DL, Storch G, Ryschkewitsch C, Gaudreault-Keener M, Schnitzler MA, Major EO, Brennan DC. Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia. *Am J Transplant* 2005;5: 2213-21.
73. Bohl DL, Brennan DC, Ryschkewitsch C, Gaudreault-Keener M, Major EO, Storch GA. BK virus antibody titers and intensity of infections after renal transplantation. *J Clin Virol.* 2008;43(2):184-9.
74. Hariharan S, Cohen EP, Vasudev B, Orentas R, Viscidi RP, Kakela J, et al. BK virus-specific antibodies and BKV DNA in renal transplant recipients with BKV nephritis. *Am J Transplant.* 2005;5(11):2719-24.
75. Comoli P, Azzi A, Maccario R, Basso S, Botti G, Basile G, et al. Polyomavirus BK-specific immunity after kidney transplantation. *Transplantation.* 2004;78(8):1229-32.
76. Binggeli S, Egli A, Schaub S, Binet I, Mayr M, Steiger J, et al. Polyomavirus BK-specific cellular immune response to VP1 and large T-antigen in kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007;7(5):1131-9.

77. Tong D, Miller J, Kokko K, McLaughlin S, Lukacher AE, Gangappa S, et al. Healthy individuals generate a predominantly CD4 cell response against polyomavirus BK. *Am J Transplant.* 2005;5(11):452.
78. Zhou W, Sharma M, Martinez J, Srivastava T, Diamond DJ, Knowles W, et al. Functional characterization of BK virus-specific CD4+ T cells with cytotoxic potential in seropositive adults. *Viral Immunol.* 2007;20(3):379-88.
79. Comoli P, Basso S, Hirsch H, et al. Humoral and cellular immunity to polyomavirus BK large T and VP1 antigens after pediatric kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8(Suppl 2):283.
80. Schaenman JM, Korin Y, Sidwell T, Kandarian F, Harre N, Gjertson D, et al. Increased frequency of BK virus-specific polyfunctional CD8+ T cells predict successful control of BK viremia after kidney transplantation. *Transplantation.* 2017;101(6):1479-87.
81. Babel N, Fendt J, Karaivanov S, Bold G, Arnold S, Seifin A, et al. Sustained BK viruria as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples. *Transplantation.* 2009;88(1):89-95.
82. Alméras C, Vetromile F, Garrigue V, Szwarc I, Foulongne V, Mourad G. Monthly screening for BK viremia is an effective strategy to prevent BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2011;13(2):101-8.
83. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9(Suppl 3):S1-S155.

84. 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. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(Suppl 7):74-88.
85. Koss LG. Of tissues, cells, and molecules: reminiscences of an old pathologist. *Hum Pathol.* 2007;38(10):1447-53.
86. Kazory A, Ducloux D. Renal transplantation and polyomavirus infection: recent clinical facts and controversies. *Transpl Infect Dis.* 2003;5(2):65-71.
87. Hurault de Ligny B, Etienne I, Francois A, Toupance O, Buchler M, Touchard G, et al. Polyomavirus-induced acute tubulo-interstitial nephritis in renal allograft recipients. *Transplant Proc.* 2000;32(8):2760-1.
88. Marinelli K, Bagnarelli P, Gaffi G, Trappolini S, Leoni P, Paggi AM, et al. PCR real time assays for the early detection of BKV-DNA in immunocompromised patients. *New Microbiol.* 2007;30(3):275-6.
89. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J, et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant.* 2004;4(12):2082-92.
90. Montagner J, Michelon T, Fontanelle B, Oliveira A, Silveira J, Schroeder R, et al. BKV-infection in kidney graft dysfunction. *Braz J Infect Dis.* 2010;14(2):170-4.

92. Pires EP, Bernardino-Vallinoto CV, Alves DM, Migone SR, Machado LF, Ishak MO, Ishak R, et al. Prevalence of infection by JC and BK polyomaviruses in kidney transplant recipients and patients with chronic renal disease. *Transpl Infect Dis*. 2011;13(6):633-7.
93. Pollara CP, Corbellini S, Chiappini S, Sandrini S, De Tomasi D, Bonfanti C, et al. Quantitative viral load measurement for BKV infection in renal transplant recipients as a predictive tool for BKVAN. *New Microbiol*. 2011;34(2):165-71.
94. Elfadawy N, Flechner SM, Liu X, Schold J, Tian D, Srinivas TR, et al. The impact of surveillance and rapid reduction in immunosuppression to control BK virus-related graft injury in kidney transplantation. *Transpl Int*. 2013;26(8):822-32.
95. Simard-Meilleur MC, Clermont PB, St-Louis C, Pâquet MR, Girardin C, Fortin MC, et al. Stabilization of renal function after the first year of follow-up in kidney transplant recipients treated for significant BK polyomavirus infection or BK polyomavirus-associated nephropathy. *Transpl Infect Dis*. 2017;19(3):1-9.
96. Nickeleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P, Thiel G, Mihatsch MJ. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(5):1080-9.
97. Pham PT, Schaenman J, Pham PC. BK virus infection following kidney transplantation: an overview of risk factors, screening strategies, and therapeutic interventions. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014;19(4):401-12.

98. Trofe J, Gaber LW, Stratta RJ, Shokouh-Amiri MH, Vera SR, Alloway RR, et al. Polyomavirus in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2003;5:21-8.
99. Ramos E, Drachenberg CB, Portocarrero M, Wali R, Klassen DK, Fink JC, et al. BK virus nephropathy diagnosis and treatment: experience at the University of Maryland Renal Transplant Program. *Clin Transpl.* 2002;143-53.
100. Hogan TF, Borden EC, McBain JA, Padgett BL, Walker DL. Human polyomavirus infections with JC virus and BK virus in renal transplant patients. *Ann Intern Med.* 1980;92(3):373-8.
101. Randhawa P, Ho A, Shapiro R, Vats A, Swalsky P, Finkelstein S, et al. Correlates of quantitative measurement of BK polyomavirus (BKV) DNA with clinical course of BKV infection in renal transplant patients. *J Clin Microbiol.* 2004;42(3):1176-80.
102. Thomas A, Dropulic LK, Rahman MH, Geetha D. Ureteral stents: a novel risk factor for polyomavirus nephropathy. *Transplantation.* 2007;84(3):433-6.
103. Barri YM, Ahmad I, Ketel BL, Barone GW, Walker PD, Bonsib SM, et al. Polyoma viral infection in renal transplantation: the role of immunosuppressive therapy. *Clin Transplant.* 2001;15(4):240-6.
104. Hassig A, Roos M, Etter A, Bossart W, Müller N, Schiesser M, et al. Association of BK viremia with human leukocyte antigen mismatches and acute rejection, but not with type of calcineurin inhibitor. *Transpl Infect Dis.* 2014;16(1):44-54.

105. Wunderink HF, van der Meijden E, van der Blij-de Brouwer CS, Mallat MJ, Haasnoot GW, van Zwet EW, et al. Pretransplantation donor-recipient pair seroreactivity against BK polyomavirus predicts viremia and nephropathy after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2017;17(1):161-72.
106. Thakur R, Joshi K, Minz M, Singla A, Nada R, Arora S, et al. Dual positivity of donor and recipient plasma for BK virus confers a high risk for development of bk nephropathy in renal allograft. *Transplant Proc*. 2012; 44(3):717-20.
107. Randhawa PS, Demetris AJ. Nephropathy due to polyomavirus type BK. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1361-3.
108. Celik B, Shapiro R, Vats A, Randhawa P. Polyomavirus allograft nephropathy: sequential assessment of histologic viral load, tubulitis and graft function following changes in immunosuppression. *Am J Transplant*. 2003;3(11):1378-82.
109. Farasati NA, Shapiro R, Vats A, Randhawa PS. Effect of leflunomide and cidofovir on replication of BK-virus in an in vitro culture system. *Transplantation*. 2005;79(1):116-8.
110. Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, Corey L, Jerome KR, Meehan SM, et al. Treatment of refractory BK virus-associated nephropathy with cidofovir. *Am J Transplant*. 2003;3(2):186-91.
111. Vats A, Shapiro R, Singh Randhawa P, Scantlebury V, Tuzuner A, Saxena M, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplantation*. 2003;75(1):105-12.

112. Leca N, Muczynski KA, Jefferson J, Boer IH, Kwaleswka J, Kendrick EA, et al. Higher levels of leflunomide are associated with hemolysis and are not superior to lower levels for BKvirus in renal transplant patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(3):829-35.
113. Davis JP, Cain GA, Pitts WJ, Magolda RL, Copeland RA. The immunosuppressive metabolite of leflunomide is a potent inhibitor of human dihydroorotate dehydrogenase. *Biochemistry*. 1996;35(4):1270-3.
114. Gabardi S, Waikan SS, Martin S, Roberts K, Chen J, Borgi L, et al. Evaluation of fluoroquinolones for the prevention of BK viremia after renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(7):1298-304.
115. Wojciechowski D, Chanda R, Chandran S, Lee B, Webber A, Macaraig M, et al. Ciprofloxacin prophylaxis in kidney transplant recipients reduces BK virus infection at 3 months but not at 1 year. *Transplantation*. 2012;94(11):1117-23.
116. Lee BT, Gabardi S, Grafals M, Hofmann RM, Akalin E, Aljanabi A, et al. Efficacy of levofloxacin in the treatment of BK viremia: a multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(3):583-9.
117. Lebreton M, Esposito L, Mengelle C, Del Bello A, Delarche A, Dörr G, et al. A 3-month course of ciprofloxacin does not prevent BK virus replication in heavily immunosuppressed kidney-transplant patients. *J Clin Virol*. 2016; 79:61-7.
118. Randhawa PS, Schonder K, Shapiro R, Farasati N, Huang Y. Polyomavirus BK neutralizing activity in human immunoglobulin preparations. *Transplantation*. 2010;89(12):1462-5.

119. Johnston O, Jaswal D, Gill JS, Doucette S, Fergusson DA, Konll GA. Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: a systematic review. *Transplantation*. 2010;89(9):1057-69.
120. Soleza K, Colvinb RB, Racusenc C, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008;8(4):753-60.
121. Coleman DV. The cytodagnosis of human polyomavirus infection. *Acta Cytol*. 1975;19(2):93-6.
122. Koss LG. On decoy cells. *Acta Cytol*. 2005;49(3):233-4.
123. Pal A, Sirota L, Maudru T, Peden K, Lewis A Jr. Real-time, quantitative PCR assays for the detection of virus-specific DNA in samples with mixed populations of polyomaviruses. *J Virol Methods*. 2006;135(1):32-42.
124. Oliveira RR. Determinação da incidência e caracterização molecular do poliomavírus humano BK em pacientes submetidos a transplante renal [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.
125. Kirkwood BR, Sterne, JA. Essential medical statistics. 2. ed. Massachusett: Blackwell Science; 2006.
126. Hosmer DW, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. 2. ed. New York: Wiley; 2000.
127. Kleinbaum DG. Survival analysis: a self-learning text. 1 ed. New York: Springer; 1996.

128. Dimensionamento dos transplantes no Brasil e em cada estado 2009-2016 (on-line). Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos; 2016 (citado 11 jun. 2017). Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03/default.aspx?mn=457&c=900&s=0>.
129. OPTN/UNOS. National Data Reports, Transplants by Donor Type 2017.2017. Disponível em: <https://optn.transplant.hrsa.gov/data/view-data-reports/national-data/#>
130. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F, Wiecek A, et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013;13(1):136-45.
131. Elfadawy N, Flechner SM, Schold JD, Srinivas TR, Poggio E, Fatica R, et al. Transient versus persistent BK viremia and long-term outcomes after kidney and kidney-pancreas transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9(3):553-61.
132. Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, Bröcker V, Rieck D, Framke T, et al. Factors influencing viral clearing and renal function during polyomavirus BK-associated nephropathy after renal transplantation. *Transplantation*. 2012;94(4):396-402.
133. Pang XL, Doucette K, LeBlanc B, Cockfield SM, Preiksaitis JK. Monitoring of polyomavirus BK virus viruria and viremia in renal allograft recipients by use of a quantitative real-time PCR assay: one-year prospective study. *J Clin Microbiol*. 2007;45(11):3568-73.

135. Alméras C, Foulongne V, Garrigue V, Szwarc I, Vetromile F, Segondy M, Mourad G. Does reduction in immunosuppression in viremic patients prevent BK virus nephropathy in de novo renal transplant recipients? A prospective study. *Transplantation*. 2008;85(8):1099-104.
136. Viscount HB, Eid AJ, Espy MJ, Griffin MD, Thomsen KM, Harmsen WS, et al. Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. *Transplantation*. 2007;84(3):340-5.
137. Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, Framke T, Haller H, Schmitt C. Viral origin, clinical course, and renal outcomes in patients with BK virus infection after living-donor renal transplantation. *Transplantation*. 2016;100(4):844-53.
138. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):503-28.
139. Prince O, Savic S, Dickenmann M, Steiger J, Bubendorf L, Mihatsch MJ. Risk factors for polyoma virus nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(3):1024-33.
140. Khamash HA, Wadei HM, Mahale AS, Larson TS, Stegall MD, Cosio FG, Griffin MD. Polyomavirus-associated nephropathy risk in kidney transplants: the influence of recipient age and donor gender. *Kidney Int*. 2007;71(12):1302-9.
141. Costa C, Bergallo M, Astegiano S, Terlizzi ME, Sidoti F, Segoloni GP, Cavallo R. Monitoring of BK virus replication in the first year following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(10):3333-6.

142. Verghese PS, Schmeling DO, Knight JA, Matas AJ, Balfour HH Jr. The impact of donor viral replication at transplant on recipient infections posttransplant: a prospective study. *Transplantation*. 2015;99(3):602-8.
143. Hayat A, Mukhopadhyay R, Radhika S, Sachdeva MS, Nada R, Joshi K, et al. Adverse impact of pretransplant polyoma virus infection on renal allograft function. *Nephrology*. 2008;13(2):157-63.
144. Thakur R, Arora S, Nada R, Minz M, Joshi K. Prospective monitoring of BK virus reactivation in renal transplant recipients in North India. *Transpl Infect Dis*. 2011;13(6):575-83.
145. Mitterhofer AP, Tinti F, Pietropaolo V, Umbro I, Anzivino E, Bellizzi A, et al. Role of BK virus infection in end-stage renal disease patients waiting for kidney transplantation--viral replication dynamics from pre- to post-transplant. *Clin Transplant*. 2014;28(3):299-306.
146. Bicalho CS, Oliveira RR, Pierrotti LC, Fink MC, Urbano PR, Nali LH, et al. Pre-transplant shedding of BK virus in urine is unrelated to post-transplant viruria and viremia in kidney transplant recipients. *Clin Transplant*. 2016; 30(7):796-801.

9 ANEXOS

9 ANEXOS

Anexo 1: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Ao
Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa- CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU** na sessão de 15.10.2014 a execução do subprojeto intitulado "**Vigilância da reativação do poliomavírus BK e evolução para Nefropatia Associada ao Poliomavírus (NAPV) nos pacientes renais: estimativa da prevalência de vrúria por decoy cell, viremia por PCR_RT e NAPV e determinação dos fatores de risco para reativação e evolução para NAPV**", que será dissertação de Mestrado da aluna Camila da Silva Bicalho, tendo como orientadora o Profa. Dra. Lígia Camara Pierrotti.

O referido projeto faz parte do **Protocolo de Pesquisa nº 0234/10**, intitulado "**Infecção pelos poliomavírus humanos BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial**", aprovado por esta CAPPesq em 12.05.2010.

acuse
Luiz Augusto
11/11/14

CAPPesq, 15 de Outubro de 2014

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovidio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
Fone: 55 11 3069-8442 ramais 16, 17, 18 e 20 - e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Cópia

Anexo 2: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo do Protocolo de Pesquisa 0234/10

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0234/10

Título: Infecção pelos poliomavírus humanos BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial

Pesquisador Responsável: Lígia Camera Pierroffi, Cristiano Gambá

Pesquisador Executante: Renato dos Reis Oliveira, Elias David Neto, Luiz Sérgio Azevedo, Maria Cristina Ribeiro de Castro, Claudio Pannuli

Disciplina: Moléstias Infecciosas e Parasitárias

Departamento: MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 15/10/2014, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

• Carta datada de 03/04/2014 - Notificação informando que o subprojeto Vigilância da reativação do poliomavírus BK e evolução para Nefropatia Associada ao Poliomavírus (NAPV) nos pacientes renais: estimativa da prevalência de viremia por decoy cell, viremia por PCR-RT e NAPV e determinação dos fatores de risco para reativação e evolução para NAPV será dissertação de mestrado da pós graduanda Camila da Silva Bicalho e relatório de andamento do estudo.

CAPPesq, 15 de Outubro de 2014

creche
Renato dos Reis Oliveira
14/11/14

alfredomansur
Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovidio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | cappesq.edm@hc.fm.usp.br

Cópia

Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – do Doador

1

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

**MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
DOADOR TRANSPLANTE RENAL**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº: APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº: APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Infecção pelo Poliomavírus BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial.**

PESQUISADOR : Dra. Lígia Câmara Pierrotti

CARGO/FUNÇÃO: Médica Infectologista – Assistente, da Divisão de Infectologia do Depto de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 77.357/ SP

UNIDADE DO HCFMUSP: Divisão de Infectologia do Depto de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 4 anos

Trata-se de um estudo com pacientes transplantados renais no Serviço de Transplante Renal (STR) do HCFMUSP para monitorização da infecção pelo poliomavírus e suas conseqüências no enxerto renal. O poliomavírus é um vírus bastante comum nas pessoas e causa pouca doença na população em geral, mas em pacientes transplantados renais pode causar inflamação no rim e perda da função do rim enxertado. Existe a possibilidade de esse vírus ser transferido do doador para o receptor no momento do transplante renal, embora se acredite que na maioria das vezes esse vírus já esteja presente no receptor antes do transplante, e apenas se manifeste no período pós-transplante.

A sua participação no estudo é voluntária e visa estudar melhor a possibilidade de transmissão do poliomavírus do doador para o receptor de transplante renal nos transplantes inter-vivos.

A sua participação no estudo não modificará o tratamento realizado tanto sua (doador) quanto do receptor do seu rim; durante sua participação no estudo serão realizados todos os procedimentos médicos que já são rotina durante o procedimento cirúrgico do transplante e no acompanhamento do receptor no período pós-transplante, incluindo todos os exames laboratoriais.

1. A sua participação no estudo permitirá a coleta de exames de urina e sangue na internação do transplante, antes da cirurgia, que serão analisadas apenas após o transplante, e que os resultados não mudarão em nada o transplante. Solicitamos a sua autorização para coleta de amostras de urina (duas) e sangue para a pesquisa da infecção pelo poliomavírus.

As coletas de amostra de urina poderão ser obtidas durante micção espontânea, após desprezar o primeiro jato, ou por técnica de sondagem, se no momento da realização do exame o médico da STR indicar o uso da sonda urinária de alívio ou de demora por qualquer razão independente dessa pesquisa. As coletas de sangue são iguais às rotineiras realizadas durante a sua avaliação no período pré-transplante. Tanto as coletas de urina como de sangue não causarão nenhum risco a você, mas podem causar um pequeno desconforto.

A sua participação no estudo não trará nenhum benefício imediato para você ou para quem recebeu o seu rim. Ao final do estudo, a análise conjunta dos dados obtidos de todos os participantes do estudo deverá fornecer conhecimento para esclarecer melhor sobre a possibilidade de transmissão do poliomavírus do doador para o receptor de transplante renal, e no caso de haver transmissão, poderemos utilizar essa informação em benefício de futuros pacientes que serão submetidos ao transplante renal.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra. Lígia Câmara Pierrotti, que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, s/n, Hospital das Clínicas – Instituto Central, 4º andar – Divisão de Infectologia, ou telefone 3069 6530.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a sua liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Direito de confidencialidade – as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Infecção pelo Poliomavírus BK em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial."**

Eu discuti com o Dra. *Lígia Câmara Pierrotti* sobre minha decisão de participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

_____ Data ____/____/____

Assinatura do paciente/representante legal

Assinatura da testemunha _____ Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo _____ Data ____/____/____

Anexo 4: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – do Receptor**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

1

**MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
RECEPTOR TRANSPLANTE RENAL****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME:
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: .M ☐ F ☐
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Infecção pelo Poliomavírus BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial.**

PESQUISADOR : Dra. Lígia Câmara Pierrotti

CARGO/FUNÇÃO: Médica Infectologista – Assistente, da Divisão de Infectologia do Depto de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 77.357/ SP

UNIDADE DO HCFMUSP: Divisão de Infectologia do Depto de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 4 anos

Trata-se de um estudo com pacientes transplantados renais no Serviço de Transplante Renal (STR) do HCFMUSP para monitorização da infecção pelo poliomavírus e suas consequências no enxerto renal. O poliomavírus é um vírus bastante comum nas pessoas em geral e causa pouca doença, mas em pacientes transplantados renais pode causar inflamação no rim e perda da função do rim enxertado. A monitorização da infecção pelo poliomavírus por exames de urina e sangue permite o diagnóstico mais precoce da inflamação do rim pelo vírus, possibilitando que o médico trate essa inflamação mais rapidamente, diminuindo a chance de evolução para perda da função do rim.

A sua participação no estudo é voluntária e caso você não queira participar do estudo não implicará em nenhum tipo de prejuízo para seu tratamento no HC. Durante sua participação no estudo serão realizados todos os procedimentos médicos que já são rotina no acompanhamento pós-transplante renal da STR, incluindo os exames laboratoriais e as biópsias renais que forem necessários, e o tratamento imunossupressor.

A coleta de exames adicionais de urina e sangue durante este estudo tem como objetivo monitorar a infecção pelo poliomavírus. Isso permitirá identificar e tratar mais precocemente a inflamação no seu rim causada por esse vírus caso você venha a ter essa doença, e também conhecer melhor os aspectos dessa doença em pacientes transplantados renais, ajudando a melhorar o atendimento médico de situações semelhantes. No caso de você apresentar suspeita de infecção com inflamação no seu rim pelo poliomavírus baseado nos resultados de exames de urina e sangue, o seu médico do STR solicitará um exame de biópsia renal para checar se você tem de fato a inflamação no rim, que se confirmada, será tratada conforme a rotina do STR. A indicação dessa biópsia de rim já é rotina no seu acompanhamento no STR, e será indicado independentemente de você participar ou não deste estudo. Da mesma forma, o tratamento da nefropatia pelo poliomavírus será realizado conforme rotina do Serviço, e será independente da sua participação ou não no estudo.

Solicitamos a sua autorização para coleta de amostras de urina e sangue para a pesquisa da infecção pelo poliomavírus, conforme a proposta do estudo:

1. Coleta de urina e sangue na internação hospitalar para o transplante renal. No caso de você não apresentar diurese nesse momento será colhido apenas a amostra de sangue.
2. Amostras de urina todos os meses no primeiro ano pós-transplante e a cada três meses no segundo ano pós-transplante; e amostra de urina em qualquer momento pós-transplante quando indicado pelo seu médico do STR para investigar a infecção pelo poliomavírus.
3. Amostras de sangue a cada duas semanas ou mensais nos dois anos pós-transplante, ou em qualquer momento pós-transplante quando indicado pelo seu médico do STR, quando o seu exame de urina indicar infecção pelo poliomavírus.

4. Biópsia renal nos dois anos pós-transplante, ou em qualquer momento pós-transplante quando indicado pelo seu médico do STR, quando o seu exame de sangue indicar infecção pelo poliomavírus e possível inflamação no seu rim.

As coletas de amostra de urina poderão ser obtidas durante micção espontânea, após desprezar o primeiro jato, ou por técnica de sondagem, se no momento da realização do exame o seu médico do STR indicar o uso da sonda urinária por qualquer razão independente dessa pesquisa. As coletas de sangue são iguais às rotineiras para exames de sangue em geral. Tanto as coletas de urina como de sangue não causarão nenhum risco a você, mas podem causar um pequeno desconforto e o trabalho de vir ao hospital mais vezes para a realização periódica desses exames.

Por outro lado, a sua participação no estudo lhe trará o benefício de o seu médico poder fazer o diagnóstico mais precoce de uma possível infecção pelo poliomavírus e inflamação no seu rim pelo vírus, podendo tratá-lo mais precocemente, diminuindo a chance de você perder a função do seu enxerto renal. Durante a sua participação no estudo, tanto você como o seu médico do STR serão informados dos resultados de todos os exames realizados.

Durante o estudo, a depender dos resultados dos seus exames de sangue e urina para o diagnóstico da infecção pelo poliomavírus, o seu médico do STR o encaminhará para o acompanhamento conjunto ambulatorial com o serviço de infectologia do HCFMUSP, sob a coordenação do médico responsável por este estudo (Dra. Lígia Câmara Pierrotti).

Ao final do estudo, a análise conjunta dos dados obtidos de todos os participantes do estudo deverá fornecer conhecimento para melhorar o tratamento de pacientes com condições clínicas semelhantes à sua.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra. Lígia Câmara Pierrotti, que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, s/n, Hospital das Clínicas – Instituto Central, 4º andar – Divisão de Infectologia, ou telefone 3069 6530.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a sua liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Direito de confidencialidade – as informações obtidas serão analisadas em conjunto com oSTRos pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

4

transplante renal: seguimento clínico-laboratorial."

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

Anexo 5 - Adendo para incluir pesquisa de virúria por q-PCR na vigilância da replicação do BKPyV.

São Paulo, 13 de julho de 2010.

Ilmo. Sra.
Profa. Maria Aparecida Shikanai Yasuda
Coordenadora da Comissão de Ética e Pesquisa
Depto de Moléstias Infecciosas e Parasitárias
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Adendo ao projeto de pesquisa do protocolo CAPPesq nº 0234/10 intitulado: “Infecção pelos Poliomavírus Humanos BK e JC em pacientes submetidos a transplante renal: seguimento clínico-laboratorial”.

Venho por este meio encaminhar a esta Comissão um adendo ao projeto supracitado, aprovado pela CAPPesq, em sessão de 13 de maio de 2010.

A única modificação pretendida é a alteração do fluxo de monitorização das amostras de urina para indicação da coleta de amostras de sangue.

No projeto original, a solicitação de coleta de sangue para diagnóstico de viremia baseava-se na presença de poliomavírus na urina avaliada somente pela positividade na técnica de citologia (*decoy-cell*). No projeto modificado, esta coleta passa a se basear também pela positividade pela técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) em tempo renal (qRT-PCR).

Ressaltamos que não haverá necessidade de alteração do TCLE, já que o mesmo diz que a coleta de sangue será feita sempre que a pesquisa do poliomavírus for positiva na urina, não discriminando qual a técnica utilizada (item 3 do TCLE de amostras clínicas pós-transplante renal para os receptores).

As alterações propostas estão destacadas nas páginas 11, 12, 17 e 19 do referido projeto (anexo).

Justificativa

O projeto original foi desenhado para propiciar um acompanhamento clínico-laboratorial da reativação dos poliomavírus em pacientes submetidos a transplante renal no Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas - FMUSP, visando a prevenção de nefropatia associada ao poliomavírus nos receptores de transplante renal.

O diagnóstico por citologia urinária para identificação de células uroteliais com inclusões virais, denominadas *decoy-cell*, foi o método inicialmente escolhido para triagem para detecção dos poliomavírus na urina e utilizado na rotina do HC-FMUSP. A técnica de qRT-PCR para identificação do vírus em sangue e urina, pioneira em nosso meio, foi implementada para o projeto com o intuito de quantificar as amostras clínicas positivas para os poliomavírus.

No entanto, ao compararmos os resultados preliminares do diagnóstico de poliomavírus em urina por ambas as técnicas, concluímos que a técnica molecular

apresenta maior sensibilidade do que a citologia urinária, como descrito pelos resultados que se seguem.

Entre 91 amostras de urina testadas ao longo do acompanhamento dos pacientes, 79 (86,8%) foram positivas para a presença do BKV por qualquer técnica (*Decoy cell* e/ou PCR em tempo real). No entanto, analisando as técnicas separadamente, 34 das 43 amostras (79,0%) consideradas negativas pela técnica citológica confirmaram, através da técnica molecular, a presença de poliomavírus na urina dos receptores (tabela 1).

Tabela 1: Comparação entre as técnicas de citologia e qRT-PCR em amostras de urina de pacientes submetidos a transplante renal – STR, HC-FMUSP

		PCR em tempo real		TOTAL
		<i>neg</i>	<i>pos</i>	
Citologia	<i>neg</i>	9	34	43
	<i>pos</i>	3	45	48
	TOTAL	12	79	91

Propomos que a monitorização das amostras de urina para a presença de poliomavírus e conseqüente solicitação de coleta de sangue para análise de viremia passe a ser realizada através do diagnóstico positivo para pelo menos uma das técnicas supracitadas. Deste modo, acreditamos que uma pesquisa mais rápida e precisa da viremia possibilitará uma conduta mais eficaz em relação à prevenção da nefrite.

De acordo:

Dra. Lígia Câmara Pierrotti – Pesquisadora Responsável

Dr. Cláudio Sérgio Pannuti – pelo Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical -

Dr. Elias David Neto – pelo Serviço de Transplante Renal do HC - FMUSP.