

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA  
MESTRADO E DOUTORADO

**ESTUDO DA INCIDÊNCIA DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS  
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ANTIGENEMIA,  
EM UMA COORTE DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS.**

*Luciane Deboni*

Porto Alegre

2001

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA  
MESTRADO E DOUTORADO

**ESTUDO DA INCIDÊNCIA DA INFECÇÃO POR CITOMEGALOVÍRUS  
ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ANTIGENEMIA,  
EM UMA COORTE DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS.**

*Luciane Deboni*

Orientador: Prof. Roberto C. Manfro

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul para a  
obtenção do grau de Mestre em Medicina: Nefrologia

Porto Alegre

2001

## SUMÁRIO

### LISTAS

ABREVIATURAS

GLOSSÁRIO

QUADROS

FIGURAS

TABELAS

RESUMO

SUMMARY

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. O Vírus .....	1
1.2. Infecção citomegálica na população geral.....	2
1.3. Citomegalovírus e sistema imune.....	3
1.4. Infecção e doença citomegálica .....	6
1.5. Citomegalovírus em pacientes imunodeprimidos .....	6
1.6. Formas clínicas e sintomatologia .....	7
1.7. Infecção citomegálica e imunossupressão .....	9
1.8. Diagnóstico de infecção e doença citomegálica .....	14
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1. Principal.....	17
2.2. Secundários.....	17
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
3.1. Pacientes e período do estudo .....	18
3.1.1. Imunossupressão .....	18
3.1.2. Amostras para a pesquisa de Antigenemia.....	19
3.1.3. Técnica de Antigenemia .....	19
3.2. Critérios de infecção e doença .....	23
3.3. Parâmetros analisados.....	23
3.4. Análises estatísticas.....	25
3.5. Delineamento do estudo.....	26
3.6. Execução dos testes .....	27
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>

4.1. Dados Demográficos .....	28
4.2. Amostras analisadas para antigenemia.....	30
4.3. incidência de infecção e doença citomegálica .....	32
4.4. Fatores de risco para infecção e doença citomegálica .....	37
4.4.1. Rejeição aguda.....	37
4.4.2. Dose total de Metilprednisolona .....	39
4.4.3. Uso de OKT3 .....	41
4.4.4. Tipo de doador, idade e sexo .....	42
4.4.5. Sexo e idade do receptor .....	44
4.4.6 . Sorologia para citomegalovírus no doador e receptor.....	45
4.5. Impacto da infecção e doença citomegálica sobre a função renal .....	49
4.6. Impacto da infecção e doença por citomegalovírus nas taxas de sobrevida dos enxertos e pacientes .....	50
4.7. Sobrevida dos enxertos quanto ao tipo de doador e presença de infecção ou doença citomegálica .....	56
4.8. Sobrevida dos pacientes de acordo com o tipo de doador e a presença de infecção ou doença citomegálica .....	60
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>62</b>
5.1. Incidência de Infecção e Doença.....	62
5.2. Anticorpos monoclonais e citomegalovírus.....	64
5.3. Sintomatologia .....	66
5.4. Rejeição e Citomegalovírus.....	67
5.5. Variáveis demográficas do doador e receptor .....	71
5.6 Sorologia do Doador e Receptor .....	71
5.7. Sobrevida do enxerto e do paciente .....	79
5.8. Métodos diagnósticos .....	82
5.9. Antigenemia e outros métodos diagnósticos .....	86
5.10. Prevenção e tratamento da infecção por CMV .....	91
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>100</b>
6.1. Quanto ao objetivo principal .....	100
6.2. Quanto aos objetivos secundários.....	100
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>101</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADCC: citotoxicidade celular dependente de anticorpos

Age: Antigenemia

AMP-c: Adenosina Monofosfatidil Transferase Cíclica

CMV: Citomegalovírus

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

D-: Doadores de órgãos com sorologia negativa (IgG) para citomegalovírus

D +: Doadores de órgãos com sorologia positiva (IgG) para citomegalovírus

HHV6: Humam Herpes Vírus - 6

HHV7: Human Herpes Vírus - 7

IC: Intervalo de confiança

IF: Imunofluorescência

INF  $\gamma$ : Interferon gama

IRC: Insuficiência Renal Crônica

ME: microscopia eletrônica

MHC: Complexo Principal de Histocompatibilidade

MO: Microscopia óptica

NKC: Células Exterminadoras Naturais

OKT3: anticorpos monoclonais anti-CD3

PCR: Reação de Polimerização em Cadeia

R -: Receptores de transplante com sorologia negativa (IgG) para citomegalovírus

R+: Receptores de transplante com sorologia positiva (IgG) para citomegalovírus.

r.p.m.: Rotações por minuto

RR: Risco relativo

SIDA: Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

TNF  $\alpha$ : Fator de Necrose Tumoral alfa

USA: United States of America (Estados Unidos da América)

VPN: Valor preditivo negativo

VPP: Valor preditivo positivo

## GLOSSÁRIO:

- Doença citomegálica: Infecção ativa por citomegalovírus, com sintomas ou invasão tecidual pelo vírus.
- Infecção Ativa: infecção primária ou secundária que pode ser assintomática ou sintomática, caracterizada pela replicação viral
- Infecção Latente: Persistência do vírus em hospedeiro saudável, com sorologia (IgG) positiva, sem replicação viral.
- Infecção Primária: Infecção em pacientes previamente não infectado, com sorologia (IgG) negativa para citomegalovírus, que desenvolve soroconversão ou sintomas.
- Infecção Secundária: Infecção em paciente previamente infectado, com sorologia positiva (IgG), causada pela reativação do vírus latente ou pela reinfecção de um novo vírus exógeno.
- Tratamento Preemptivo: tratamento com anti-virais (ganciclovir) iniciado a partir da detecção de vírus (antigenemia positiva), sem sinais de doença.
- Tratamento Deferido: tratamento com anti-virais (ganciclovir) iniciado em pacientes com antigenemia positiva e sinais de doença citomegálica.
- Tratamento Profilático: uso de antivirais em pacientes sem sinais de infecção ativa, nem sintomas de doença citomegálica.\*

---

\* O uso de antivirais em pacientes com maior risco de desenvolver doença citomegálica, como aqueles que receberam anticorpos monoclonais, não deve ser considerado como tratamento "preemptive", e sim como tratamento profilático de grupos de risco.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Fatores de risco para infecção por citomegalovírus em pacientes transplantados renais.....	10
---	----



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Técnica de antígenemia, usando anticorpos monoclonais contra o antígeno viral pp65, através do método de imunoperoxidase. va. ....	22
Figura 2. Polimorfonuclear exibindo antígeno viral pp65.....	22
Figura 3. Número de amostras de sangue analisadas por paciente para pesquisa de antígenemia no período estudado.....	31
Figura 4. Curva de sobrevida atuarial anual do paciente e do enxerto, estratificada conforme o tipo de doador, vivo ou cadáver .....	51
Figura 5. Curva de sobrevida atuarial do enxerto, estratificada pelo resultado da antígenemia e o desenvolvimento de doença citomegálica .....	54
Figura 6. Curva de sobrevida atuarial dos pacientes, estratificada pelo resultado da antígenemia e o desenvolvimento de doença citomegálica .....	55
Figura 7. Sobrevida do enxerto nos receptores de rins de doadores vivos, segundo a presença de antígenemia e desenvolvimento de doença citomegálica .....	57
Figura 8. Curva de sobrevida do enxerto dos receptores de rins de doadores cadáveres, conforme o resultado da antígenemia e desenvolvimento de doença citomegálica pós transplante .....	57
Figura 9. Curva de sobrevida do enxerto nos pacientes com antígenemia positiva e negativa, conforme o tipo de doador vivo e cadáver .....	58
Figura 10. Sobrevida do enxerto nos pacientes com doença citomegálica presente ou ausente, conforme o tipo de doador vivo ou cadáver .....	59
Figura 11. Curva de sobrevida atuarial dos pacientes transplantados que apresentaram antígenemia positiva e doença citomegálica conforme o tipo de doador vivo ou cadáver .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos da amostra.....	28
Tabela 2. Causas de perdas do enxerto precoces: .....	29
Tabela 3. Distribuição dos resultados das antigenemias, conforme o período pós operatório de coleta da amostra.....	31
Tabela 4. Freqüência de sintomas nos pacientes com infecção viral.....	33
Tabela 5. Sintomatologia dos pacientes com infecção citomegálica .....	33
Tabela 6. Resultado dos testes de antigenemias e desenvolvimento de doença citomegálica grave. ....	34
Tabela 7. Resultado das antigenemias e o desenvolvimento de sintomas clínicos sugestivos de doença citomegálica.....	35
Tabela 8. Média do número de amostras analisadas por paciente, nos grupos com antigenemia positiva, doença citomegálica e antigenemia negativa. ....	36
Tabela 9. Média do número de células positivas por amostra, nos pacientes com infecção e doença citomegálica. ....	37
Tabela 10. Incidência de infecção citomegálica nos pacientes com e sem rejeição aguda do enxerto. ....	38
Tabela 11. Incidência de Doença por citomegalovírus nos pacientes que apresentaram rejeição celular aguda. ....	38
Tabela 12. Incidência de infecção citomegálica conforme a dose total acumulada de Metilprednisolona. ....	40
Tabela 13. Incidência de doença por citomegalovírus conforme a dose total acumulada de Metilprednisolona.....	40
Tabela 14. Incidência de antigenemia positiva conforme o uso de anticorpos monoclonais.....	41
Tabela 15. Incidência de doença por citomegalovírus conforme o uso de anticorpos monoclonais.....	42
Tabela 16. Comparação das variáveis relacionadas ao doador e receptor, com os resultados de antigenemia positiva e doença citomegálica.....	44
Tabela 17. Desenvolvimento de antigenemia positiva conforme a sorologia (IgG) do doador e receptor.....	
Tabela 18. Desenvolvimento de antigenemia positiva e doença cito	

conforme o status sorológico (IgG) do doador e receptor, e sobrevida do enxerto em 6 anos, em receptores de transplante renal com doador vivo.....	47
Tabela 19. Impacto da combinação da sorologia do doador e receptor no desenvolvimento de Infecção citomegálica e sobrevida do enxerto em 6 anos nos transplantes com doadores vivos. ....	48
Tabela 20. Média e desvio padrão das creatininas a cada ano de acompanhamento, no grupo de pacientes com e sem infecção por citomegalovírus, e nos pacientes com e sem doença citomegálica.....	49
Tabela 21. Percentual de perdas do enxerto nos grupos com antigenemias negativas, positivas e doença citomegálica. ....	52
Tabela 22. Perdas do enxerto nos grupos de pacientes com antigenemias positivas e doença citomegálica .....	53

## RESUMO

O citomegalovírus (CMV), está entre os principais agentes infecciosos que acometem pacientes transplantados renais. A infecção por CMV está relacionada ao status sorológico do doador e receptor, bem como o tipo e intensidade da imunossupressão utilizada. A infecção, e em especial a doença citomegálica, determinam aumento da morbi-mortalidade após o transplante. O espectro da doença varia desde formas assintomáticas até a doença sistêmica grave com comprometimento de vários órgãos. A doença por CMV é diagnosticada através da evidência laboratorial de infecção, associada a quadro clínico compatível. A técnica da antigenemia identifica a presença do antígeno viral p65 em leucócitos do sangue periférico através de reação de imunoperoxidase utilizando-se anticorpos monoclonais.

O objetivo principal deste trabalho foi o de determinar a incidência de infecção por CMV em uma coorte de pacientes transplantados renais usando a antigenemia como ferramenta diagnóstica. Secundariamente buscou-se avaliar o impacto desta infecção nas sobrevidas dos pacientes e dos enxertos em 6 anos de acompanhamento.

No período de inclusão no estudo, janeiro de 1994 a fevereiro de 1995, foram realizados 74 transplantes renais na Santa Casa de Porto Alegre–RS. As amostras de sangue para a detecção da antigenemia foram obtidas semanalmente durante a internação hospitalar e posteriormente, sempre que houvesse suspeita clínica de infecção por citomegalovírus. Das 229 amostras analisadas, 51 (22,3%) foram positivas, em 24 pacientes, dos quais 41,6% (10/24) evoluíram de forma assintomática, 33,3% (8/24) apresentaram sintomas leves, e 25% (6/24) desenvolveram sintomas compatíveis com doença citomegálica. Desta foi

coorte estudada, a incidência de infecção e doença por CMV foram de 33,3% e 8,4%, respectivamente. Não houve associação entre as doses de imunossuppressores, o uso de anticorpos monoclonais e número de episódios de rejeição com o desenvolvimento de infecção e doença por CMV. Nos transplantes realizados com doadores vivos, a incidência de infecção por CMV nos receptores de rins de doadores com sorologia positiva foi 61,9%, e nos receptores de doadores com sorologia negativa foi 14,3% ( $p=0,005$ ). Os transplantes com receptores com sorologia negativa transplantados com rins de doadores soropositivos apresentaram incidência significativamente maior de infecção (75%) e doença (75%) por CMV do que os receptores com sorologia positiva transplantados com órgãos de doadores com soronegativos, 13,3% e 0%, respectivamente ( $p<0,05$ ). A sensibilidade da antigenemia em detectar os pacientes que desenvolveram doença citomegálica foi de 100% e a especificidade foi 72,7%, com valor preditivo positivo de 25% e valor preditivo negativo de 100%. No grupo de pacientes que apresentou doença por CMV, ao término do seguimento, ocorreu um número significativamente mais elevado de perdas do enxerto (85%) do que no grupo de pacientes em que a infecção foi assintomática (29%), acarretando impacto negativo nas curvas de sobrevida de enxertos e pacientes (LogRank;  $p<0,05$ ).

A antigenemia mostrou ser uma ferramenta diagnóstica importante no manejo dos pacientes transplantados renais, possibilitando o diagnóstico precoce da infecção e auxiliando na identificação dos pacientes infectados que estão sob maior risco de desenvolvimento da doença .

## **SUMMARY**

Cytomegalovirus (CMV) is a major infectious agent in renal allograft rec

CMV infection is related to the serologic status of the donor and the recipient, as well as to the type and dosage of immunosuppression that the recipient is submitted to. Infection and specially disease due to CMV have determined a rise in morbidity and mortality after transplantation. The spectrum of the disease ranges from completely asymptomatic all the way up to a severe systemic disease with multiple organ compromise. CMV disease is diagnosed through laboratory evidence of infection associated with a compatible clinical presentation. Antigenemia technique identifies the presence of the p65 viral antigen in peripheral blood leukocytes through a peroxidase reaction, using monoclonal antibodies.

The objective of this work was to determine the incidence of infection caused by CMV in a cohort of renal transplanted patients, using the antigenemia as a diagnostic tool. Furthermore, the outcome of graft and patients in a 6 year follow-up period was evaluated.

During the period of inclusion in the study (January 1994 to February 1995), 74 renal transplants were performed at Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS. Blood samples for detection of antigenemia were obtained weekly during the patient's in-hospital period, and whenever there was a clinical suspicion of CMV infection afterwards. Of the 229 analyzed samples, 51 (22.3%) were positive in 24 patients, of which 41.6% (10/24) presented no symptoms, 33.3% (8/24) had mild symptoms, and 25% (6/24) developed symptoms compatible with CMV disease. In this cohort, the incidence of infection and CMV disease was 33.3% and 8.4%, respectively. There was no association between the dosage of immunosuppressive agents, the use of monoclonal antibodies and the number of rejection episodes with the development of infection or disease caused by CMV. In living related transplants, the incidence of CMV infection in receptors of serum positive donors was 61.9%, and

in the recipients of serum negative donors it was 14.3% ( $p=0.005$ ). Serum negative recipients transplanted with organs of serum positive donors presented a significantly greater incidence of infection (75%) and disease (75%) than the serum negative recipients transplanted with organs of serum negative donors, 13,3 % and 0% respectively ( $p<0.05$ ). The sensibility of antigenemia to detect the patients that developed CMV disease was 100%, and the specificity was 72.7%, with a positive predictive value of 25% and a negative predictive value of 100%. At the end of the follow-up, in the group of patients who presented CMV disease the incidence of graft loss was significantly higher than the one observed in the group of patients who remained asymptomatic (85% versus 29% respectively), having a negative impact in the survival curve for both grafts and patients (LogRank;  $p<0.05$ ).

Antigenemia proved to be an important tool in the assessment of renal transplant patients, permitting the early diagnosis of disease, and the identification of infected patients that are at risk for the development of disease.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. O Vírus

O citomegalovírus (CMV) foi isolado pela primeira vez a partir da cultura de células da glândula salivar de ratos, por SMITH (1954). O termo "citomegalovírus" foi introduzido por WELLER (1970), devido a característica de citomegalia observada nas células infectadas por este vírus. No entanto, provavelmente a primeira descrição do vírus foi feita no início do século por JOSIONEK e KIOLEMENOGLOU (1904), que encontraram células citomegálicas em autópsias de crianças. Nos últimos 40 anos, o conhecimento sobre as características do vírus tem aumentado a partir de novas técnicas laboratoriais, e de numerosos estudos em modelos animais e estudos clínicos em pacientes imunossuprimidos (VAN SON e THE, 1989).

O CMV é um vírus do tipo DNA (ácido desoxirribonucleico), da família dos herpes vírus, constituída por mais de 25 tipos, que inclui o vírus do herpes simplex tipo 1 e 2 (VHS-1 e VHS-2), vírus da varicella-zoster e o vírus Epstein-Baar. A estrutura viral é formada por uma dupla hélice de DNA, revestida por uma capa proteica, que por sua vez, está coberta por um envelope. O capsídeo proteico que envolve a hélice de DNA, tem simetria icosaédrica, composto por 162 capsômeros dispostos de forma ordenada, que apresentam uma simetria axial: 5:3:2. Cada capsômero é um prisma hexagonal alargado com um orifício no centro. O citomegalovírus é o maior vírus da família do herpes humano, com aproximadamente 200 nanômetros de diâmetro (JACOBSON e MILLS, 1988). Existem diferentes cepas virais, todas apresentando características comuns como: forte associação celular, tendência de permanecer na forma latente dentro



da célula infectada por muitos anos, possibilidade de reativação viral quando houver comprometimento do sistema imune do hospedeiro, e potencial indução de malignidade (RUBIN e COSIMI, 1986).

## **1.2. Infecção citomegálica na população geral**

A infecção por CMV é extremamente comum na população em geral e apresenta distribuição universal. A prevalência da infecção, demonstrada pela presença de anticorpos fixadores de complemento anti-CMV, é de 50% em adultos com mais de 50 anos nos países desenvolvidos, e de 90% nos países em desenvolvimento (GLENN et al., 1981; ROGERS et al., 1980). A presença de anticorpos da classe IgG (imunoglobulina G) anti-CMV no plasma é indicativa de contato prévio com o vírus, não demonstrando infecção viral ativa. Entretanto, o vírus tem sido isolado na saliva, macrófagos alveolares urina, leite, secreções cervicais, sêmen, fezes e sangue dos indivíduos contaminados (HO, 1982). Novos métodos sensíveis de detecção, como PCR, não têm conseguido demonstrar a presença do vírus latente em macrófagos alveolares em pessoas imunologicamente competentes, com sorologia positiva para CMV (FAJAC et al., 1994), havendo algumas dúvidas em relação aos sítios de latência do vírus. A alta prevalência desta infecção na população geral demonstra que existem várias formas de contágio. A transmissão do vírus ocorre preferencialmente por via parenteral ou sexual, entretanto o contágio pode ocorrer ainda na vida intra-útero, no nascimento através do canal de parto (MUSSI-PINHATA et al., 1998), através do aleitamento materno, pelo contato direto com indivíduos contaminados, através de sangue e derivados, ou através do transplante de órgãos com doadores infectados (TYMS et al., 1989). Podem ser identificadas algumas

populações onde a prevalência desta infecção é maior, como indivíduos promíscuos sexualmente, homossexuais, crianças prematuras e indivíduos politransfundidos, especialmente com sangue fresco (GLENN,1981).

Na população geral, imunologicamente competente, o contato com o vírus, na maioria dos indivíduos, causa a infecção primária, que geralmente é assintomática, podendo apresentar sintomas leves e inespecíficos, semelhantes a mononucleose infecciosa ou estado gripal (HANSHAU, 1981). Entretanto, a infecção congênita pelo CMV, transmitida através da placenta ou secreção no canal de parto, costuma manifestar-se através de um amplo espectro de sinais e sintomas, incluindo prematuridade, corioretinite, retardo mental e surdez neurosensorial (MUSSI-PINHATA et al., 1998; ALFORD et al., 1990). Apesar da infecção por CMV nos indivíduos imunocompetentes ser auto-limitada, existem várias alterações no sistema imune durante e após a recuperação da infecção (KANO e SHIOHARA, 2000).

Na população geral, após a infecção inicial, o vírus pode permanecer latente por muitos anos em monócitos, macrófagos, leucócitos polimorfonucleares e em tecidos, como nas células tubulares renais. O genoma viral tem sido isolado em várias células do hospedeiro, entretanto sem evidência de atividade viral nos indivíduos imunologicamente competentes (STAINER et al., 1989).

### **1.3. Citomegalovírus e sistema imune**

A ativação do vírus e sua replicação, geralmente decorrem da diminuição da imunidade mediada por células, como ocorre nos pacientes transplantados e aqueles portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Portanto, as formas clinicamente significativas relacionadas ao CMV, exceto no período

neonatal, resultam do comportamento do vírus como um invasor oportunista em indivíduos imunocomprometidos, levando a reativação viral (RUBIN e COSIMI, 1986).

A infecção primária por CMV determina resposta humoral e celular no hospedeiro. O primeiro contato com o vírus leva a resposta humoral, com produção de anticorpos das classes IgM e IgG específicos, sendo que as IgGs podem permanecer positivas ao longo da vida, e sua presença indica contato prévio com o vírus, e não doença citomegálica ativa.

A resposta celular determinada pelo CMV é mediada por linfócitos T citotóxicos, ativação de células exterminadoras naturais (NKC) e ativação da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) (ROOK et al., 1988). Os anticorpos neutralizantes específicos são produzidos, e além de desempenhar papel na redução da disseminação viral, sua principal função provavelmente seja ativar a imunidade mediada por células dependentes de anticorpos através da combinação destes com o receptor Fc nas células efetoras (QUINNAN et al., 1982). O fato da imunidade humoral estar intacta em pacientes com doença citomegálica grave, com níveis crescentes de anticorpos, demonstra que a imunidade mediada por células é o principal fator limitador da infecção (JEFFRIES, 1989; SYMMONS et al., 1977; HO, 1994). Níveis crescentes de células B periféricas são detectadas por citometria de fluxo, precocemente, antecedendo a infecção ou reativação do CMV, provavelmente representando uma resposta do sistema imune para a replicação viral, com subsequente produção de anticorpos específicos (BESANÇON-WATELET et al., 2000; DÉCHANET et al., 1999). As NKC também desenvolvem papel importante na recuperação da infecção por CMV, pois a recuperação de infecção primária

coincide com aumento da atividade e do número de NKC circulantes (VAN ZANTEN et al., 1998; REUSSER et al., 1991). O papel da ativação dos linfócitos CD8+ e de NKC no sangue periférico na recuperação da infecção por citomegalovírus foi demonstrada por VAN DEN BERG et al. (1992), sugerindo que a monitorização dos linfócitos periféricos possa ser utilizada como fator prognóstico nos pacientes com risco de desenvolver doença citomegálica.

Inversão da relação de CD4/CD8 tem sido descrita em pacientes transplantados durante e após a infecção por CMV, sendo considerado um fator que aumenta o estado de imunossupressão nestes pacientes, favorecendo o desenvolvimento de outras infecções oportunistas (CARNEY et al., 1983), especialmente o *pneumocistis carini*. (MUÑOZ et al., 1997). Recentemente, o estudo dos marcadores de superfície de linfócitos T através da citometria de fluxo, mostrou aumento dos níveis circulantes de CD4+ CD25+, CD8+ HLA DR+, CD4+CD45RO+ e CD8+CD45RO+ durante os episódios de rejeição celular aguda e infecção por CMV, mas não nos casos de intoxicação por ciclosporina (BEIK et al., 1998). Portanto, estes marcadores provavelmente representam ativação do sistema imune, não distinguindo entre rejeição e infecção, podendo diferenciar os episódios de toxicidade pela ciclosporina. BERGE e colaboradores (1998a, 1998b), têm demonstrado que a infecção primária após o transplante renal está associada a um aumento significativo dos séricos níveis de granzima A e B solúvel, o que geralmente não ocorre em outros processos como rejeição celular, podendo ser usado como marcador para diferenciar estas duas condições.

O citomegalovírus também possui várias estratégias para escapar do sistema imune, evitar sua eliminação e permanecer latente. Em indivíduos

imunocompetentes, o CMV inibe a expressão dos antígenos de classe I do MHC nas células infectadas e impede a apresentação pelos macrófagos dos antígenos de classe II dependentes induzidos por  $INF\gamma$  (KANO e SHIOHARA, 2000; REDDEHASE, 2000).

#### **1.4. Infecção e doença citomegálica**

A infecção pelo CMV é definida pela presença de um ou mais dos seguintes critérios: soroconversão, com o surgimento de anticorpos da classe IgM no plasma; aumento de quatro vezes o valor basal dos títulos preexistentes de IgG anti-CMV; detecção do vírus através de cultura; antigenemia positiva; reação de polimerização em cadeia (PCR) (YEUNG et al., 1998). Para o diagnóstico de doença pelo CMV é necessário, além de um dos achados acima, a presença de sinais clínicos de comprometimento de órgãos-alvos, tais como: leucopenia ou trombocitopenia, evidência de dano hepático com aumento das aminotransferases e/ou fosfatase alcalina, pneumonite com infiltrado intersticial ao raio-X e/ou hipoxemia, alterações gastrointestinais como diarreia e/ou vômitos. (FARRUGIA e SCHWAB, 1992).

#### **1.5. Citomegalovírus em pacientes imunodeprimidos**

Nos pacientes imunodeprimidos, a infecção por CMV é uma importante causa de morbidade e mortalidade, principalmente em receptores de órgãos transplantados e portadores de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (URBAN et al., 1994). A infecção ativa tem sido descrita como a complicação infecciosa mais freqüente nos pacientes transplantados, receptores de órgãos sólidos (VAN SON e THE, 1989) e de medula óssea (REUSSER et al., 1990). A incidência

desta infecção na população de receptores de transplante renal, varia de 30 a 60%, podendo chegar a 90% (GLEN, 1981; RUBIN et al., 1985), dependendo do método de detecção viral utilizado e do estado sorológico entre doador e receptor. A infecção viral está associada a disfunção aguda do enxerto (RICHARDSON et al., 1981), aumento da incidência de rejeição crônica (HUMAR et al., 1999a), desenvolvimento de infecções oportunistas sobrepostas (NG-BAUTISTA e SEDMAK, 1995), e de neoplasias linfoproliferativas a longo prazo. Além destas complicações mais comumente relatadas, a infecção por citomegalovírus tem sido descrita como fator que pode contribuir para o desenvolvimento de estenose da artéria renal (POURIA et al. 1998) e microangiopatia trombótica (JEEJEEBHOY e ZALTZMAN, 1998). Também tem sido demonstrada uma associação entre a infecção por CMV e sintomas psiquiátricos (HIBBERD et al., 1995a), bem como lesões oculares (BASÇIL et al., 1996) e lesões mucocutâneas, com as mais diferentes formas de apresentação (DRAGO et al., 2000). Cerca de 10 a 15% dos pacientes infectados pelo CMV desenvolverão doença citomegálica, sendo que em 2% a doença será disseminada e fatal (SYMMONS et al., 1977). Portanto, pelos efeitos descritos, a infecção por CMV é extremamente importante na população de pacientes transplantados e pode colaborar para a diminuição da sobrevida de pacientes e enxertos.

### **1.6. Formas clínicas e sintomatologia**

Além da sensibilidade do método de detecção viral, a incidência e a severidade das manifestações clínicas da infecção pelo CMV em pacientes transplantados depende também do estado sorológico do doador e do receptor, bem como da intensidade da imunossupressão utilizada (ROOK et al., 1984).

A forma latente da infecção por CMV se caracteriza pela presença do vírus sem replicação viral, em hospedeiro imunologicamente competente, com sorologia positiva. A infecção pelo CMV é definida pela presença de anticorpos específicos no sangue periférico ou detecção do vírus nas células do hospedeiro, na ausência de sintomas compatíveis com doença citomegálica.

A infecção é definida como primária quando ocorre em indivíduos com sorologia negativa para CMV antes do transplante (R-), sendo que a forma de contágio neste grupo, é através do órgão transplantado ou pelo uso de sangue e derivados. A infecção primária tem sido associada a doença e desenvolvimento de eventos que acarretam algum grau de morbidade, ou mesmo mortalidade em aproximadamente 60% dos pacientes (BOSCH et al., 1989; LEWIS et al., 1988; WEIR et al., 1988).

A infecção chamada secundária, ocorre em pacientes com sorologia positiva para CMV antes do transplante (R+), e é devida a reativação do vírus latente do receptor, quando este recebe rim de doador negativo (D-, R+), ou por reinfecção transmitida através do órgão transplantado (D+, R+), ou transfusão de sangue ou derivados contaminados com cepas distintas daquelas já presentes nas células do receptor. A incidência de doença citomegálica em receptores soropositivo (R+), é similar, independente da sorologia do doador (D+ ou D-). Nos casos de reativação (D-R+), a doença, quando ocorre, tende a ser leve, geralmente sem complicações graves. Em contraste, os pacientes com sorologia positiva que recebem rins de doadores positivos (R+D+) que desenvolvem doença apresentam uma frequência maior de complicações graves. Portanto, embora a infecção secundária geralmente seja assintomática, quando ocorre doença citomegálica esta é mais severa em receptores de rins com sorologia

positiva (R+D+), sugerindo que a reinfecção mais provavelmente cause doença do que o faça a reativação viral (SMILEY et al., 1985). No entanto, na infecção primária tem sido demonstrada maior ativação imunológica do enxerto e portanto, maior risco de desenvolver rejeição celular associada a infecção por CMV (VON WILLEBRAND et al., 1989) e lesão glomerular (BERGE et al., 1998).

Nas populações de pacientes imunodeprimidos, a infecção ativa, que pode ser primária ou secundária, é caracterizada pela presença de replicação viral, pode evoluir com doença citomegálica. A doença pelo CMV pode determinar um amplo espectro de manifestações clínicas, desde uma forma de infecção leve, com sintomas inespecíficos como febre ou leucopenia transitória, até uma doença grave, potencialmente letal com comprometimento de órgãos alvos como pulmão, fígado, trato gastrointestinal e medula óssea (JEFRIES, 1989).

A doença pelo CMV pode ser classificada como leve, moderada ou grave, dependendo da severidade das manifestações clínicas. A apresentação clínica em pacientes com doença leve pode incluir sintomas gripais, como febre, astenia, artralgias e mialgia. Nas formas graves, o comprometimento de órgãos alvos como o trato gastrointestinal pode ser manifestado por elevação das enzimas hepáticas e fosfatase alcalina, ulcerações de todo o trato gastrointestinal (PFAU e ROTHSTEIN, 1996, MULDOON et al., 1996), gastrite, pancreatite, hepatite granulomatosa (PETERSON et al., 1980), alterações psiquiátricas (HIBBERD et al., 1995a), hepatite auto-imune (KAMISATO et al., 1997) e corioretinite (BLOOM e PALESTINE, 1988).

### **1.7. Infecção citomegálica e imunossupressão**

Alguns fatores são descritos na literatura como sendo de risco para o



desenvolvimento de infecção por CMV na população transplantada renal, conforme o Quadro 1.

Quadro 1: Fatores de risco para infecção por citomegalovírus em pacientes transplantados renais.

- 
- Sorologia do doador e receptor
    - ✓ D+ R-
  - Grau de imunossupressão
    - ✓ Rejeição aguda, doador cadáver,
    - ✓ Incompatibilidade HLA
  - Anticorpos anti linfocitários (policlonais ou monoclonais)
  - Sangue e derivados de doadores soropositivos
  - Idade
    - ✓ Crianças com risco maior que adultos
- 

Adaptado de RUBIN, 1990; FARRUGIA e SCHWAB, 1992.

A severidade da doença está diretamente relacionada ao grau de imunossupressão do receptor, determinado pelo esquema utilizado (tipo, dose, duração, momento de início) e a combinação sorológica entre doador e receptor (FARRUGIA e SCHWAB, 1992). Portanto, os pacientes transplantados com maior risco de desenvolver doença causada por CMV são os receptores com sorologia negativa para CMV que recebem rins de doadores com sorologia positiva (R-D+), e aqueles pacientes em uso de altas doses de imunossupressores, especialmente após a associação de globulinas anti-linfocitárias (ALG ou ATG) ou anticorpos monoclonais anti-CD3 (OKT3®) ao esquema de imunossupressão (RUBIN et al., 1985). Da mesma forma, outros fatores que estão associados com aumento da dose de imunossupressão, como rejeição aguda, doador cadáver, incompatibilidade HLA, podem indiretamente

favorecer o desenvolvimento da infecção por CMV. Crianças transplantadas apresentam maior risco para infecção primária porque estas apresentam baixa prevalência de anticorpos anti-CMV (RUBIN, 1990).

A ciclosporina não tem importante papel na reativação viral, porém determina bloqueio da resposta da célula T- citotóxica contra o CMV, levando a aumento da replicação viral já desencadeada (BOCH et al., 1989).

Devido a alta incidência e aos efeitos deletérios do vírus na sobrevida do enxerto e do paciente, a infecção por CMV tem sido amplamente estudada. Esta é a infecção viral mais relevante na população de pacientes transplantados, e o entendimento de sua interação com o sistema imune, a definição do diagnóstico de doença e infecção, assim como a instituição de tratamento e monitorização da resposta, permanecem como questões polêmicas a serem adequadamente respondidas.

Estudos sobre a resposta celular “in vitro” tem demonstrado a importância das células T citotóxicas, NKC e ADCC em influenciar a evolução da infecção por CMV em pacientes imunodeprimidos, especialmente receptores de transplante de medula óssea (ROOK et al., 1988). Achados similares foram demonstrados em receptores de transplante renal (ROOK et al., 1984). Pacientes com diminuição da atividade celular contra células alvo infectadas por CMV usualmente apresentam doença citomegálica grave e morrem devido a infecções sobrepostas. A depressão das atividade das NKC observada no transplante de medula óssea também tem sido associada a inabilidade das células mononucleares periféricas em liberar linfocinas após a estimulação com substâncias com capacidade mitogênica (ROOK et al., 1983). Uma correlação similar tem sido observada nos transplantes renais, entre a ausência de células

citotóxicas específicas para CMV e a susceptibilidade à doença (leve ou severa) e duração da viremia (ROOK et al., 1994). O mesmo autor demonstrou que o desenvolvimento de células citotóxicas específicas para CMV está correlacionado com uma função renal favorável. Este mecanismo não é bem conhecido, no entanto duas possibilidades são cogitadas: altos níveis de viremia podem atuar como um estímulo imune não específico aumentando o risco de rejeição ou o órgão transplantado pode ser agredido por complexos imunes circulantes.

Na SIDA, a habilidade dos linfócitos em lisar fibroblastos infectados por CMV ou células alvo sensíveis a NKC, diminui progressivamente. Esta alteração é paralela a diminuição de linfócitos CD4 e a presença da viremia se correlaciona com a diminuição do número de linfócitos CD4+ no sangue periférico (ROOK et al., 1988). A infecção por CMV tem sido associada a inversão da relação de células CD4/CD8, devido a uma diminuição relativa ou absoluta da população de células CD4. As alterações na resposta celular podem ser detectadas precocemente no curso da infecção por CMV, antes do vírus poder ser isolado ou de anticorpos específicos poderem ser detectados no plasma (CARNEY et al., 1983). Estes achados podem ter valor prognóstico e significado terapêutico, definindo pacientes que podem ser beneficiados com tratamento baseado na falta de resposta imunológica. (ROOK et al., 1988).

A presença do CMV nas células do hospedeiro, leva a predisposição para outras infecções por vírus, bactérias, fungos e protozoários (GRATTAN, 1989). A presença destas infecções associadas, demonstra um efeito imunomodulador do vírus sobre o hospedeiro, e talvez seja um dos mecanismos pelos quais os pacientes infectados pelo CMV apresentam um maior risco de infecções oportunistas associadas, principalmente por *Pneumocystis carinii* e *Aspergillus sp.*

Esta hipótese é reforçada pela demonstração “in vitro” que a blastogênese, em resposta a mitógenos e antígenos como o herpesvírus, está diminuída durante a infecção por CMV (RINALDO, 1980). A supressão demonstrada, provavelmente está relacionada a capacidade do vírus em infectar monócitos e suprimir a apresentação de antígenos e a liberação de interleucina 1 (KAPASI e RICE, 1988). Além destas evidências, “in vitro” o CMV pode inibir a produção de interferon  $\gamma$  e a função de linfócitos granulares grandes, que são as células primariamente responsáveis pela atividade de exterminadoras naturais (NKC) (ROOK et al., 1985). A doença por CMV está associada ao aumento dos títulos de anticorpos contra os vírus do herpes simples (HHV7 e HHV6), os quais geralmente precedem o surgimento da antigenemia para CMV. Isto sugere que o HHV7 e HHV6 atuam como co-fatores, potencializando o surgimento de doença nos pacientes com infecção por CMV (OSMAN et al., 1996; RATNAMOHAN et al., 1998).

A infecção por CMV também determina um aumento na expressão de antígenos de superfície do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) nas células do receptor. A expressão dos antígenos de classe II está aumentada nas células CD8 (VAN ES et al., 1984) e dos antígenos de classe I e II nas células renais (WILLEBRAND et al., 1986; MANFRO et al., 1996). Existem evidências de que o aumento da expressão destes antígenos no enxerto, mediado presumivelmente pelo interferon gama como uma consequência da infecção por CMV, pode desencadear episódios de rejeição aguda. (WALDMANN et al., 1993a, WILLEBRAND et al., 1989). Como a infecção pelo CMV desencadeia mecanismos com efeitos imunossupressivos, e ao mesmo tempo estimuladores do sistema imune, é difícil precisar o papel e o efeito da infecção

sobre o enxerto.

A infecção por CMV está associada a disfunção do enxerto (RICHARDSON et al., 1981) e se correlaciona com maior número de episódios de rejeição aguda e maior risco de desenvolvimento de rejeição crônica a longo prazo (HUMAR et al., 1999a; SEPKOWITZ, 2000; AVERY 2000) exercendo importante efeito na sobrevida dos enxertos e dos pacientes transplantados renais (HERRERA et al., 1986). Sugere-se que a presença do vírus seja um fator de risco independente para rejeição. Entretanto existe grande controvérsia se a simples presença do vírus pode causar lesão renal e/ou alterações da função do enxerto. Tem sido descrita a associação da presença do CMV e desenvolvimento de glomerulopatia causando um aumento transitório dos níveis de creatinina (RICHARDSON et al., 1981). A deterioração da função renal ocorre imediatamente antes da presença de anticorpos detectáveis na circulação e sugere um dano capilar mediado por imuno-complexos, sendo que achados sugestivos de rejeição celular estão geralmente ausentes, o que sugere um efeito direto do vírus sobre a função renal. Outros estudos questionam esta hipótese e a glomerulopatia causada pelo CMV, e sugerem que estas lesões representam formas de rejeição vascular aguda. (HERRERA et al.1986).

Além do impacto sobre a função renal e sobrevida do enxerto e paciente, a doença citomegálica também tem sido associada a aumento do custo dos transplantes renais (FALAGAS et al., 1997) e hepáticos (McCARTHY et al., 1993) aumentando o tempo de internação do receptor.

### **1.8. Diagnóstico de infecção e doença citomegálica**

O diagnóstico diferencial entre infecção viral por CMV e doença é um

grande desafio, sendo baseado em critérios clínicos e laboratoriais. Entretanto, as manifestações clínicas da doença por CMV em pacientes transplantados são geralmente inespecíficas e não permitem o diagnóstico na maioria dos casos. A presença de anticorpos específicos não define doença ativa (KRAAT et al., 1996). A infecção por CMV pode desencadear disfunção do enxerto, podendo dificultar o diagnóstico diferencial com rejeição aguda e retardar a instituição da terapia adequada.

A disponibilidade de drogas anti-virais específicas como o Ganciclovir e o Foscarnet, oferecem a oportunidade de tratamento adequado, minimizando os efeitos deletérios desta infecção na sobrevivência do enxerto e do paciente transplantado. A condição básica para este propósito é um diagnóstico precoce, acurado e exequível, bem como uma monitoração freqüente para determinar os efeitos da terapia sobre a infecção, identificar cepas resistentes e recidivas da infecção ou da doença. Métodos convencionais falharam em propiciar estas necessidades, uma vez que sua realização e resultado dependem muito tempo, como no caso da cultura do vírus, ou o resultado positivo ser muito tardio no curso da infecção-doença como no caso dos métodos sorológicos (MIDDENDORP et al., 1994, VAN DER GIESSEN et al., 1990, VAN DER BIJ et al., 1988, BOECKH e BOIVIN, 1998). Métodos como a reação de polimerização em cadeia (PCR), que é capaz de detectar mínimas concentrações do DNA viral, são talvez excessivamente sensíveis, pois muitas vezes a presença do vírus não se correlaciona com doença citomegálica (PEIRIS et al., 1995, ABACASSIS et al., 1997, ROBERTS et al., 1998, MARKOVIC-LIPKOVSKI et al., 1992). Além disto, a técnica da PCR requer equipamento próprio e sofisticado, o que limita sua aplicação (LÖNING et al., 1992).

Relatos na literatura mostram, através de técnica de imunoperoxidase, a detecção do antígeno pp65 do CMV em leucócitos do sangue periférico, (antigenemia). O teste de antigenemia é um novo método direto para diagnóstico da infecção ativa por citomegalovírus. Estes estudos demonstraram que a antigenemia é uma excelente ferramenta para a detecção rápida e diagnóstico precoce da infecção ativa por CMV (VAN DEN BERG 1989, 1991). Através desta técnica de imuno-histoquímica, os resultados podem ser obtidos em 6 a 8 horas. Na técnica da antigenemia, o número de células positivas, ou seja, marcadas pela peroxidase, parece estar correlacionado com o desenvolvimento de doença citomegálica e com a severidade da doença, o que pode facilitar a decisão na instituição da terapêutica específica contra o vírus mesmo antes que haja manifestações clínicas (THE et al., 1992).

No Brasil, a técnica de antigenemia foi introduzida no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo por Fares em 1992, sendo aplicada a técnica desenvolvida por VAN DER BIJ na Holanda (1986). Em nosso meio, no Rio Grande do Sul, até 1993, o único método disponível para o diagnóstico de infecção citomegálica era a sorologia pelos métodos de Elisa e radioimunoensaio. O desenvolvimento deste projeto permitiu introduzir o método em nosso meio em outubro de 1993, o qual passou a ser usado como rotina a partir de janeiro de 1994.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Principal**

- Através da técnica da antigenemia avaliar a incidência de infecção por CMV em uma coorte de pacientes transplantados renais.

### **2.2. Secundários**

- Acompanhar a coorte de pacientes transplantados renais e determinar o impacto da infecção e da doença citomegálica nas sobrevidas dos pacientes e enxertos a longo prazo, com acompanhamento mínimo de 6 anos;

- Avaliar a utilidade da antigenemia como ferramenta no diagnóstico de doença por citomegalovírus;

- Analisar possíveis fatores de risco associados a infecção e doença citomegálica, como número de episódios de rejeição, dose total de metilprednisolona, uso de anticorpos monoclonais na terapia de resgate e imunossupressão básica;

- Avaliar o perfil epidemiológico destes pacientes, analisando-se as seguintes variáveis: sexo, idade, estado sorológico do receptor no pré transplante, período no pós transplante em que ocorreu a infecção ou doença, manifestações clínicas mais frequentes e mortalidade associada a infecção citomegálica.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Pacientes e período do estudo**

Foram analisados prospectivamente, todos os transplantes renais consecutivos, realizados na Santa Casa de Porto Alegre, no período de Janeiro de 1994 a Fevereiro de 1995. Estes pacientes foram acompanhados até Janeiro de 2001.

##### **3.1.1. Imunossupressão**

O esquema de imunossupressão inicial usado foi terapia tríplice com Azatioprina, Prednisona e Ciclosporina para receptores de rins de doadores cadáveres e doadores vivos que não apresentassem identidade completa em relação aos antígenos dos locais do sistema HLA. Terapia dupla com Azatioprina e Prednisona em doses baixas (20 mg desde o transplante) foi utilizado para os receptores de rins de doadores idênticos neste sistema. Rejeição aguda foi definida clinicamente pelo aumento de 20% ou mais dos níveis séricos de creatinina, acompanhado de um ou mais dos seguintes sintomas: febre, enxerto doloroso, diminuição do débito urinário, ou achados sugestivos com rejeição em exames ecográficos ou na análise histopatológica de material obtido por biópsia renal. Os episódios de rejeição aguda foram tratados com “pulsoterapia” com Metilprednisolona, com doses variando desde 250mg/dia até 1.000mg/dia conforme o peso do paciente, através de infusão intravenosa em três dias consecutivos. Foram consideradas córtico-resistentes as rejeições agudas em que não houve resposta clínica dos parâmetros anteriormente mencionados com o uso da Metilprednisolona. Este diagnóstico foi sempre confirmado pela análise

histológica de tecido obtido por punção biópsia renal cuja avaliação evidenciasse a persistência de infiltrado inflamatório acompanhado de sinais de agressão tecidual. Nos casos de rejeição córtico-resistente foi utilizada terapia de resgate com anticorpos monoclonais anti-CD3 (OKT3®), na dose de 5mg por dia, através de infusão intravenosa em 1 minuto, acompanhada no primeiro dia de 500 mg de Metilprednisolona e 100 mg de Hidrocortisona. Todos os pacientes foram acompanhados até o momento da alta hospitalar e ambulatorialmente, em consultas médicas periódicas semanais no primeiro mês, a cada duas semanas até o terceiro mês, e mensalmente até completar 1 ano. Após 1 ano, os pacientes compareciam no ambulatório a cada 3 meses, ou sempre que houvesse intercorrência clínica.

### **3.1.2. Amostras para a pesquisa de Antigenemia**

As amostras de sangue para pesquisa da antigenemia foram obtidas semanalmente durante o período de internação e posteriormente, sempre que houvesse suspeita clínica de infecção por citomegalovírus. O material era coletado pelos técnicos do laboratório central em frasco de vidro com EDTA e encaminhados imediatamente ao laboratório de Imunologia onde eram processados pela técnica de detecção da antigenemia.

### **3.1.3. Técnica de Antigenemia**

As amostras de sangue foram analisadas pela técnica de antigenemia, a qual consiste na detecção do antígeno pp65 do CMV em leucócitos do sangue periférico através do método de imunoperoxidase, usando anticorpos monoclonais direcionados contra a matriz proteica deste antígeno, conforme

descrito por VAN DER BIJ et al., (1988).

A técnica de antigenemia consiste de 4 etapas: separação dos leucócitos do sangue periférico através do dextran, fixação, técnica de imunoperoxidase e leitura.

**Separação:** Uma amostra de sangue de 4 ml é coletada em frasco estéril contendo EDTA, ao qual é adicionado 2 ml de Dextran a 2,5%. O material é transferido para tubo de ensaio plástico e encubado em estufa a 37°C por 15 a 30 minutos. A seguir o plasma sobrenadante é aspirado com pipeta Fisher com mínimo de contaminação de hemácias possível, e transferido para tubo de ensaio de vidro, ao qual é adicionado 5 ml de PBS e centrifugado por 10 minutos a 1.200 r.p.m. (rotações por minuto). A seguir o sobrenadante é aspirado e desprezado, e o sedimento resuspenso com 10 ml de solução de lise de eritrócitos. Novamente o material é centrifugado por 10 minutos a 1.200 r.p.m. e o sobrenadante aspirado e desprezado. Este procedimento é repetido por três vezes, ou até que o material esteja limpo, sem hemácias. Na última centrifugação, é deixado 0,5 ml de PBS junto ao sedimento, o qual é resuspenso, e o número de leucócitos presentes contado em câmara de Neubauer. A contagem é ajustada para que se obtenha uma concentração de  $3 \times 10^6$  leucócitos por ml, sendo que 0,1 ml desta suspensão é citocentrifugado por três minutos a 1.000 r.p.m.

**Fixação:** As lâminas contendo o citocentrifugado são secas no ar ambiente ou com secador e fixadas com acetona por 5 minutos.

**Técnica de Imunoperoxidase:** As lâminas prontas são novamente secas no ar ambiente e após, lavadas com PBS por um minuto, com o cuidado do citocentrifugado permanecer sempre úmido a partir desta etapa. A seguir cada

citocentrifugado é encubado em câmara úmida por 45 minutos com 50 microlitros de anticorpos monoclonais de camundongos direcionados a matriz protéica do antígeno pp65 do CMV presente no núcleo das células infectadas marcados pela molécula de peroxidase, (diluição de 1:10). Após, as lâminas são lavadas com PBS por cinco minutos, e por três vezes. A seguir é acrescentado o anticorpo conjugado e encubado por 30 minutos. Novamente as lâminas são lavadas com PBS por 5 minutos por três vezes. Adiciona-se então 1 ml de AEC (3-amino etilcarbazole) e encuba-se por oito minutos em câmara úmida e no escuro. A seguir as lâminas são lavadas com tampão acetato por 10 minutos. As lâminas são então lavadas três vezes com água destilada, permanecendo em emersão por cinco minutos na última lavada. A seguir as lâminas são contracoradas com hematoxilina por 15 a 30 segundos, lavadas em água corrente e montadas com lamínula e glicerol.

Leitura: Por fim as lâminas são analisadas sob microscopia ótica, sendo as células positivas contadas, e o resultado expresso em células positivas por 50.000 células presentes em cada citocentrifugado (Figuras 1 e 2). Para cada paciente eram realizados e analisados 4 citocentrifugados, sendo que os resultados foram baseados no centrifugado que apresentava maior número de células positivas.

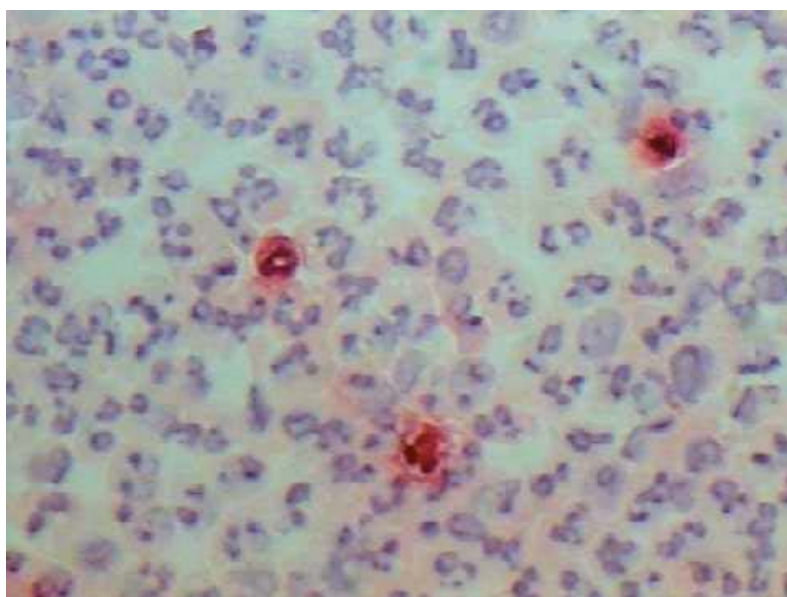


Figura 1. Técnica de antígenemia, usando anticorpos monoclonais contra o antígeno viral pp65, através do método de imunoperoxidase. Três células apresentam reação positiva. ( Hematoxilina, 20 x).

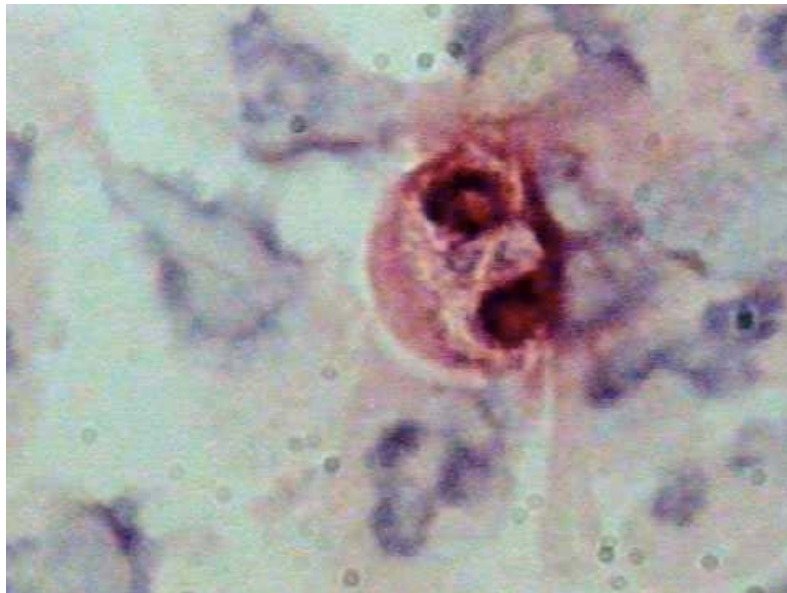


Figura 2. Polimorfonuclear exibindo antígeno viral pp65. Marcação pelo anticorpo monoclonal do antígeno pp65 com revelação através da técnica de peroxidase (Hematoxilina, 200x).

### **3.2. Critérios de infecção e doença**

A infecção por CMV foi definida pela presença de células positivamente marcadas pela peroxidase (antigenemia positiva), em qualquer contagem, sendo considerado o resultado do citocentrifugado com maior número de células positivas para cada 50.000 leucócitos analisados em cada citocentrifugado.

A doença por CMV foi definida pela presença de febre (temperatura axilar > 37,8°C) sem outra causa detectável, por três ou mais dias, em combinação com um ou mais dos seguintes sintomas: leucopenia grave (< 1500 leucócitos); trombocitopenia (plaquetas < 100.000); diarreia; sinais de envolvimento de órgãos alvo, como elevação das enzimas hepáticas (ALT, AST, FA) ou infiltrado pulmonar intersticial, hipoxemia, sendo excluídas outras causas para os sintomas apresentados.

O tratamento com Ganciclovir foi instituído quando havia sinais de doença severa, com comprometimento grave de órgãos como fígado, pulmão e medula óssea. A dose de Ganciclovir usada foi de 10mg/kg/dia em duas doses, ajustada pela depuração da creatinina, e por no mínimo 21 dias podendo ser modificado conforme resposta ao tratamento ou a ocorrência de efeitos colaterais.

### **3.3. Parâmetros analisados.**

Os resultados das antigenemias foram estudados quanto ao número de amostras analisadas por paciente, número de amostras positivas e número de células marcadas pela peroxidase por amostra, assim como período pós-operatório em que a infecção foi mais freqüentemente detectada. As antigenemias positivas (células positivas em qualquer contagem) foram usadas para determinar a incidência de infecção citomegálica e a incidência da doença

citomegálica foi definida pela correlação clínico laboratorial dos sinais e sintomas compatíveis definidos anteriormente, e adotados pela equipe clínica.

Foram analisados as seguintes variáveis: sorologia anti CMV (IgG e IgM) pré-transplante do doador e do receptor, sexo e idade do receptor, sexo e idade do doador, tipos de doadores, tempo de seguimento pós transplante, compatibilidade dos antígenos do sistema HLA, presença de sintomas associados, manifestações clínicas mais freqüentes, imunossupressão básica, número de episódios de rejeição celular aguda, dose total de metilprednisolona, uso de anticorpos monoclonais na terapia de resgate, e função renal através da análise dos valores de creatinina no 6º mês e no final do 1º, 2º, 3º, 4º, 5º e 6º ano pós transplante.

Para análise dos dados foram considerados como pacientes que apresentaram rejeição celular, todos aqueles que receberam pelo menos um pulso de metilprednisolona, independente do resultado da biópsia, a qual nem sempre foi realizada antes do início da pulsoterapia. Foram correlacionadas as doses totais de metilprednisolona recebida por estes pacientes, com a incidência de infecção e doença por citomegalovírus. Foram feitos pontos de corte, para tentar determinar a dose total a partir da qual o risco de desenvolver infecção ou doença citomegálica fosse significativo.

Foram correlacionados os resultados das antigenemias com os casos de doença citomegálica, e calculado o risco relativo de desenvolver doença naqueles pacientes que apresentavam antigenemia positiva.

O número de perdas de enxerto no grupo foi analisado e correlacionado com infecção e doença citomegálica, bem como o número de óbitos observados na coorte durante o seguimento.

As sobrevidas atuariais globais dos enxerto e dos pacientes foram analisadas e estratificadas por tipo de doador. As taxas de sobrevida dos enxertos e dos pacientes foram analisadas quanto ao desenvolvimento de infecção ou doença citomegálica para determinar o impacto da infecção e doença viral nas sobrevidas.

Foram analisados os óbitos associados a infecção e doença citomegálica, bem como a resposta ao tratamento específico utilizado nos casos de doença.

### **3.4. Análises estatísticas.**

Os dados analisados foram tabulados em planilha eletrônica e a análise estatística feita através do programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) para Windows, versão 8,0.

O teste do Qui-quadrado foi utilizado para a comparação de variáveis categóricas entre os grupos de pacientes transplantados com e sem infecção por CMV (antigenemia positiva e negativa). Os mesmos testes foram aplicados para comparar os grupos de pacientes transplantados com e sem doença citomegálica. Foram também utilizados os testes de Fisher, sendo que a significância dos testes de hipótese (valor de p) é apresentada para cada teste. Para fins de interpretação, assumiu-se  $p < 0,05$  como significativo. Foram também calculados os riscos relativos, com intervalos de confiança de 95%.

A análise da sobrevida do enxerto e dos pacientes foi feita através de curvas atuariais pelo método de Kaplan-Meier, e a diferença estatística entre as curvas foi analisada através dos testes de significância para diferenças de sobrevida (Teste de LogRank ).



### 3.5. Delineamento do estudo

- ESTUDO DE COORTE ou ESTUDO DE INCIDÊNCIA

Eixos de delineamento: Direção lógica - Natural; Eixo de intervenção - Observacional; Eixo de controle - Controlado; Eixo de unidade de estudo - Individual; Eixo de desfecho clínico - Dinâmico; Eixo de aferição - Contemporâneo ou Prospectivo.

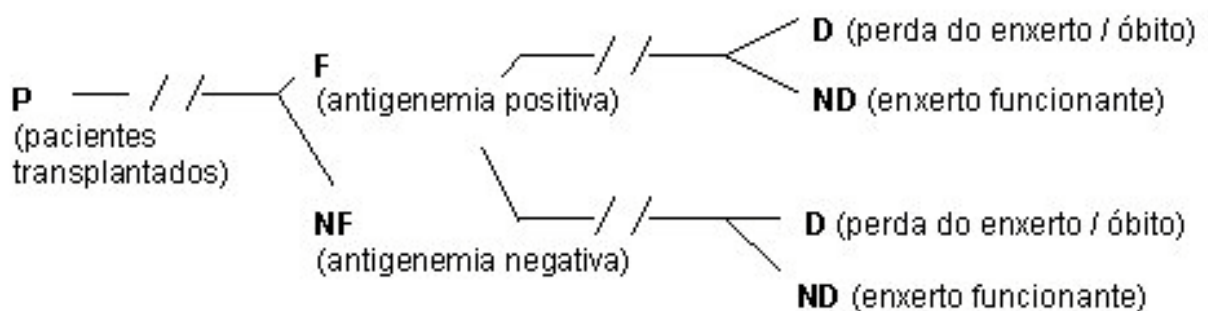
- População em estudo (P): pacientes transplantados renais.

- Critério de inclusão: todos pacientes submetidos a transplante renal no período do estudo (janeiro de 1994 a fevereiro de 1995).

- Fator em estudo (variável independente) (F): antigenemia positiva ou negativa no pós transplante.

Desfecho (variável dependente) (D): perda do enxerto, óbito do receptor no período de acompanhamento de 6 anos.

- Diagrama do estudo:



### **3.6. Execução dos testes**

A autora foi diretamente responsável pela implantação e padronização da técnica no laboratório de Imunologia da Santa Casa de Porto Alegre onde os exames de antigenemia foram realizados, bem como pela realização e leitura das antigenemias utilizadas neste estudo. A leitura foi feita de maneira cega, sem o conhecimento da situação clínica dos pacientes.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Dados Demográficos

O período em que foram arrolados pacientes para o estudo estendeu-se de janeiro de 1994 a fevereiro de 1995. Neste intervalo foram realizados 74 transplantes renais na Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. A média de idade dos receptores foi de  $30,4 \pm 14,5$  anos, variando entre 2 e 64 anos, (mediana = 31 e moda = 34), sendo 53 (71,6%) pacientes do sexo masculino. Neste grupo, 5 pacientes foram submetidos a retransplante e um paciente recebeu seu terceiro transplante. Em 32 (43,3%) pacientes, o transplante foi realizado com doador cadáver e nos demais 42 pacientes com doador vivo relacionado, sendo que em 57,1% dos casos, o transplante foi realizado com irmão(ã) como doador(a). A compatibilidade HLA entre doadores vivos foi de 24,3% de doadores idênticos. O esquema de imunossupressão usado foi tríplice com ciclosporina, azatioprina e prednisona (em baixa dose) em 64 (86,5%) pacientes, dupla com azatioprina e prednisona em 8 (10,8%) e dupla com ciclosporina e prednisona em 2 (2,7%) pacientes, conforme demonstrado na Tabela 1.

O hospital de procedência dos receptores foi a Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre em 30 (40,5%) pacientes, hospitais do interior do estado em 29 (39,2%), hospitais do Estado de Santa Catarina em 14 (18,9%) e 1 (1,4%) paciente de outro hospital de Porto Alegre.

Tabela 1. Dados demográficos da amostra de 74 pacientes transplantados

renais

Parâmetros	Resultados	
	N	%
Idade (anos)	30,4 ± 14,5	
Sexo (masculino/feminino)	53 / 21	71,6 / 28,4
Doador (vivo/cadáver)	42 / 32	56,7 / 43,3
Compatibilidade HLA <sup>1</sup>	10 / 24 / 7	24,3 / 58,5 / 17,2
Grau de parentesco <sup>2</sup>	16 / 24 / 2	38,1 / 57,1 / 4,8
2º transplante / 3º transplante	5 / 1	6,7 / 1,3
Imunossupressão <sup>3</sup>	64 / 8 / 2	86,5 / 10,8 / 2,7

variáveis contínuas = média ± DP ;variáveis categóricas = freqüência

<sup>1</sup>= entre doadores vivos: HLA idêntico/ 1 haplotipo/ distinto

<sup>2</sup>= entre doadores vivos: pais/ irmãos/ parentes de 2º grau

<sup>3</sup>= básica: tríplice / azatioprina e prednisona / ciclosporina e prednisona

Nos 74 pacientes transplantados, ocorreram 8 perdas precoces conforme a Tabela 2. Nestes, a perda do enxerto ocorreu nos primeiros dois meses pós transplante, sendo 2 por trombose vascular , 4 por rejeição celular aguda, 1 por não função primária do enxerto, e uma perda por óbito por sangramento. Nesta coorte, em todo o período de acompanhamento ocorreram 4 óbitos: um no pós operatório imediato por sangramento, um por sépsis secundária a pancreatite no 219º PO, e dois com enxerto funcionando no 644º PO por atropelamento, e no 1607º PO por acidente vascular cerebral.

Tabela 2. Causas de perdas do enxerto precoces, até 60º dia pós transplante renal:

Causas:	N	PO
Trombose	2	1º, 2º
RA + ruptura do enxerto	1	14º
RA	3	17º, 32º, 51º
Não função primária do enxerto	1	14º
Óbito por sangramento	1	1º

PO: dias de pós operatório; RA: rejeição aguda

Para a análise dos fatores associados ao desenvolvimento de infecção

viral e doença citomegálica foram excluídos somente os pacientes que perderam o enxerto antes de completar a primeira semana de pós transplante (1 por óbito PO imediato e 1 por trombose), por não terem tempo suficiente de acompanhamento, no qual fosse coletada pelo menos uma amostra para pesquisa de antigenemia. Uma paciente, apesar da perda precoce por trombose no 1º PO não foi excluída da análise, pois foi coletada uma amostra para pesquisa de CMV no 11º PO, devido ao quadro de febre, com suspeita clínica de doença por citomegalovírus.

Assim, nos 72 pacientes analisados, a média de tempo de acompanhamento foi de  $1785 \pm 819$  dias (ou 4,8 anos), variando entre 1 e 2504 dias (6,8 anos). Nos pacientes que mantiveram enxerto funcionante até a data da última atualização do seguimento em 23 de janeiro de 2001, a média de tempo de acompanhamento foi de  $2314 \pm 96$  dias (6,3 anos), com tempo mínimo de 2175 dias (5,9 anos).

#### **4.2. Amostras analisadas para antigenemia**

Desta coorte de 72 pacientes transplantados renais, foram analisadas 232 amostras de sangue para pesquisa de antigenemia para citomegalovírus, sendo que todos pacientes tinham no mínimo uma amostra, e no máximo dez amostras analisadas. A média do número de amostras analisadas por paciente foi  $3,2 \pm 2,0$  e a moda foi 2. A maioria dos pacientes (54,1%) teve 3 ou mais amostras analisadas para pesquisa de antigenemia, conforme demonstrado na Figura 3.

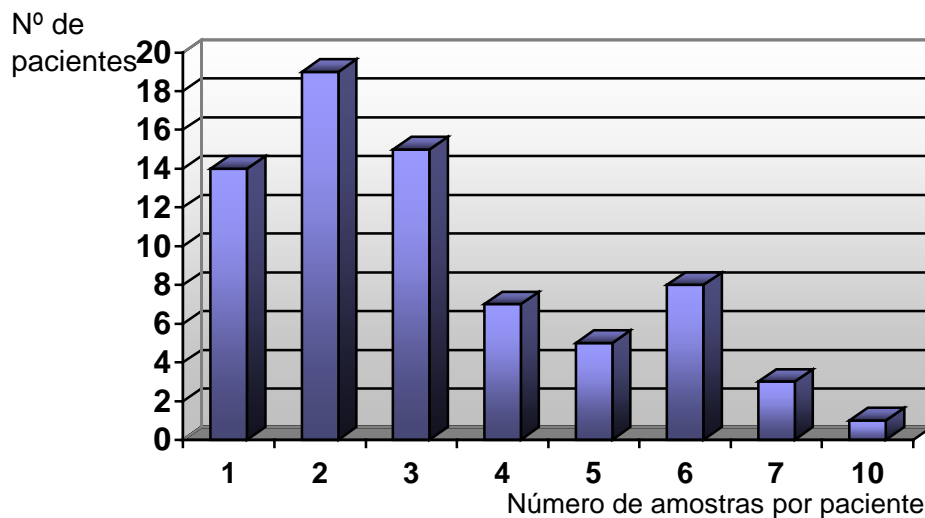


Figura 3. Número de amostras de sangue analisadas por paciente para pesquisa de antigenemia no período estudado.

Das 229 amostras analisadas, 51 (22,3%) foram positivas em algum momento do período pós operatório, em 24 pacientes. O período pós transplante em que foram detectadas antigenemias positivas, variou desde a primeira semana de pós operatório, até a 32<sup>a</sup> semana. A média do número de células positivas detectadas no sangue periférico foi de  $15,5 \pm 14,3$  e variou de 2 a 138 células positivas por 50.000 células analisadas por amostra.

No primeiro mês de pós operatório, foram analisadas 165 amostras, sendo destas 27 positivas (16,4%), correspondendo a 52,9% das amostras positivas. A maioria das amostras coletadas e analisadas após o terceiro mês de pós operatório, foram positivas conforme demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos resultados das antigenemias, conforme o período pós

operatório de coleta da amostra.

<b>Mês Pós tx<sup>1</sup></b>	<b>Negativo</b>	<b>%</b>	<b>Positivo</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>
1 <sup>o</sup>	138	83,6	27	16,4	165
2 <sup>o</sup>	31	72,1	12	27,9	43
3 <sup>o</sup>	4	50,0	4	50,0	8
4 <sup>o</sup>	2	50,0	2	50,0	4
5 <sup>o</sup>	0	0	2	100,0	2
6 <sup>o</sup>	1	33,3	2	66,7	3
> 7 <sup>o</sup>	1	33,3	2	66,7	3
<b>TOTAL</b>	<b>178</b>	<b>77,7</b>	<b>51</b>	<b>22,3</b>	<b>229</b>

<sup>1</sup> mês de acompanhamento pós transplante

#### **4.3. incidência de infecção e doença citomegálica**

Nesta coorte de 72 pacientes transplantados, a incidência de infecção por citomegalovírus foi de 33,3% (24 dos 72 pacientes apresentaram antigenemia positiva em algum período pós operatório). Doença citomegálica ocorreu em seis pacientes resultando em uma incidência de 8,3%. No grupo de pacientes com antigenemia positiva, 79,2% eram do sexo masculino (19/51), com média de idade de  $29,9 \pm 13,6$  anos, sendo que 66,6% dos pacientes receberam rim de doador vivo relacionado, e o tempo médio de acompanhamento foi de  $1838 \pm 822$  dias. Nos pacientes com doença citomegálica, 83,3% eram do sexo masculino (5/6), com média de idade de  $31,3 \pm 15,22$  anos, sendo que 66,7% (4/6) receberam rim de doador vivo relacionado e com  $829 \pm 936$  dias de média de tempo de acompanhamento.

Entre os 24 pacientes com antigenemia positiva, 41,6% (10/24) evoluíram de forma assintomática, 33,3% (8/24) apresentaram sintomas leves e 6 (25%) desenvolveram quadro clínico compatível com doença citomegálica grave, conforme evidenciado pela análise da Tabela 4.

Tabela 4. Frequência de sintomas nos pacientes com infecção viral.

<b>Sintomas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Ausentes	10	41,7%
Leves	8	33,3%
Graves	6	25,0%
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

Os sintomas mais freqüentes observados nos 14 pacientes que desenvolveram infecção viral sintomática estão na Tabela 5, sendo que todos os pacientes apresentaram febre, 71,4% também apresentaram leucopenia, sendo estes os sintomas mais freqüentes. Neste grupo, 8 pacientes desenvolveram alterações do trato gastrointestinal, 5 com alteração da função hepática e 3 com vômitos e/ou diarreia.

Tabela 5. Sintomatologia apresentada pelos pacientes com infecção citomegálica (n=14).

<b>Sintomas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Febre	14	100,0%
Leucopenia	10	71,4%
Astenia	7	50,0%
Alteração de função hepática	5	35,7%
Pneumonia	4	28,6%
Diarreia / vômitos	3	21,4%

Foram considerados acometidos por doença citomegálica grave, 6 pacientes que apresentavam além de febre, sinais de comprometimento de órgãos alvo, como alteração de função hepática e/ou pneumonia intersticial e/ou leucopenia severa. Todos pacientes com doença grave, foram tratados com



Ganciclovir endovenoso por no mínimo 21 dias, havendo resolução dos sintomas após o tratamento em 83% (5/6). O paciente que não respondeu ao tratamento específico, desenvolveu pneumonia por citomegalovírus no 6º mês pós transplante, associada a pancreatite grave, com septicemia, evoluindo ao óbito no 219º pós operatório, após 21 dias de tratamento e cuidados intensivos.

Todos os pacientes que desenvolveram quadro clínico compatível com doença citomegálica grave no período pós transplante, apresentaram antigenemia positiva (Tabela 6), com contagem de células positivas variando entre 3 e 138 células por 50.000 células estudadas. Houve associação estatisticamente significativa dos pacientes com quadro compatível com doença citomegálica e a presença de antigenemia positiva (Teste Exato de Fischer;  $p=0,00086$ ). O risco relativo calculado para desenvolvimento de doença citomegálica nos pacientes com antigenemia positiva foi de 3,7 (IC 95%: 2,5 - 5,4).

Tabela 6. Resultado dos testes de antigenemias e desenvolvimento de doença citomegálica grave.

Antigenemia	Doença citomegálica grave		Total
	Presente	Ausente	
Positiva	6 <b>a</b>	<b>b</b> 18	24
Negativa	0 <b>c</b>	<b>d</b> 48	48
Total	6	66	72

Teste Exato de Fischer,  $p=0,001$

Sensibilidade (a/a+c) : 100%

Especificidade (d/b+d): 72,7%

Acurácia = [(a+d)/(a+b+c+d)]\*100 : 75,0%

VPP (a/a+b): 25%

VPN (d/c+d): 100%

Entretanto, dos 24 pacientes que apresentaram antigenemias positivas, 25% (6/24) desenvolveram quadro clínico compatível com doença citomegálica grave e 33,3% (8/24) dos pacientes apresentaram manifestações leves de

infecção, conforme a Tabela 4. Considerando-se todos os pacientes com antigenemia positiva e aqueles que desenvolveram sintomas compatíveis com doença citomegálica grave, a sensibilidade calculada da antigenemia positiva para desenvolvimento de doença grave por citomegalovírus foi de 100%, a especificidade do teste de 72,7%, com valor preditivo positivo de 25% e valor preditivo negativo de 100%. Nesta situação, 27% dos resultados foram falso positivos, e 0% de casos falso negativos. A acurácia do teste da antigenemia para predizer os pacientes que desenvolverão doença citomegálica foi de 75% nesta amostra.

Analisando o total de 14 pacientes com alguma sintomatologia sugestiva de doença citomegálica seja ela leve ou grave, a sensibilidade calculada do teste de antigenemia para o desenvolvimento de sintomas foi de 42% e a especificidade foi de 68%. O valor preditivo positivo foi 25% e negativo de 83%, sendo que em 31% dos resultados foram falso positivos e 57% foram falso negativos. Nesta análise, a acurácia da antigenemia para detectar os pacientes que desenvolverão algum sintoma de doença citomegálica foi de 63,8%, conforme demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7. Resultado das antigenemias e o desenvolvimento de sintomas clínicos sugestivos de doença citomegálica.

Antigenemia	Sintomas sugestivos de Doença		Total
	Presente	Ausente	
Positiva	6	<b>a b</b> 18	24

Negativa	8	<i>c</i>	<i>d</i>	40	48
Total	14			58	72

Testes do Qui-quadrado,  $\chi^2 = 0,71$ ;  $p = 0,39$

Sensibilidade (a/a+c) : 42,9%

VPP (a/a+b): 25%

Especificidade (d/b+d): 68,96

VPN (d/c+d): 83,33%

Acurácia = [(a+d)/(a+b+c+d)]\*100 : 63,88%

A média do número de amostras analisadas por paciente no grupo que apresentou antigenemia positiva em algum momento no período pós operatório foi de 4,29 amostras por paciente e 6,33 no grupo de pacientes com doença citomegálica. A diferença da média de amostras analisadas foi significativamente maior nos pacientes que desenvolveram antigenemia positiva e doença citomegálica quando comparada com os pacientes com antigenemia persistentemente negativas após o transplante renal, (Teste *t* para amostras independentes,  $t = 0,834$ ,  $p = 0,005$ ), conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8. Média do número de amostras analisadas por paciente, nos grupos com antigenemia positiva, doença citomegálica e antigenemia negativa.

	Média de amostras	DP	p
Antigenemia Negativa	2,63* **	1,62	
Antigenemia Positiva	4,29 *	2,10	* 0,005
Doença	6,33 **	1,86	** 0,002

Teste *t* para amostras independentes: \*  $t = - 3,420$ ; \*\*  $t = - 4,364$

A média de células positivas por amostra analisada nos pacientes com desenvolvimento de doença citomegálica foi de  $36,8 \pm 40,9$  células, (variando entre 9 e 138 ), e nos pacientes com infecção porém sem doença, foi  $6,5 \pm 19,8$  células, sendo significativamente maior o número de células positivas nos pacientes com doença por CMV (teste *t* para amostras independentes,  $t = 6,89$ ;  $p = 0,001$ ), conforme Tabela 9.

Tabela 9. Média do número de células positivas por amostra, nos pacientes com infecção e doença citomegálica.

Quadro clínico	Média de amostras	DP	p
Infecção (sem sintomas)	12,5*	29,8	
Doença Citomegálica	36,8*	40,4	0,001

DP = desvio padrão;

Teste *t* para amostras independentes: \* *t* = - 6,89

#### 4.4. Fatores de risco para infecção e doença citomegálica

Foram analisados os seguintes fatores de risco para desenvolvimento de infecção e doença citomegálica: rejeição celular aguda; dose total acumulada de Metilprednisolona; uso de anticorpos monoclonais; idade e sexo do receptor; o tipo, a idade e o sexo do doador; assim como a presença de anticorpos anti-citomegalovírus no doador e no receptor previamente a realização do transplante renal.

##### 4.4.1. Rejeição aguda

Nesta coorte, 69,4% (50/72) dos pacientes apresentaram rejeição aguda no pós transplante, sendo que em 34% destes (17/50) foi detectada antigenemia positiva em algum momento no período pós operatório. Nos 22 pacientes que não desenvolveram rejeição celular, a incidência de infecção por citomegalovírus foi de 31% (7/22). Nos 24 pacientes que apresentaram antigenemia positiva, 70,8% (17/24) haviam recebido tratamento com Metilprednisolona para rejeição aguda, e 68,7% (33/48) dos pacientes com antigenemias negativas também apresentaram rejeição celular aguda, não havendo diferença significativa entre os grupos quanto a presença de rejeição aguda e o desenvolvimento de antigenemia

positiva. Vide Tabela 10. (Qui-quadrado=0,033, p= 0,856; RR=1,03; IC 95%: 0,72 - 1,46).

Tabela 10. Incidência de infecção citomegálica nos pacientes com e sem rejeição aguda do enxerto.

Rejeição	Antigenemia				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
Não	15	68,1	7	31,9	22	30,5
Sim	33	66,0	17	34,0	50	69,5
Total	48	66,7	24	33,3	72	100

Teste do Qui-quadrado;  $\chi^2 = 0,033$ ; p=0,856  
RR= 1,03; IC 95%: 0,72-1,46

Na Tabela 11 observa-se que entre os 50 pacientes tratados para rejeição, 4 (8%) desenvolveram doença citomegálica grave, sendo que a incidência de doença no grupo sem rejeição foi de 9% (2/22). O percentual de pacientes com rejeição aguda no grupo de pacientes com doença citomegálica foi de 66,6% (4/6) e de 66,7% (46/66) nos pacientes sem sinais de doença por citomegalovírus, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. (Teste Exato de Fisher, p= 1,00; RR= 0,98; IC 95%: 0,84 - 1,15).

Tabela 11. Incidência de Doença por citomegalovírus nos pacientes que apresentaram rejeição celular aguda.

Rejeição	Doença Citomegálica				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
Não	20	90,9	2	9,1	22	30,5
Sim	46	82,0	4	8,0	50	69,5
Total	66	91,6	6	8,4	72	100

Teste Exato de Fisher, p= 1,00  
RR= 0,98; IC 95%: 0,84 - 1,15

#### **4.4.2. Dose total de Metilprednisolona**

A média da dose total acumulada de Metilprednisolona usada no tratamento da rejeição aguda destes 50 pacientes foi de  $2,57 \pm 1,19$  gramas, variando de uma dose acumulada mínima de 0,75g e máxima de 7,5g por paciente, sendo que 78% (39/50) usaram menos de 3,5 g como dose total. Dos 11 pacientes que receberam mais de 3,5g de Metilprednisolona, 3 (27%) desenvolveram antigenemia positiva, não havendo diferença estatisticamente significativa na incidência de infecção viral entre os grupos conforme a dose acumulada de Metilprednisolona maior ou menor que 3,5g. (Teste Exato de Fisher,  $p = 1,00$ ;  $RR=1,02$ ;  $IC\ 95\%: 0,82 - 1,25$ ). Nos 17 pacientes que apresentaram antigenemia positiva, apenas 3 (17,6%) haviam recebido mais de 3,5 g de metilprednisolona, conforme demonstrado na Tabela 12. Outros pontos de corte para dose total acumulada foram testados, como 2,5g e 4,5g, não havendo correlação entre a dose total e a incidência de infecção citomegálica nesta amostra.

Tabela 12. Incidência de infecção citomegálica conforme a dose total acumulada de Metilprednisolona.

Dose Total Metilprednisolona	Antigenemia				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
< ou = 3,5 g	25	64,2	14	35,8	39	78,0
> 3,5 g	8	72,7	3	27,3	11	22,0
Total	33	66,0	17	34,0	50	100,0

Teste Exato de Fisher,  $p=0,728$   
 RR= 0,88; IC 95%: 0,57 - 1,36

Dos 50 pacientes tratados para rejeição celular aguda, 4 desenvolveram doença citomegálica, e destes apenas um (25%) havia recebido mais de 3,5g de Metilprednisolona, sendo que 21% (10/46) dos de pacientes sem doença, também havia recebido dose total acumulada de metilprednisolona maior que 3,5g, conforme demonstrado na Tabela 13, não havendo diferença estatisticamente significativa quanto a dose total de corticóide e o desenvolvimento de doença citomegálica (Teste Exato de Fisher,  $p =1,00$ ; RR=1,02; IC 95% : 0,82 - 1,25).

Tabela 13. Incidência de doença por citomegalovírus conforme a dose total acumulada de Metilprednisolona.

Dose Total Metilprednisolona	Doença Citomegálica				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
< ou = 3,5 g	36	92,3	3	7,7	39	78,0
> 3,5 g	10	90,9	1	9,1	11	22,0
Total	46	92,0	4	8,0	50	100,0

Teste Exato de Fisher,  $p=1,00$ ;  
 RR=1,02; IC 95%: 0,82 - 1,25

#### 4.4.3. Uso de OKT3

Nesta coorte de 72 pacientes, 9 (12,5%) apresentaram rejeição córtico-resistente, e receberam anticorpos monoclonais anti-CD3 (OKT3). Destes, 33,3% dos pacientes (3/9) desenvolveram antigenemia positiva em algum período pós operatório, correspondendo a 12% (3/24) de todos pacientes que apresentaram antigenemia positiva, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os pacientes que receberam ou não anticorpos monoclonais quanto ao desenvolvimento de infecção citomegálica, conforme pode ser evidenciado pela análise da Tabela 14.

Tabela 14. Incidência de antigenemia positiva conforme o uso de anticorpos monoclonais.

Uso de OKT3	Antigenemia				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
Não	42	66,7	21	33,3	63	66,7
Sim	6	66,7	3	33,3	9	33,3
Total	48	66,7	24	33,3	72	100,0

Teste Exato de Fischer,  $p=1,000$   
RR=1,00; IC 95%: 0,83 - 1,20

A incidência de doença citomegálica no grupo de pacientes que receberam OKT3 está apresentada na Tabela 15, e foi de 11,1% (1/9) nos pacientes que receberam anticorpos e de 7,9% (5/63) nos pacientes que não receberam anticorpos monoclonais, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Entre os 6 pacientes que desenvolveram doença por citomegalovírus, apenas 1 (16%) havia recebido tratamento com OKT3 e 12,1% (8/66) dos pacientes sem doença usaram anticorpos monoclonais, não havendo diferença significativa entre os grupos. (Teste Exato de Fischer,  $p= 0,565$ ;



RR=1,03; IC 95%: 0,81 - 1,31).

Tabela 15. Incidência de doença por citomegalovírus conforme o uso de anticorpos monoclonais.

Uso de OKT3	Doença citomegálica				Total	
	Negativa	%	Positiva	%	N	%
Não	58	92,1	5	7,9	63	87,5
Sim	8	88,9	1	11,1	9	12,5
Total	66	91,7	6	8,3	72	100,0

Teste Exato de Fischer,  $p=0,565$   
RR=1,03; IC 95%: 0,81 - 1,31

#### 4.4.4. Tipo de doador, idade e sexo

Conforme demonstrado na Tabela 16, não houve diferença estatisticamente significativa nas análises das distribuições por sexo e por tipo de doador, ou nas médias de idades entre os grupos de pacientes que desenvolveram antigenemia positiva ou doença viral.

A média de idade do doador dos pacientes que mantiveram antigenemias negativas foi de  $32,5 \pm 13,8$  anos, sendo que naqueles pacientes que desenvolveram antigenemia positiva no pós transplante foi de  $38,9 \pm 12,3$  anos ( $t=-1,85$ ,  $p=0,068$ ). No grupo de pacientes que desenvolveu doença citomegálica a média de idade dos doadores foi de  $41,2 \pm 16,0$  anos, não havendo diferença estatisticamente significativa em relação aos outros dois grupos ( $t=-1,23$ ,  $p=0,33$ ).

Do total de 72 transplantes estudados, 50,7% (36/72) foram realizados com rins de doadores do sexo feminino. Embora a incidência de infecção citomegálica nos pacientes que receberam estes rins tenha sido mais alta (41,7%; 15/36) quando comparada aos pacientes que receberam rins de doadores masculinos (25,7%; 9/35), esta diferença não alcançou significância estatística. (Qui-

quadrado=2,01;  $p=0,15$ ). No grupo de pacientes que apresentaram infecção por citomegalovírus, 62% (15/24) receberam rins de doadores do sexo feminino, porém esta diferença também não alcançou significância estatística. (Qui-quadrado = 1,368;  $p= 0,242$ ).

A incidência de doença por citomegalovírus nos pacientes que receberam rins de doadores masculinos foi de 5,7% (2/35) e 11,1% (4/36) naqueles transplantados com rins de doadores femininos. Mais uma vez a diferença detectada não foi estatisticamente significativa (Teste Exato de Fisher,  $p=0,674$ ). A maioria dos pacientes que desenvolveram doença citomegálica no período pós transplante haviam recebido rins de doadores do sexo feminino 66,6% (4/6), novamente a diferença observada não alcançou significância estatística (Teste Exato de Fisher,  $p= 0,356$ ).

Quanto ao tipo de doador, 26,7% (8/30) dos pacientes que receberam rins de doadores cadáveres desenvolveram antígenemia positiva no pós operatório e 38,1% (16/42) dos receptores de rins de doadores vivos. Do total de pacientes que apresentaram antígenemia positiva, 66,6% (16/24) havia recebido rim de doador vivo, não sendo significativa esta diferença entre os grupos (Qui-quadrado = 1,029;  $p=0,310$ ).

A incidência de doença citomegálica pós transplante nos pacientes que receberam rins de doadores vivos foi de 9,5% (4/42) e 6,7% (2/30) naqueles que receberam rim de doador cadáver. Do total de pacientes que desenvolveram doença por citomegalovírus 66% (4/6) haviam recebido rins de doadores vivos, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Teste Exato de Fisher;  $p=0,509$ ).

Tabela 16. Comparação das variáveis relacionadas ao doador e receptor, com os resultados de antigenemia positiva e doença citomegálica.

Variável	Antigenemia Positiva	Doença Citomegálica	Total dos Pacientes	p
Idade	38,9 ±12,38	41,17 ±16,01	34,68 ±13,62 <sup>1</sup>	0,068 <sup>1</sup>
Sexo D	62,5% fem	66,7% fem <sup>2</sup>	50,7% fem <sup>2</sup>	0,155 <sup>2</sup>
Tipo D	33,3% cad <sup>3</sup>	33,3% cad	41,7% cad <sup>3</sup>	0,310 <sup>3</sup>
Idade R	29,96 ±12,38	31,30 ±15,92	30,15 ±14,12 <sup>4</sup>	0,934 <sup>4</sup>
Sexo R	20,8% fem	16,7% fem <sup>5</sup>	29,2% fem <sup>5</sup>	0,410 <sup>5</sup>

(variáveis contínuas: média ± DP; variáveis categóricas: percentual)

DP= desvio padrão; D= doador, R= receptor; Fem: sexo feminino; Cad:doador cadáver

<sup>1</sup> Teste *t* de amostras independentes; *t*= -1,856

<sup>2</sup> Teste do Qui-quadrado;  $\chi^2=2,018$

<sup>3</sup> Teste do Qui-quadrado;  $\chi^2= 1,029$

<sup>4</sup> Teste *t* de amostras independentes; *t*=-1,880

<sup>5</sup> Teste do Qui-quadrado;  $\chi^2= 0,664$

#### 4.4.5. Sexo e idade do receptor

Nos parâmetros idade e o sexo do receptor, não houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes que desenvolveram antigenemia positiva ou doença viral (Tabela 16). A média de idade dos pacientes transplantados que apresentaram antigenemia positiva no período pós operatório foi de 29,9 ± 12,3 anos, naqueles sem infecção foi de 30,2 ± 14,5 anos e nos pacientes que desenvolveram doença por citomegalovírus foi de 31,3 ± 15,9 anos, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. (*t*= 0,83; *p*=0,934).

A incidência de infecção citomegálica nos receptores do sexo masculino foi de 37,3% (19/51) e 23,8% (5/21) no sexo feminino. A maioria dos pacientes que apresentaram antigenemia positiva no pós operatório eram do sexo masculino correspondendo a 79,1% (19/24), sendo 20,8% (5/24) do sexo feminino, porém

esta diferença não atingiu significância estatística em relação a incidência da infecção viral quanto ao sexo do receptor (Qui-quadrado=1,210, p=0,27).

A incidência de doença por citomegalovírus nos receptores do sexo masculino foi de 9,8% (5/51) e de 4,8% (1/21) nas mulheres. A maioria dos pacientes que evoluíram para doença citomegálica eram do sexo masculino, 83,3% (5/6), porém sem diferença significativa estatisticamente em relação ao sexo dos receptores e o desenvolvimento de doença por citomegalovírus (Teste Exato de Fisher, p=0,664).

#### **4.4.6 . Sorologia para citomegalovírus no doador e receptor**

Nos pacientes receptores de órgãos de doadores vivos, foi possível analisar a presença de anticorpos anti-citomegalovírus, presentes no soro dos receptores e doadores antes do transplante renal. Do total de 42 pacientes transplantados com rins de doadores vivos, 66,7% (28/42) dos receptores e 50,0% (21/42) dos doadores apresentavam anticorpos de classe IgG positivos para o citomegalovírus. A média de idade dos receptores com sorologia positiva foi de  $31,6 \pm 13,8$  anos, sendo significativamente mais alta que dos receptores com sorologia negativa que foi de  $21,9 \pm 11,3$  anos ( $t=-2,294$ ; p=0,02). Da mesma forma, a média de idade dos doadores vivos com sorologia positiva de  $42,3 \pm 12,2$  anos foi significativamente maior do que aqueles com sorologia negativa de  $31,3 \pm 11,1$  anos ( $t=-2,87$ ; p=0,04).

Dos pacientes que receberam rins de doadores com sorologia positiva para CMV, 61,91% (13/21) desenvolveram antigenemia positiva no pós transplante e dos receptores de doadores com sorologia negativa, 14,3% (3/21) apresentaram antigenemia positiva (Teste Exato de Fisher, p=0,005). Portanto, o transplante

realizado com doador com sorologia positiva, apresentou risco relativo para desenvolvimento de antigenemia positiva igual a 3,7 (CI 95%: 1,29 - 10,7). Dos 14 receptores com sorologia negativa e dos 28 com sorologia positiva para CMV, 50,0% (7/14) e 32,1% (9/28) desenvolveram antigenemia positiva após o transplante, respectivamente. (Teste do Qui-quadrado=1,26; p=0,321), conforme a Tabela 17, não havendo impacto da sorologia do receptor no desenvolvimento de infecção.

Tabela 17. Desenvolvimento de antigenemia positiva conforme a sorologia (IgG) do doador e receptor.

Sorologia	Antigenemia		Total
	Positiva	Negativa	
R + (*)	9 ( 32%)	19 (68%)	28 (66,6%)
R - (*)	7 (50%)	7 ( 50%)	14 (33,4%)
D + (**)	13 (61,9%)	8 (28,1%)	21 (50,0%)
D - (**)	3 ( 14,3%)	18 (85,7%)	21(50,0%)
Total antigenemia	16 (38,1%)	26 (61,9%)	42 (100%)

R= Receptor; D= Doador; (-) = sorologia negativa; (+) = sorologia positiva

\* Teste do Qui-quadrado;  $\chi^2 = 1,26$ ; p= 0,321

\*\* Teste Exato de Fisher, p= 0,004

Em relação a combinação da sorologia do doador e receptor, em 31,0% e 14,3% dos transplantes realizados, ambos apresentavam sorologia positiva (D+R+) e negativa (D-R-) para citomegalovírus, respectivamente, conforme demonstrado na Tabela 18. Neste grupo de pacientes transplantados com rins de doadores vivos, 4 pacientes desenvolveram sintomas compatíveis com doença citomegálica, sendo todos receptores de órgãos de doadores com sorologia positiva para CMV. Nenhum dos pacientes que recebeu rim de doador com sorologia negativa desenvolveu doença citomegálica, entretanto esta diferença

não alcançou significância estatística (Teste Exato de Fisher,  $p= 0,109$ ). Estes 4 casos de doença citomegálica, 1 ocorreu em receptor positivo (R+D+) e 3 ocorreram em receptores negativos (R-D+). A incidência de doença citomegálica foi maior nos receptores com sorologia negativa que receberam rins de doadores positivos (R-D+) do que no grupo R+D- (Teste Exato de Fisher;  $p= 0,031$ ). A análise comparativa entre os diferentes pares de combinação da sorologia do doador e receptor, e o desenvolvimento de infecção por CMV mostrou diferença significativa entre os pares R+D+ e R+D- (Teste Exato de Fisher,  $p= 0,004$ ), mostrando o impacto da sorologia do doador. Nos pares R+D-, onde o desenvolvimento de infecção está associado a reativação viral, 13,3% (2/15)\*\* apresentaram antigenemia positiva e nenhum paciente desenvolveu doença por CMV. Nos pares R-D+, onde a infecção primária ocorre, 75% (6/8)\*\* desenvolveram antigenemia positiva e destes, 50% (3/6) desenvolveram doença citomegálica, conforme Tabela 18, onde já estão apresentados os resultados das sobrevidas dos enxertos em 5 anos (\*\*Teste Exato de Fisher,  $p=0,032$ ).

Tabela 18. Desenvolvimento de antigenemia positiva e doença citomegálica conforme o status sorológico (IgG) do doador e receptor, e sobrevida do enxerto em 6 anos, em receptores de transplante renal com doador vivo.

Sorologia D x R	N (%)	Antigenemia Positiva	Doença Citomegálica	Sobrevida Em 6 anos <sup>⊕</sup>
R+ D+ (*)	13 (31,0%)	7 (53,8%) *	1 (25,0%)	76,9%
R- D-	6 (14,3%)	1 (16,6%)	0 (0,0%)	83,3%
R+ D- (*) (**)	15 (35,7%)	2 (13,3%) * **	0 (0,0%)***	86,6%
R- D+ (**)	8 (19,0%)	6 (75,0%) **	3 (75,0%)***	62,5%
Total	42 (100,0%)	16 (100,0%)	4 (100%)	78,5%

R= receptor, D= doador, ( + ) = sorologia positiva, ( - ) = sorologia negativa,

<sup>⊕</sup> Taxas de sobrevida do enxerto em 6 anos conforme a combinação da sorologia do doador e receptor, para cada par.

\* (D+ x D-) Teste Exato de Fisher;  $p=0,004$

\*\* (R+D- x R-D+) Teste Exato de Fisher;  $p= 0,032$

\*\*\* (R+ D- x R-D+) Teste Exato de Fisher;  $p=0,031$

A sobrevida do enxerto em 6 anos dos receptores de doadores vivos com sorologia positiva e negativa para CMV foi 71,4% e 85,0%, respectivamente, não havendo diferença entre os grupos ( LogRank =1,11; p=0,29). A sobrevida dos paciente em 6 anos nos receptores de rins de doadores com sorologia positiva foi 95,45% e naqueles com doadores com sorologia negativa 100,0% (LogRank=0,95; p=0,33). Em relação a sobrevida conforme a combinação da sorologia do doador e receptor, o grupo de pacientes que apresentou a pior sobrevida foi o de receptores com sorologia negativa que receberam rins de doadores com sorologia positiva (R-D+) com 62,5%, e o com melhor sobrevida foi o grupo de receptores com sorologia positiva que receberam rim de doadores também positivos (R+D+) com 86,%, conforme a Tabela 18. No entanto não houve diferença estatisticamente significativa entre as diferentes combinações de sorologia do doador e receptor (LogRank=2,29; p=0,13). A sobrevida do enxerto em 6 anos nos pares R-D+ que desenvolveram antigenemia positiva foi de 50 % e naqueles com antigenemia negativa foi 100%, no entanto, esta diferença não atingiu significado estatístico, provavelmente devido ao reduzido número de pacientes em cada grupo. Não houve diferenças significativas nas curvas de sobrevida entre os outros pares analisados, conforme a Tabela 19.

Tabela 19. Impacto da combinação da sorologia do doador e receptor no desenvolvimento de Infecção citomegálica e sobrevida do enxerto em 6 anos nos transplantes com doadores vivos.

Sorologia doador e receptor	Antigenemia						Total	
	Neg	%	Sobrevida 6 anos	Pos	%	Sobrevida 6 anos	N	%
R+D+	6	50,0	66,6%	7	50,0	85,0%	13	31,0
R- D-	5	83,3	80,0%	1	16,7	100%	6	14,3

R+ D- *	13	86,7	84,6%	2	13,3	100%	15	35,7
R- D+ *	2	25,0	100 %	6	75,0	50,0%	8	19,0
Total	26	61,8	80,7%	16	38,1	75,0%	42	100

R= receptor, D= doador, ( + ) = sorologia positiva, ( - ) = sorologia negativa

\*LogRank=1,23; p= 0,26;

#### 4.5. Impacto da infecção e doença citomegálica sobre a função renal

As médias das creatininas de cada ano estão expostas na Tabela 20. No final do quinto ano pós transplante a média das creatininas de todos pacientes foi  $1,5 \pm 0,6$  mg/dl, sendo significativamente mais baixa do que no final do primeiro ano de transplante, onde foi de  $1,7 \pm 0,7$  mg/dl (teste *t* para amostras pareadas,  $t= 3,14$ ,  $p=0,003$ ).

A média das creatininas no primeiro e quinto ano pós transplante nos pacientes que apresentaram antigenemia positiva foi de  $1,8 \pm 0,7$  mg/dl\* ao fim do primeiro ano, e de  $1,8 \pm 0,5$  mg/dl\* ao fim do quinto ano. Nos pacientes que não desenvolveram infecção por citomegalovírus foi de  $1,6 \pm 0,7$  mg/dl\*\* e  $1,7 \pm 0,7$  mg/dl\*\* respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos diferentes anos de acompanhamento, conforme mostra a Tabela 20 (teste *t* para amostras independentes,  $*t= -0,96$ ;  $p=0,99$   $**t=0,13$ ;  $p=0,91$ ).

Nos pacientes que desenvolveram doença citomegálica, a média das creatininas no final do primeiro e quinto ano pós transplante foi de 2,2 mg/dl e 1,9 mg/dl respectivamente, comparado com 1,6 mg/dl e 1,7 mg/dl nos pacientes sem doença viral. Estas diferenças não atingiram significância estatística, conforme demonstrado na Tabela 20 para cada ano de acompanhamento.

Tabela 20. Média e desvio padrão das creatininas a cada ano de acompanhamento, no grupo de pacientes com e sem infecção por



citomegalovírus, e nos pacientes com e sem doença citomegálica.

Mês PO	Antigenemia			Doença Citomegálica		
	Pos	Neg	P *	Pres	Aus	P*
12º	1,80±0,75	1,61±0,75	0,99	2,22±0,86	1,64±0,75	0,14
24º	1,65±0,54	1,80±1,3	0,09	1,53±0,28	1,76±1,3	0,73
36º	1,72±0,66	1,57±0,67	0,75	1,70±0,28	1,62±0,67	0,88
48º	1,81±0,58	1,62±0,64	0,92	1,85±0,49	1,67±0,64	0,71
60º	1,83±0,52	1,69±0,76	0,18	1,92±0,00	1,68±0,68	0,90

PO= pós operatório; Pos = positiva; Neg = negativa; Pres = presente, Aus = Ausente  
\*Teste *t* para amostras independentes.

#### 4.6. Impacto da infecção e doença por citomegalovírus nas taxas de sobrevida dos enxertos e pacientes

Nesta coorte de 72 pacientes, a sobrevida global do paciente foi 98,1% e 96,2% no primeiro e quinto ano pós transplante, respectivamente, como mostra a Figura 4. A sobrevida dos pacientes receptores de rim de doador vivo e de cadáver foi 97,5% e 100% no primeiro ano, 97,5% e 95,6% no quinto ano, respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa nas sobrevidas dos pacientes em relação ao tipo de doador (LogRank = 0,13;  $p=0,73$ ).

A sobrevida global do enxerto, no final do primeiro e quinto ano foi 88,2% e 68,3% respectivamente. A sobrevida do enxerto nos pacientes transplantados com doadores vivos e cadáveres foi de 92,8% e 83,3% no primeiro ano, e 77,8% e 56,1% no quinto ano, sendo esta sobrevida significativamente maior nos pacientes receptores de rins de doadores vivos (LogRank=4,51;  $p=0,03$ ), conforme ilustrado na Figura 4.

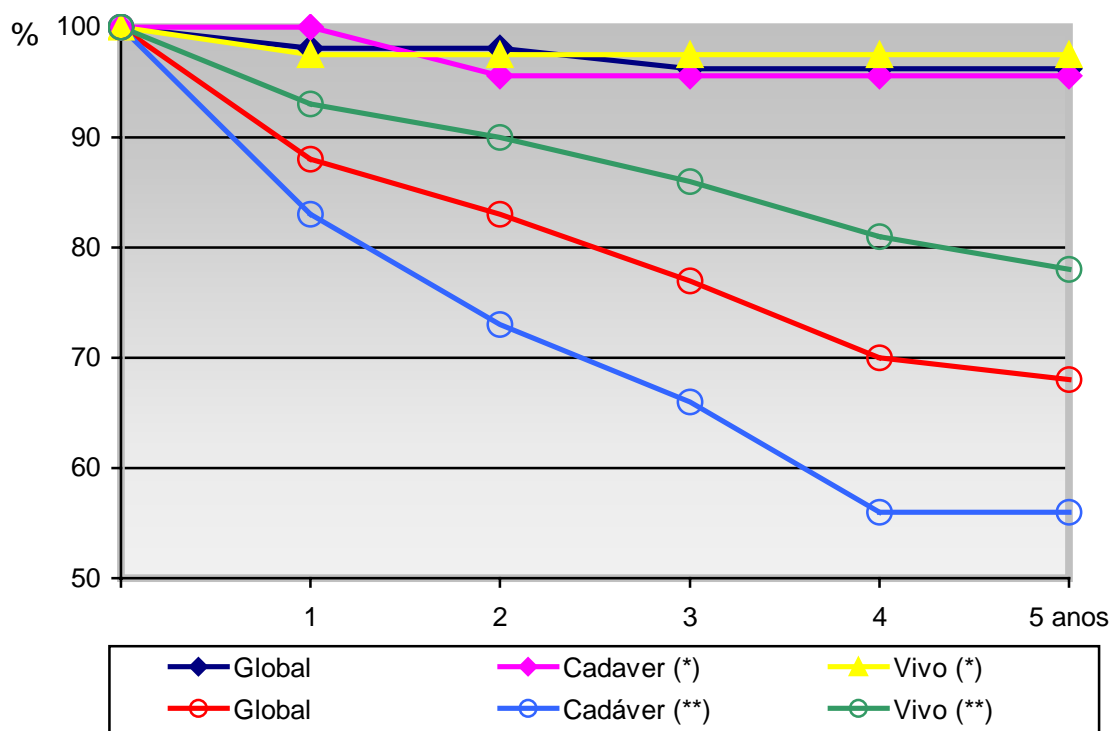


Figura 4. Curva de sobrevida atuarial anual do paciente (◆) e do enxerto (○), estratificada conforme o tipo de doador, vivo ou cadáver (Kaplan-Meier).

\* LogRank= 0,13; p=0,73, \*\* LogRank=4,51; p=0,03

Entre os 48 pacientes que não apresentaram infecção viral no período pós operatório de acompanhamento de até 6 anos, 37,3% (18/48) evoluíram com perda do enxerto neste período. No grupo de pacientes com antigenemia positiva em algum momento pós transplante, ocorreram 29% de perdas do enxerto (7/24), e no grupo de pacientes que além da antigenemia positiva desenvolveram doença citomegálica ocorreram 83,3% de perdas (5/6), havendo diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes com doença por CMV e aqueles que permaneceram com antigenemia negativa (Teste Exato de Fisher; p= 0,017), conforme demonstrado na Tabela 21.

Ao final do período de acompanhamento mínimo de 6 anos, ocorreram 25 perdas de enxerto, sendo que 72,3% (18/25) foram observadas no grupo de

pacientes com antigenemias negativas, 28,1% (7/25) no grupo de pacientes com antigenemias positivas, sendo que do total dos pacientes com enxerto funcional, 36,0% (17/47) apresentaram antigenemia positiva em algum momento no pós transplante. Não houve diferença estatisticamente significativa nas perdas do enxerto entre os grupos de pacientes com antigenemia positiva ou negativa conforme a Tabela 21 (RR= 0,76; IC 95%: 0,37 - 1,65) ( Qui-quadrado= 0,62; p=0,60).

O número de perdas de enxerto entre os pacientes que permaneceram com antigenemia negativa foi significativamente menor do que naqueles que desenvolveram doença citomegálica (Teste Exato de Fisher, p=0,04). O fato de não desenvolver antigenemia positiva foi um fator de proteção em relação a perda do enxerto conforme a Tabela 21 (RR = 0,45; IC 95%: 0,27-0,75).

Tabela 21. Percentual de perdas do enxerto nos grupos com antigenemias negativas, positivas e doença citomegálica.

Situação Clínica	Enxertos funcionantes	Perdas		Total de pacientes	P
		n	%		
Antigenemia					
Negativa * **	30	18	37,5	48	
Positiva *	17	7	29,1	24	*0,602
Doença citomegálica presente **	1	5	83,3	6	** 0,041
Grupo Geral de pacientes	47	25	34,2	72	

\* RR= 0,76; IC 95%: 0,37 - 1,65; Teste do Qui-quadrado,  $\chi^2= 0,52$ ; p=0,60

\*\* RR = 0,45; IC 95%: 0,27 -0,74; Teste Exato de Fisher; p= 0,041

Do grupo de 6 pacientes que apresentaram doença por citomegalovírus no período pós transplante, 5 deles (83%) evoluíram com perda do enxerto no período de acompanhamento. Duas perdas ocorreram por óbito no 219º e 644º

PO, e 3 pacientes retornaram à diálise nos 17º, 276º e 1331º dia de pós operatório. Do total de perdas no período, 20% (5/25) ocorreram no grupo de pacientes com doença citomegálica, sendo que no grupo que apresentou perda do enxerto, a taxa de desenvolvimento de doença foi de 2% (1/47), havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos conforme a presença ou não de doença citomegálica, em relação a perda do enxerto, conforme demonstrado na Tabela 22. (RR = 9,4; IC 95%: 1,16 - 76,11; Teste Exato de Fischer; p= 0,017).

Tabela 22. Perdas do enxerto nos grupos de pacientes com antigenemias positivas e doença citomegálica

Perdas	Antigenemia*		Doença **		Total
	Positiva	Negativa	Presente	Ausente	
Sim	7	18	5	20	25
Não	17	30	1	46	47
Total	24	48	6	66	72

\* RR = 0,76; IC 95%: 0,37 - 1,65 ; Teste do Qui-quadrado,  $\chi^2 = 0,52$ ; p=0,602

\*\* RR= 9,4; IC 95%:1,16 - 76,11; Teste Exato de Fischer, p= 0,017

A sobrevida atuarial dos enxertos, estratificada para o resultado da antigenemia e o desenvolvimento de doença por citomegalovírus está ilustrada na Figura 5. No grupo de pacientes que não desenvolveram doença citomegálica a taxa de sobrevida do enxerto foi de 92% e 73% , no 1º e 5º ano, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos (LogRank= 0,44; p=0,50). No

grupo de pacientes com quadro compatível com doença citomegálica, a taxa de sobrevida do enxerto foi de 50% e 16% no primeiro e quinto ano de acompanhamento, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa na sobrevida do enxerto entre estes grupos (LogRank=14,37;  $p=0,0002$ ).

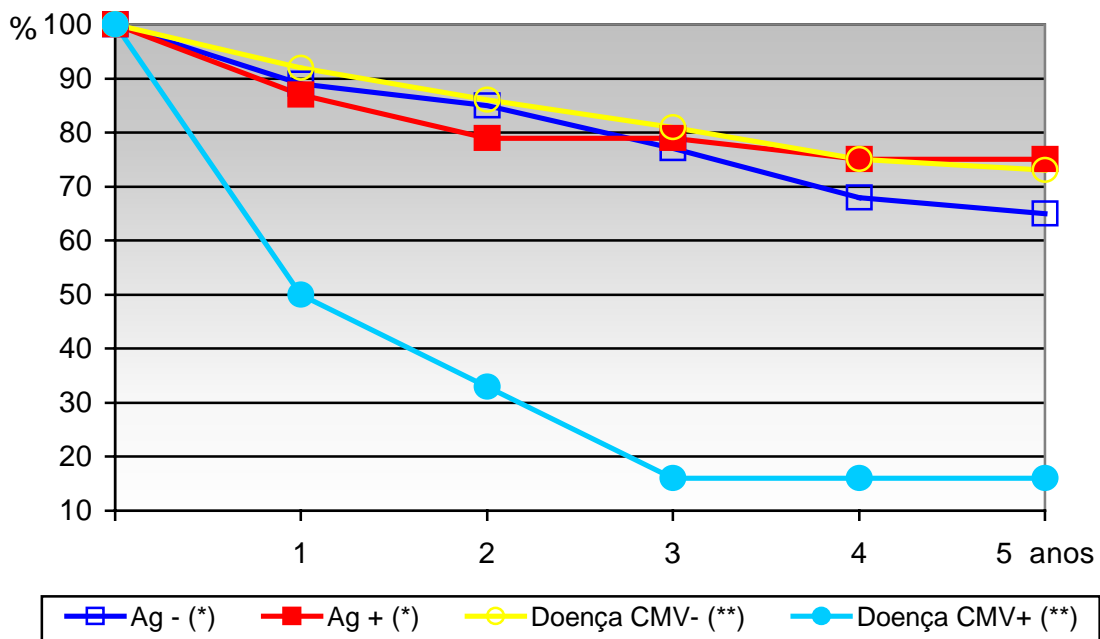


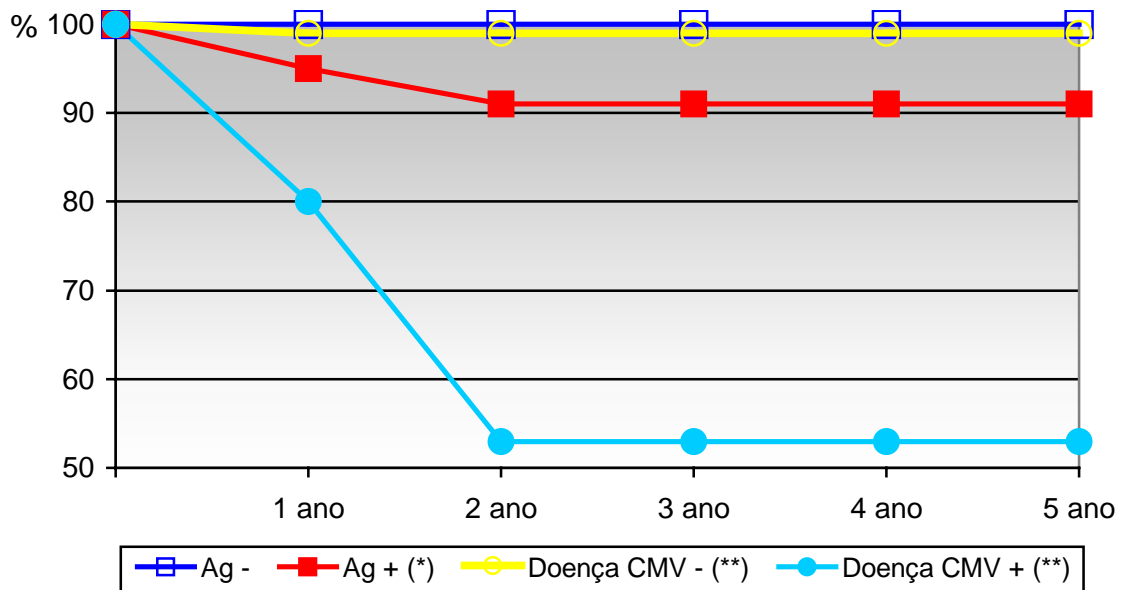
Figura 5. Curva de sobrevida atuarial do enxerto, estratificada conforme o resultado da antigenemia (quadrados) e o desenvolvimento de doença citomegálica (círculos).

\*LogRank= 0,44;  $p=0,505$ , \*\*LogRank=14,37;  $p=0,0002$ .

Ag - : antigenemia negativa; Ag + : antigenemia positiva; Doença CMV+ : desenvolvimento de doença citomegálica no pós operatório; Doença CMV - : ausência de doença citomegálica.

A curva de sobrevida dos pacientes no grupo que apresentaram antigenemia positiva no pós transplante foi de 95% e 91%, no primeiro e quinto ano de acompanhamento, respectivamente, e nos pacientes sem infecção viral foi de 100% no primeiro e quinto ano, no entanto esta diferença não alcançou significância estatística (LogRank= 3,82;  $p=0,0506$ ) conforme mostra a Figura 6.

No grupo de pacientes com doença citomegálica, a sobrevida do paciente foi de 80% e 53% no primeiro e quinto ano, havendo diferença estatisticamente significativa quando comparada com a taxa de sobrevida dos pacientes sem doença citomegálica (LogRank=39,32;  $p=0,0001$ ). Nesta coorte, ocorreram 3



óbitos, sendo todos no grupo de pacientes com antigenemia positiva e dois destes desenvolveram doença citomegálica, com óbito no 219º e no 644º dia de pós operatório. O terceiro paciente com antigenemia positiva porém sem doença citomegálica, faleceu no 1607º dia pós transplante por acidente vascular cerebral. Considerando o grupo de pacientes com doença citomegálica no período pós transplante renal, ocorreram 33% de óbitos (2/6), comparado a 1,4% (1/68) no grupo que evoluiu sem doença por CMV (Teste Exato de Fischer,  $p=0,006$ ).

Figura 6. Curva de sobrevida atuarial dos pacientes, estratificada pelo resultado da antigenemia (quadrados) e o desenvolvimento de doença citomegálica (círculos).

\* LogRank= 3,82;  $p=0,0506$ , \*\* LogRank=39,32;  $p=0,0001$ .

Ag - : antigenemia negativa; Ag + : antigenemia positiva; Doença CMV+: desenvolvimento de doença citomegálica no pós operatório; Doença CMV - : ausência de doença citomegálica.

#### 4.7. Sobrevida dos enxertos quanto ao tipo de doador e presença de infecção ou doença citomegálica

No grupo de pacientes transplantados com rins de doadores vivos e que desenvolveram antigenemia positiva, a sobrevida dos enxertos, no primeiro e quinto ano pós transplante foi de 87,5% e 75,0% respectivamente, e naqueles com antigenemias negativas foi de 96,2% e 79,3%, respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos conforme a Figura 7 (LogRank= 0,21;  $p=0,6478$ ). A sobrevida do enxerto nestes pacientes receptores de rins de doadores vivos e que desenvolveram doença citomegálica pós transplante foi de 50% e 25%, no primeiro e quinto ano, respectivamente, e naqueles sem doença citomegálica foi de 97,5% e 83,5%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa na comparação dos grupos de pacientes com transplante de doador vivo em relação ao desenvolvimento de doença citomegálica (LogRank=10,98;  $p=0,0009$ ).

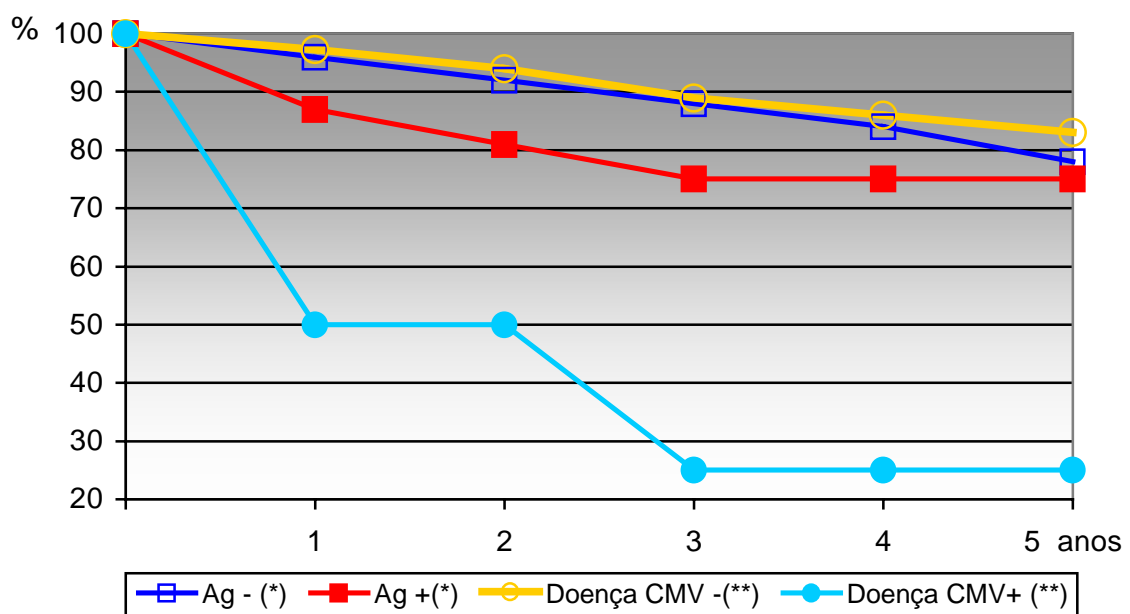


Figura 7. Sobrevida do enxerto nos receptores de rins de doadores vivos, segundo a presença de antigenemia (quadrados) e desenvolvimento de doença citomegálica (círculos).

\*LogRank= 0,21; p=0,6478, \*\*LogRank=10,98; p=0,0009.

Ag - : antigenemia negativa; Ag +: antigenemia positiva; Doença CMV+: desenvolvimento de doença citomegálica no pós operatório; Doença CMV - : ausência de doença citomegálica.

A sobrevida dos enxertos dos receptores de rim de doador cadáver e que desenvolveram antigenemia positiva pós transplante foi de 81,8% e 48,9% no primeiro e quinto ano respectivamente, e naqueles com antigenemias negativas foi de 87,5% e 75,0%, respectivamente, não sendo, no entanto, estatisticamente significativa a diferença constatada (LogRank= 1,15; p=0,28). Nos pacientes que desenvolveram doença citomegálica e receberam rins de doadores cadáver, a sobrevida do enxerto foi de 50% e 0%, no primeiro e quinto ano respectivamente, e naqueles sem doença por citomegalovírus foi de 85,75 e 60,1%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa na sobrevida do enxerto dos receptores de rins de doadores cadavéricos, em relação ao desenvolvimento de doença citomegálica, conforme demonstrado na Figura 8 (LogRank= 7,50; p=0,0062).

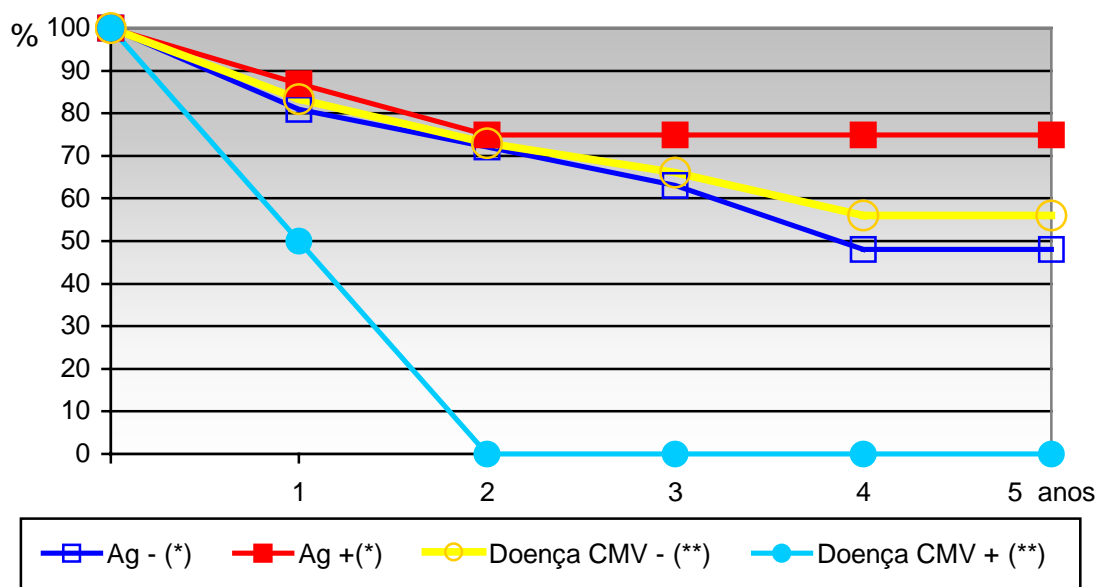


Figura 8. Curva de sobrevida do enxerto dos receptores de rins de doadores



cadáveres, conforme o resultado da antigenemia (quadrados) e desenvolvimento de doença citomegálica pós transplante (círculos):

\*LogRank= 1,15; p=0,2833, \*\*LogRank=7,50; p=0,0062.

Ag - : antigenemia negativa; Ag +: antigenemia positiva; Doença CMV+: desenvolvimento de doença citomegálica no pós operatório; Doença CMV - : ausência de doença citomegálica.

Nos pacientes com antigenemia positiva, a sobrevida global do enxerto, no primeiro e quinto ano pós transplante foi de 87,5% e 75%, respectivamente, não havendo diferença significativa na sobrevida do enxerto em relação ao tipo de doador nos pacientes com infecção viral nesta amostra (Figura 9, LogRank= 0,01; p=0,93), ao contrário do observado no grupo total, onde a sobrevida do enxerto nos doadores vivos foi significativamente maior que nos receptores de doador cadáver conforme foi mostrado na Figura 4. Nos pacientes que não apresentaram antigenemia positiva pós transplante, a taxa de sobrevida do enxerto manteve-se significativamente maior nos receptores de rins de doadores vivos quando comparada com aqueles que receberam rins de doadores cadavéricos (LogRank=5,51; p=0,019).

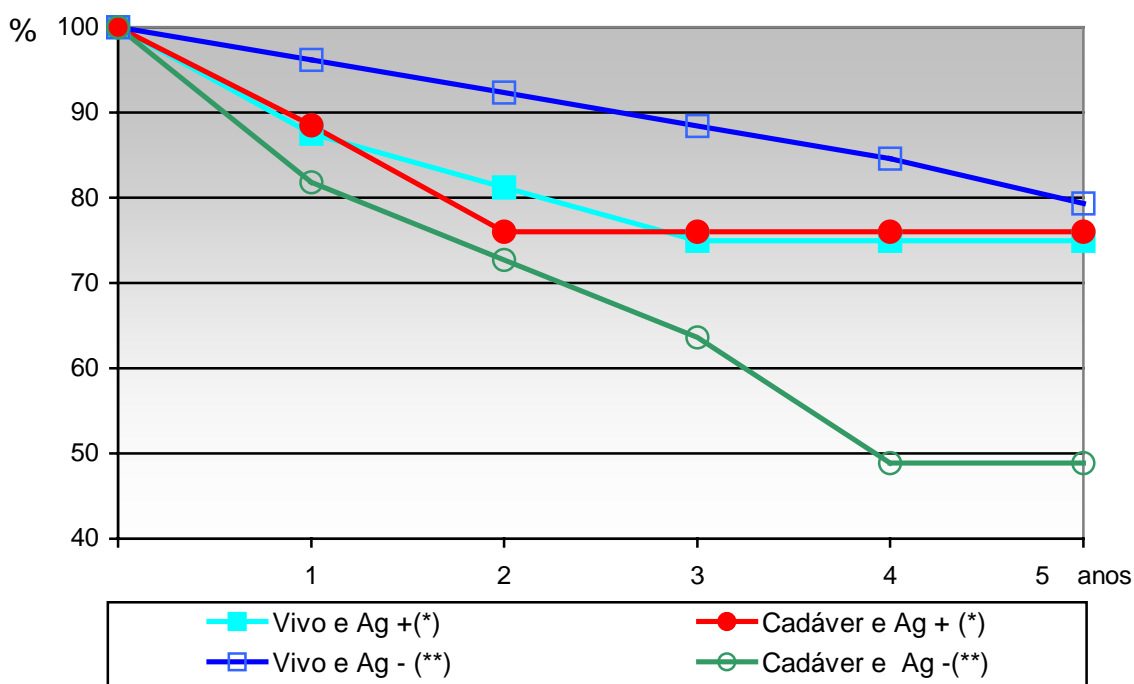


Figura 9. Curva de sobrevida do enxerto nos pacientes com antigenemia positiva

(símbolos cheios) e negativa (símbolos vazios), conforme o tipo de doador vivo (quadrados) e cadáver (círculos).

\*LogRank= 0,01; p=0,9336; \*\*LogRank=5,51; p=0,0189.

Ag - : antigenemia negativa; Ag +: antigenemia positiva;

Na análise global, no grupo de pacientes que desenvolveram doença citomegálica, a sobrevida do enxerto foi de 50% e 16,6% no primeiro e quinto ano, respectivamente, sendo que nos pacientes que receberam rins de doadores cadáveres a sobrevida em cinco anos foi 0% e nos receptores de rins de doadores vivos foi 25%, conforme Figura 10. Não houve diferença estatisticamente significativa na sobrevida do enxerto neste grupo de pacientes com doença citomegálica em relação ao tipo de doador (LogRank= 0,99; p=0,3209) como foi observado na amostra total. Nos pacientes que não desenvolveram doença citomegálica, as diferenças nas sobrevidas dos enxertos entre os receptores de rins de doadores vivos e cadáver mantiveram significância estatística conforme demonstrado na Figura 10. (LogRank=5,50; p=0,0246).

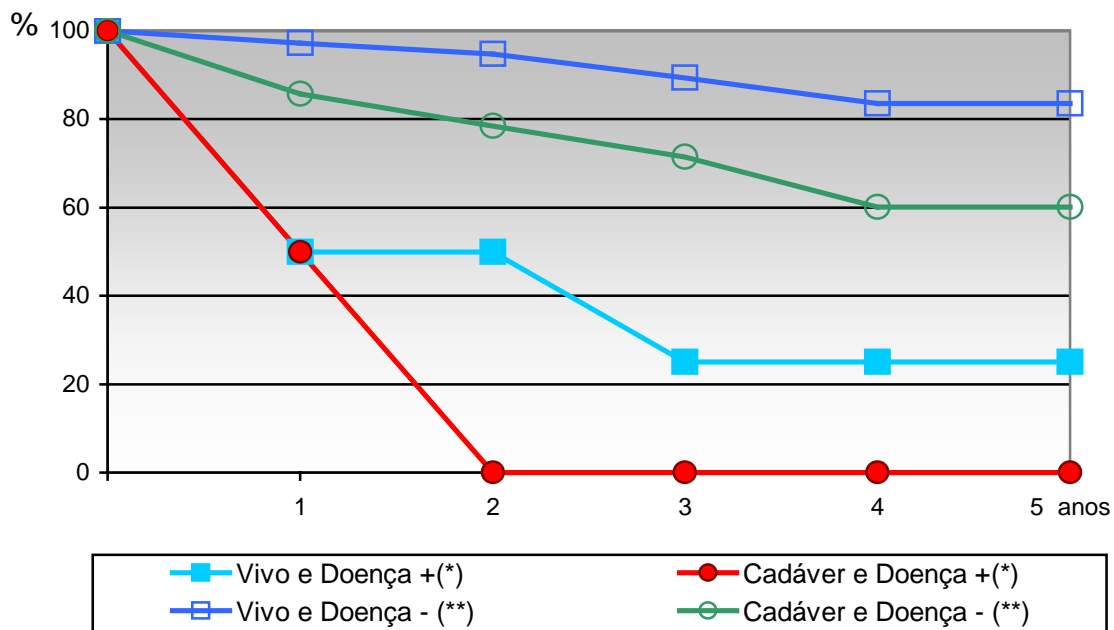


Figura 10. Sobrevida do enxerto nos pacientes com doença citomegálica presente (símbolos cheios) ou ausente (símbolos vazios), conforme o tipo de doador vivo (quadrados) ou cadáver (círculos).

\*LogRank= 0,99; p=0,3209; \*\*LogRank=5,50; p=0,0246

Doença: desenvolvimento de doença citomegálica no pós operatório; Doença - : ausência de doença citomegálica.

#### **4.8. Sobrevida dos pacientes de acordo com o tipo de doador e a presença de infecção ou doença citomegálica**

As taxas de sobrevida dos pacientes conforme o resultado da antigenemia ou desenvolvimento de doença citomegálica conforme o tipo de doador, estão ilustradas na Figura 11. No grupo de transplantados que apresentaram antigenemia positiva e que receberam rins de doadores cadáver, a taxa de sobrevida do paciente 100% e 85,5% no primeiro e quinto ano respectivamente, e naqueles que receberam rim de doador vivo foi de 93,7%, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos (\*LogRank= 3,79; p=0,0516 ).

A sobrevida dos pacientes com doença citomegálica transplantados com rins provenientes de doador cadáver foi de 50% no primeiro e quinto ano, e naqueles receptores de rins de doadores vivos foi de 75%, havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos, conforme a Figura 11. (LogRank =26,66, p=0,00001).

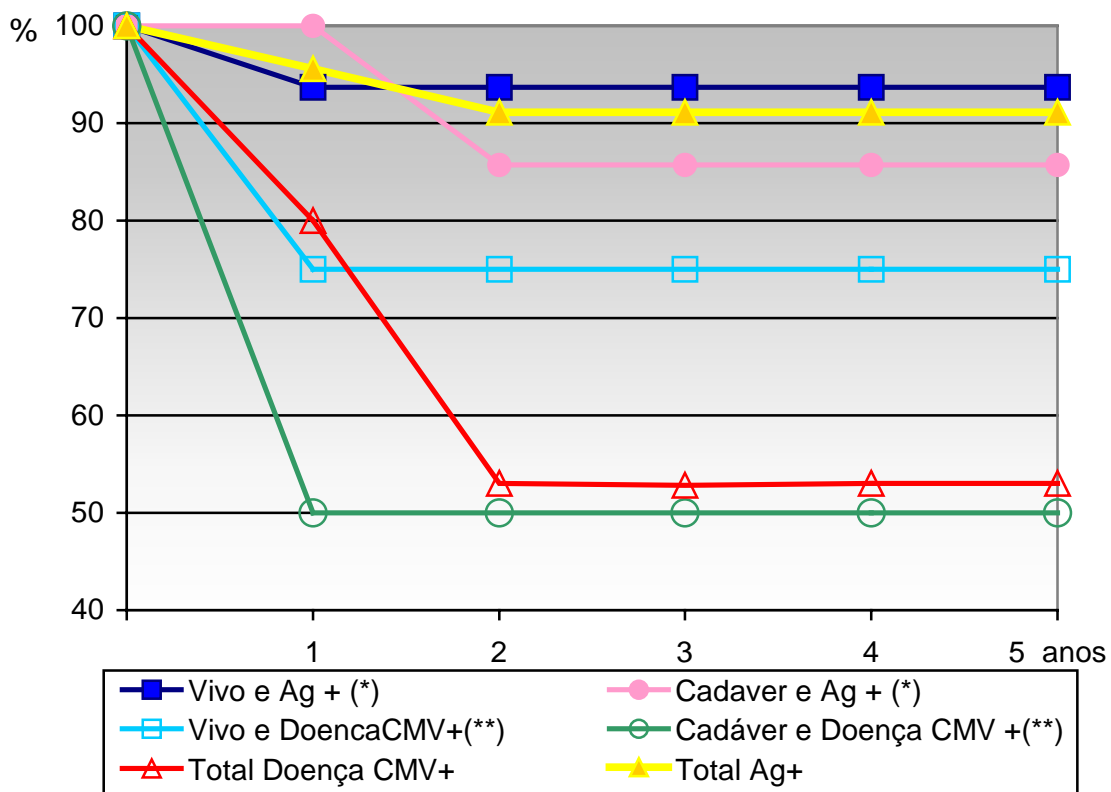


Figura 11. Curva de sobrevivência atuarial dos pacientes transplantados que apresentaram antigenemia positiva (símbolos cheios) e doença citomegálica (símbolos transparentes) conforme o tipo de doador vivo (quadrados) ou cadáver (círculos).

\*LogRank= 3,79;  $p=0,0516$  ; \*\*LogRank =26,66,  $p=0,00001$ ).

Ag - : antigenemia negativa; Ag +: antigenemia positiva; Doença CMV+: desenvolvimento de doença citomegálica no pós-operatório; Doença CMV - : ausência de doença citomegálica.

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo analisa a incidência de infecção e de doença citomegálica, e seu impacto na sobrevida do enxerto e do paciente a longo prazo, em uma coorte de 74 pacientes submetidos a transplante renal durante o ano de 1994, com acompanhamento mínimo de 6 anos, usando como ferramenta diagnóstica a detecção da antigenemia. Através da realização deste trabalho, a técnica de detecção da antigenemia para o citomegalovírus foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul a partir daquele ano, sendo desde então padronizada e rotineiramente utilizada no acompanhamento e manejo dos pacientes transplantados renais e de outros órgãos.

O esquema de imunossupressão utilizado em 86,5% dos pacientes foi a tríplice com ciclosporina, azatioprina e prednisona, sendo indicada em todos os pacientes, exceto nos pares HLA idênticos, conforme os critérios rotineiramente usados naquele período em vários serviços de transplante do país e fora dele. O uso de anticorpos monoclonais foi restrito ao tratamento dos episódios de rejeição aguda córtico-resistentes, não sendo utilizado como terapia de indução. Nesta coorte, 91% dos pacientes receberam primeiro transplante, 56% dos transplantes foram realizados com doadores vivos, dos quais 57% apresentavam identidade em um haplótipo do sistema HLA, e 72% dos receptores eram do sexo masculino.

### 5.1. Incidência de Infecção e Doença

A incidência de infecção e doença citomegálica nesta coorte foi de 33,3% e 8,4% respectivamente, semelhantes a relatada por GLENN (1981) e

SMITH et al. (1998). No Brasil, IANHEZ e SABBAGA (1979) relataram incidências de infecção por CMV após o transplante renal de 2,4% em 1979 e 5,8% em 1984 (IANHEZ et al., 1984), sendo semelhantes aquela relatada por KUMAR et al.(1995). Porém nestes estudos com incidências inferiores, o diagnóstico foi baseado apenas nas manifestações clínicas e achados de autópsia, provavelmente subestimando a real incidência da infecção.

Entretanto, a grande variação da incidência relatada na literatura é provavelmente devida a diferentes fatores tais como: (a) os protocolos de imunossupressão utilizados; (b) número de pacientes estudados; (c) diferenças na sensibilidade das técnicas em diferentes laboratórios; (d) nos critérios usados para definir infecção e doença citomegálica; (e) e principalmente nos métodos diagnósticos empregados (VAN SON and THE, 1989). A incidência de infecção por CMV na população de pacientes transplantados renais varia entre 30% e 90% (RUBIN et al., 1985; LEWIS et al., 1988; KAHNG et al., 1996; CHOI et al., 1996; YEYNG et al., 1998; BITSCH et al., 1993), estando relacionada com a dose de imunossupressão utilizada e com a sorologia do doador e do receptor (FARRUGIA and SCHWAB, 1992; RUBIN et al., 1985). Incidências mais altas do que a deste estudo são citadas na literatura, como BOSCH et al., (1989) que relataram 51% de incidência de infecção por CMV e de 13% de doença em 175 pacientes transplantados renais. Entretanto, no estudo referido acima, a dose utilizada de corticosteróides era elevada, o primeiro episódio de rejeição aguda era sempre tratado com ATG, e 11 pacientes receberam indução com OKT3 por 14 dias em dose de 5mg/d. Estas diferenças resultaram em um estado de imunossupressão mais intenso, justificando a maior incidência de infecção e

doença observadas, e reforçando a conhecida relação entre a intensidade da imunossupressão, em especial com o uso de preparações anti-lifocitárias, e a incidência de infecção e doença citomegálica. A incidência observada no presente estudo encontra-se entre as menores relatadas na literatura, provavelmente devido ao perfil da amostra estudada, onde foi utilizada prednisona em baixa dose, os episódios de rejeição aguda foram tratados com Metilprednisolona na dose de 1,5g por pulso, e anticorpos monoclonais foram usados somente para tratar episódios de rejeição córtico resistente. No Brasil, a maioria dos serviços realizam transplantes pelo Sistema Único de Saúde, onde até o final da última década, limitações financeiras e restrições do sistema, delimitavam o perfil dos protocolos de imunossupressão utilizados, determinando diferenças importantes entre os protocolos nacionais e aqueles utilizados na Europa ou Estados Unidos. No ano em que os transplantes deste estudo foram realizados, a maioria dos serviços utilizava, como rotina, imunossupressão tríplice, sem indução com anticorpos mono ou policlonais, os quais geralmente eram usados para tratamento dos episódios de rejeição celular aguda córtico resistente, ou na indução do estado de imunossupressão em pacientes submetidos a retransplantes ou que apresentassem alta reatividade contra painel de células.

## **5.2. Anticorpos monoclonais e citomegalovírus**

Neste estudo, a dose total de Metilprednisolona e o uso de OKT3 não se correlacionaram com o desenvolvimento de infecção ou doença por citomegalovírus. Embora a incidência de doença citomegálica tenha sido maior no grupo de pacientes que receberam mais do que 3,5 g de Metilprednisolona

(9,1%) do que naqueles que receberam 3,5g ou menos (7,7%), esta diferença não foi estatisticamente significativa. Da mesma forma, 11% dos pacientes que receberam OKT3 desenvolveram doença por CMV, comparado com 7,9% nos que não receberam anticorpos monoclonais (NS). No entanto, o papel da dose total de imunossupressão utilizada no desenvolvimento de infecção e doença citomegálica está bem estabelecido na literatura (HIBBERD et al., 1992). Anticorpos mono ou policlonais como ATG, ALG e OKT3, são potentes reativadores virais, sendo que a timoglobulina não só aumenta em 3 a 4 vezes a incidência de doença por CMV (AYLWARD et al., 1991, BRENNAN, et al., 1999) como também está associada a substancial aumento da mortalidade decorrente da infecção primária (RUBIN et al., 1985).

Quando receptores com sorologia positiva recebem terapia com anticorpos monoclonais para tratamento da rejeição, a taxa de doença por CMV aumenta para até 60% (TOLKOFF-RUBIN and RUBIN, 1998). Provavelmente a não demonstração desta associação no presente trabalho se deva ao tamanho da amostra estudada e principalmente o número reduzido de pacientes que receberam OKT3. Desta forma o estudo pode não ter apresentado poder suficiente para detectar uma associação existente e demonstrada na literatura.

Várias novas opções de imunossupressores e suas diferentes combinações, bem como o uso da profilaxia com agentes anti-virais têm modificado a incidência de infecção e doença por CMV. Por exemplo, a indução com anticorpos policlonais derivados de coelho (Thymoglobulin®, SangStat, USA) tem levado a resultados favoráveis, com episódios de rejeições menos freqüentes e menos graves, além de apresentar menos efeitos colaterais e menor incidência de doença citomegálica do que a observada com o uso de



anticorpos policlonais derivados de cavalo (Atgam®, Pharmacia-Upjohn, Kalamazoo, MI) (BRENNAN et al., 1999). Também é relatada a redução da incidência de infecção por CMV com uso de anticorpos monoclonais humanizados (Daclizumb®, Roche, Suíça) (HENGESTER et al., 1999). Porém estes dados foram recentemente contestados por RANDHAWA (2000) por não atingirem significância estatística e por não possuírem substrato teórico plausível, pois a relação da intensidade de imunossupressão e desenvolvimento de infecção ou doença por CMV está bem estabelecida. A observação que os pacientes com SIDA, que possuem comprometimento da imunidade celular, freqüentemente desenvolvem doença citomegálica demonstra o efeito adicional da imunossupressão sobre a reativação viral (DREW, 1988).

### **5.3.Sintomatologia**

No presente estudo o sintoma mais freqüentemente apresentado pelos pacientes que desenvolveram sinais de doença citomegálica foi a febre. Os órgãos mais comumente acometidos foram fígado, pulmão e intestino. A incidência de acometimento destes órgãos foi semelhante as referidas na literatura (SMITH et al., 1998; RAO et al., 2000). A pneumonia por CMV ocorreu em 5,5% do total de pacientes desta coorte, estando presente em 28,6% dos pacientes com doença citomegálica. Esta incidência é semelhante a relatada na literatura, pois os novos esquemas de imunossupressão têm reduzido a incidência de pneumonia por CMV de 14% para menos de 5% (SMITH, 1989; MURRAY et al., 1997; CAPULONG et al., 1998). Embora se descreva na literatura complicações gastrointestinais freqüentes (MULDON et al., 1996), nesta coorte, o sintoma gastrointestinal mais comum foi a diarreia, em 18% dos

pacientes com sintomas associados a infecção citomegálica. Além disso um paciente apresentou pancreatite grave, associada a pneumonia, evoluindo ao óbito.

#### **5.4. Rejeição e Citomegalovírus**

Neste estudo não houve associação entre a ocorrência de infecção ou doença por CMV e episódios de rejeição aguda. Do total de 24 pacientes com antigenemia positiva, 70% apresentaram algum episódio de rejeição, antes ou depois do surgimento da antigenemia, sendo que nos 48 pacientes com antigenemias negativas, o percentual de rejeição foi de 69%. Da mesma forma, a ocorrência de rejeição aguda foi de 66% nos pacientes que desenvolveram doença citomegálica e 69% dos pacientes sem doença. No entanto, é descrita na literatura a relação entre a infecção por CMV e rejeição do enxerto (POUTEIL-NOBLE et al., 1994), havendo relatos de infecção por CMV seguida de episódios de rejeição (SHAVER et al., 1999), outros em que a rejeição precedeu a soroconversão, a detecção do vírus ou os sintomas relacionados a doença (KASHYAP et al., 1999). Embora a seqüência exata dos eventos permaneça controversa, a maioria dos estudos sugere que a rejeição precede o episódio de infecção. O aumento da dose de imunossupressores durante os episódios de rejeição pode ser responsável pela ocorrência da infecção.

A infecção ativa por CMV é um processo inflamatório com decorrente aumento da produção de citocinas (WALDMAN e KNIGHT, 1996), sendo também desencadeado e acentuado por elas (KOSKINEM et al., 1994). Logo, a infecção por CMV é uma potencial fonte para lesão do enxerto (BOUEDJORO-CAMUS et al., 1999) sendo que vários mecanismos tem sido propostos para

justificar a maneira como esta infecção aumenta ou precipita a rejeição ou injúria do enxerto.

RICHARDSON et al.(1981), descreveram uma lesão glomerular específica relacionada a infecção por CMV, a qual tem sido observada com freqüência, porém não exclusivamente em pacientes com infecção ativa. Esta lesão glomerular se caracteriza por hipertrofia das células endotélias, necrose e obliteração da luz capilar, com material fibrilar entre as células. A disfunção do enxerto associada a esta glomerulopatia tem sido descrita como sendo mais difícil de ser revertida do que a rejeição celular (RUBIN, 1990). Porém, a existência de uma glomerulopatia associada ao CMV foi questionada por HERRERA et al. (1986), que não conseguiram demonstrar a presença de anticorpos anti-CMV pela IF ou de partículas virais pela MO, em pacientes com lesões glomerulares semelhantes aquelas descritas no relato original. No entanto, a ocorrência destes achados anatomopatológicos em alguns pacientes sem infecção por CMV sugere que a infecção viral seja apenas um, de vários fatores predisponentes ao desenvolvimento desta lesão. Ocasionalmente a disfunção do enxerto relacionada ao CMV parece ser devida a invasão do tecido renal pelo vírus, com inclusões citomegálicas demonstradas nas células do enxerto (KASHYAP et al., 1999; BIRK e CHAVRES, 1997). Recentemente, outras alterações glomerulares têm sido descritas em associação a infecção por CMV, como glomerulonefrite crescêntica (DETWILER et al., 1998) e microangiopatia trombótica (JEEJEEBHOY e ZALTZMAN, 1998), em pacientes transplantados renais.

Outros mecanismos que podem justificar a relação do CMV com rejeição, podem estar relacionados a observação de que o CMV aumenta a expressão dos antígenos de histocompatibilidade no epitélio tubular, tornando-o um alvo mais

atraente para a injúria imunológica mediada por células (VON WILLEBRAND et al., 1986; WALDMAN et al., 1993a; MANFRO et al., 1996). Também a infecção por CMV aumenta a expressão das moléculas de adesão (KOSKINEN, 1993), induz a produção de citocinas (KOSKINEN et al., 1994, LEMSTROM et al., 1994; WALDMANN and KNIGHT, 1996), e apresenta interações com o endotélio (GRATTAN et al., 1989; SEDMAK et al., 1990; WALDMANN et al., 1993b; LEMSTROM et al., 1995) sendo que estes mecanismos podem explicar como a infecção por CMV favorece ou desencadeia o processo de rejeição. Através da técnica da PCR no tecido renal, o genoma viral foi mais freqüentemente encontrado em rins transplantados com rejeição do que naqueles sem processo inflamatório, reforçando a hipótese que a infecção por CMV pode facilitar a rejeição ou ser promovida por ela (MARKOVIC-LIPKOVSKI et al., 1992).

Além destes mecanismos, o primeiro passo para a patogênese da infecção por CMV é a reativação viral, existindo três vias de transdução do sinal responsáveis pela sua reativação. O fator de necrose tumoral (TNF), depois que se liga ao receptor p55, ativa um processo de sinalização que envolve a ativação da proteína C quinase que resulta na replicação viral ativa (RUBIN, 2000). Os mediadores do estresse, norepinefrina e epinefrina, através da via dependente de AMP-C podem iniciar a replicação viral, e prostaglandinas pró-inflamatórias também desempenham papel semelhante (KOOIJMANS-COUTINHO et al., 1996). Uma vez que todos estes mecanismos ocorrem, em conjunto, durante o processo de rejeição, não é surpreendente que a rejeição resulte em reativação do CMV. Por outro lado, também tem sido sugerido que células T sensibilizadas pelos antígenos do CMV no rim ou em outros sítios, podem liberar interferon ou TNF, levando a injúria do parênquima que simula a rejeição aguda (KASHYAP et

al., 1999). Provavelmente o papel do aumento na dose de imunossupressores durante a rejeição seja o de permitir maior replicação dos vírus já reativados e não desencadeá-la (RUBIN, 2000). LOWANCE et al. (1999), conseguiram preencher os postulados de Koch para comprovar a bidirecionalidade da relação da infecção por CMV e a injúria do enxerto, através de estudo multicêntrico com uso de Valaciclovir versus placebo, onde foi reduzida a incidência de rejeição no grupo tratado para 26% comparado a 56% no grupo placebo. A infecção aguda por CMV tem sido associada com inflamação subendotelial (endotelite) das estruturas vasculares dos enxertos, provavelmente desempenhando papel na injúria imunológica, principalmente do endotélio, contribuindo para alterações vasculares crônicas e arteriosclerose (KOSKINEN et al., 1993). No entanto, o papel que a doença por CMV desempenha na patogênese da rejeição crônica parece estar associado à ocorrência de rejeição celular aguda, pois pacientes que não desenvolveram RCA e tiveram doença por CMV não apresentaram incidência aumentada de rejeição crônica quando comparado com aqueles sem RCA e sem CMV (HUMAR et al., 1999a). Porém, pacientes com doença por CMV têm maior risco de desenvolver rejeição aguda, no entanto esta correlação não foi encontrada nos pacientes que apresentaram somente infecção assintomática (TOUPANCE et al., 2000; BOUEDJORO-CAMUS et al., 1999), reforçando a hipótese que fatores comuns, que controlem a replicação viral e o processo inflamatório agudo, estão envolvidos na rejeição celular aguda. Desta forma, a infecção por CMV tem sido amplamente estudada e implicada como um fator na patogênese da lesão aguda e crônica do enxerto. Como no presente estudo, foram apenas 6 pacientes que desenvolveram doença citomegálica, constituindo o grupo que teria maior risco de desenvolver rejeição, talvez o tamanho da

amostra não tenha o poder de demonstrar estas correlações referidas na literatura.

### **5.5. Variáveis demográficas do doador e receptor**

A análise de variáveis relacionadas ao doador, como idade, sexo e tipo (vivo ou cadáver), bem como idade e sexo do receptor, não mostraram correlação com a ocorrência de infecção ou doença por CMV. Não houve diferença na incidência de infecção ou doença citomegálica entre os receptores de rins de doadores vivos ou cadáver nesta amostra (Tabela 16). Nos estudos que demonstram maior incidência de infecção e doença nos pacientes transplantados com rim de doador cadáver, esta diferença provavelmente está relacionada ao uso de imunossupressão em maior dose neste grupo, com a menor compatibilidade HLA, com uso de indução com anticorpos, e não ao tipo de doador especificamente (FARRUGIA and SCHWAB, 1992). O sexo e idade dos receptores não foram fatores de risco para o desenvolvimento de infecção ou doença por CMV. No entanto, crianças são descritas como grupo de maior risco, principalmente para o desenvolvimento de infecção primária, devido a baixa prevalência de anticorpos anti-CMV apresentada por esta população (RUBIN, 1990).

### **5.6 Sorologia do Doador e Receptor**

A prevalência de sorologia positiva para CMV na população em geral tem distribuição universal, aumentando progressivamente com a idade, principalmente nos países subdesenvolvidos (RAO et al., 2000; HIRATA et al., 1996). Os nossos resultados reforçam estes dados, pois a média de idade dos receptores e

doadores vivos com sorologia positiva foi significativamente mais alta que aqueles com sorologia negativa para CMV. Do total de transplantes realizados com doadores vivos, onde foi possível análise da sorologia do doador e receptor, 66,6% dos receptores apresentavam sorologia positiva para CMV antes do transplante, sendo que taxas semelhantes são relatadas na literatura (SCHNITZLER et al., 1997; SHACKLETON et al., 1991; HO, 1994). Nos USA, 80% dos receptores de origem asiática, transplantados naquele país, apresentavam sorologia positiva (HIRATA et al., 1996) e 100% dos receptores transplantados na China tinham sorologia positiva para CMV (YEYNG et al., 1998). Do total de transplantes inter-vivos neste estudo, 50% dos doadores apresentavam sorologia positiva, sendo esta taxa igual a de doadores de sangue com idade entre 1 e 65 anos, no oeste da Europa, onde 50% tem sorologia positiva para CMV, (VAN SON and THE, 1989), e semelhante a incidência observada nos doadores de rim nos Estados Unidos, onde cerca de 46% têm sorologia positiva. Estas diferenças, provavelmente refletem a maior prevalência desta infecção nos países em desenvolvimento como o Brasil e China.

No grupo de pacientes transplantados com rins de doadores vivos, podemos observar que em 31% (13/42) ambos apresentavam sorologia positiva, com anticorpos de classe IgG (D+R+) para CMV, e em 14% ( 6/42) a sorologia era negativa tanto no doador como no receptor (D-R-). O percentual da combinação deste grupo de doadores e receptores com sorologia negativa está abaixo daquele referido por SMILEY (et al., 1985), provavelmente devido ao maior percentual de doadores e receptores com sorologia positiva, em consequência da maior prevalência desta infecção em países em desenvolvimento como o nosso.

Nesta coorte, o desenvolvimento de antigenemia após o transplante foi significativamente mais freqüente nos pacientes que receberam rins de doadores com sorologia positiva do que naqueles que receberam rins de doadores com sorologia negativa, não havendo diferença da freqüência da infecção quanto a sorologia dos receptores. Vários estudos na literatura analisam o risco de infecção e doença citomegálica na população transplantada relacionado à sorologia do doador e receptor, mostrando diferentes impactos desta combinação, nos diferentes tipos de órgãos transplantados (PILLAY et al., 2000). Os transplantes realizados com doadores com sorologia positiva para CMV, resultam em menor sobrevida do enxerto do que aqueles realizados com doadores negativos (HIRATA et al., 1996) e menor sobrevida do paciente (SCHNITZLER et al., 1997), inclusive em transplantes de outros órgãos sólidos como pulmão, fígado e coração (ETTINGER et al., 1993).

No presente estudo, houve maior freqüência de infecção e de doença citomegálica nos receptores de doadores com sorologia positiva, sendo que todos os casos de doença por CMV aconteceram nos pacientes transplantados com doadores positivos, porém esta diferença não atingiu significância estatística. Da mesma forma, não houve impacto da sorologia do receptor na sobrevida do enxerto ou do paciente. Dados semelhantes são demonstrados em estudos anteriores, os quais não mostraram efeito da sorologia do doador ou do receptor na sobrevida do enxerto e ou do paciente (RANJAN, et al. 1991; JOHNSON et al. 1988). No entanto, LEWIS et al. (1988) também demonstraram que a infecção por CMV não teve impacto na sobrevida do paciente, porém a sobrevida atuarial do enxerto nos pacientes infectados foi significativamente menor do que naqueles sem infecção, mas somente nos transplantados com rins



de doadores cadáveres. Por outro lado, segundo SMILEY et al.(1985), entre os receptores de rins de doadores soropositivos, a imunidade prévia do receptor confere maior proteção contra a doença citomegálica, reduzindo sua incidência de 61% nos receptores com sorologia negativa para 24% nos com sorologia positiva. Naquele estudo, nos pacientes que receberam rins de doadores soronegativos, a imunidade prévia do receptor aumentou significativamente o risco de doença: receptores positivos tiveram 20% de incidência de doença e os receptores soronegativos (R-) 2%. No entanto, os receptores com sorologia positiva que receberam rins de doadores positivos tiveram menor número de complicações relacionadas e a doença geralmente foi mais leve do que nos receptores positivos que receberam rins de doadores negativos. No presente estudo, a sorologia do receptor não conferiu risco significativo para desenvolvimento de antigenemia, pois nos pacientes transplantados com de rins de doadores negativos, 16,7% e 13,3% dos receptores com sorologia negativa e positiva desenvolveram infecção, respectivamente. Dados semelhantes da literatura mostram que a incidência de doença citomegálica em receptores soropositivos, é similar, independente da sorologia do doador (SCHNITZLER et al., 1997; SMILEY et al., 1985). Nos casos de reativação, quando órgãos de doadores soronegativos são transplantados em receptores soropositivos, a doença, quando ocorre é leve, geralmente sem complicações graves. Em contraste, os pacientes com sorologia positiva que recebem rins de doadores positivos (D+R+) e que desenvolvem doença, apresentam uma freqüência maior de complicações graves (SMILEY et al., 1985). Portanto, embora a infecção secundária geralmente seja assintomática, quando ocorre doença citomegálica esta costuma ser mais severa em receptores de rins com sorologia positiva,

sugerindo que a reinfecção mais provavelmente cause doença, do que o faça a reativação viral. No presente trabalho, 75% dos casos de doença citomegálica grave ocorreram em receptores com sorologia negativa que receberam rins de doadores positivos, de acordo os dados disponíveis na literatura.

Entretanto, outros autores não tem reproduzido este impacto da sorologia do doador e receptor em relação a incidência de doença citomegálica. SHACKLETON et al.(1991), analisaram a incidência de doença por CMV em 3 grupos de pacientes com diferentes combinações da sorologia do doador e receptor. No primeiro a alocação do rim foi independente da sorologia do doador e receptor; no segundo, os doadores positivos foram transplantados em receptores positivos, e os doadores negativos em receptores positivos ou negativos; e no terceiro grupo, doadores positivos em receptores positivos e doadores negativos somente em receptores negativos. Neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa na incidência de doença citomegálica entre os grupos, sendo 8,3%, 5,8% e 8,7% nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. A incidência não foi reduzida pela alocação do doador baseada na sorologia para citomegalovírus. No entanto, naqueles pacientes que desenvolveram doença citomegálica houve um aumento significativo de perdas do enxerto por rejeição (SHACKLETON et al., 1991). Entretanto este estudo apresenta um incidência global baixa de doença citomegálica quando comparada a da literatura. Dados publicados por JOHNSON et al.(1988), mostram que apesar da doença por CMV ser mais freqüente no grupo de pacientes soronegativos que recebem enxertos soropositivos, não houve diferença significativa na severidade da doença nestes pacientes comparada com o grupo em que ambos eram positivos, tampouco ocorreram diferenças nas curvas de sobrevida de enxertos

ou de pacientes entre os grupos.

No presente trabalho, apesar dos receptores de doadores com sorologia positiva apresentarem menor sobrevida do enxerto (71,4%) do que os receptores de doadores negativos (85,7%), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, a exemplo do demonstrado na literatura. Em relação ao impacto da combinação da sorologia do doador e receptor na sobrevida do enxerto e do paciente, apesar de não haver diferenças estatisticamente significativa entre os grupos, os receptores negativos transplantados com rins de doadores positivos (D+R-) foram os que apresentaram pior sobrevida do enxerto (62,5%) e do paciente (87,5%), sendo que todos os óbitos ocorreram neste grupo.

Dados semelhantes da literatura, demonstram que transplantes realizados com doadores com sorologia positiva resultam em menor sobrevida do enxerto e do paciente, porém estes achados só foram válidos para transplantes com doadores cadáveres, sendo que entre os transplantes com doadores vivos, não foi detectado efeito da sorologia do doador nas curvas de sobrevida (TERASAKI et al., 1994). Isto também foi observado no nosso estudo, onde só foi possível analisar a sorologia nos transplantes com doadores vivos. Portanto, aqueles estudos que demonstram impacto da sorologia do doador nas curvas de sobrevida, o fazem em transplantes com doadores cadavéricos, não sendo comparáveis ao de pacientes do presente estudo.

Estudos mais recentes, reforçam o impacto da sorologia do doador nos transplantes de cadáver, através da análise de um grande número de pacientes, e conseguem demonstrar estas diferenças com significância estatística. SCHNITZLER (et al., 1997), revisaram os dados de 93% dos pacientes

transplantados renais dos Estados Unidos, e no período do estudo (1989 a 1994), foi avaliado o impacto da sorologia positiva para CMV na sobrevida do paciente e do enxerto em 24.543 primeiros transplantes com doador cadáver. As curvas de sobrevida do enxerto e do paciente foram significativamente melhores no grupo de pacientes com D-/R- e D-/R+, quando comparada a do grupo D+/R-. A combinação D+/R+ foi aquela em que os pacientes apresentaram a pior sobrevida do enxerto, porém não sendo estatisticamente significativa a diferença em relação ao grupo D+/R-. Entretanto, a sobrevida do paciente no grupo D+/R+ foi significativamente inferior do que no grupo D+/R-. O estudo mostra que a sorologia positiva para CMV no doador está associada a significativa redução da sobrevida do paciente e do enxerto, no entanto o efeito é similar em receptores com sorologia positiva ou negativa. Apesar deste impacto na sobrevida do enxerto e do paciente, o estudo faz uma análise multivariada, e mostra que uma política de distribuição dos órgãos que priorize a formação de pares D-/R-, produzirá um número considerável de D+/R-, os quais possuem a pior sobrevida. Por outro lado, uma política de distribuição que minimizasse D+/R-, não produziria pares D-/R-. As curvas estimadas de sobrevida com estas duas políticas são semelhantes, não justificando o uso uma estratégia de distribuição dos órgãos baseada na sorologia para CMV.(SCHNITZLER et al., 1997)

Apesar do estudo citado ter demonstrado que doador com sorologia negativa (D-) tem sobrevida significativamente melhor, independente da sorologia do receptor, e que os transplantes com doador com sorologia positiva (D+) apresentaram pior sobrevida do enxerto, não houve diferença significativa em relação a sorologia do receptor. A sobrevida do enxerto em 3 anos, nos pares R-D+ não foi diferente dos R+D+. Porém estes dados se referem a transplantes

com doadores cadáveres, e no presente trabalho a análise da combinação da sorologia do doador e receptor foi feita apenas nos transplantes com doadores vivos.

Entretanto, o conhecimento da sorologia do doador e receptor é fundamental no manejo do paciente transplantado, principalmente na escolha do tipo e dose de imunossupressão, instituição de monitorização freqüente para detecção viral, e de medidas terapêuticas específicas para CMV, como tratamento profilático ou *“preemptive”*. Além disto a combinação da sorologia do doador e receptor deveriam nortear a preocupação em relação a sorologia de sangue e derivados que o receptor possa necessitar. A maioria dos serviços de hemoterapia dos Estados Unidos e do Canadá, que fornecem sangue para centros de transplantes, não possuem uma política de transfusão que beneficie os pacientes transplantados renais com sorologia negativa para CMV, sendo que somente 40% destes serviços oferecem sangue e derivados negativos para CMV para estes receptores (R-). Em relação ao transplante de outros órgãos como coração, pulmão e fígado em crianças, esta política é praticada em 80% dos centros de hemoterapia naquele país (DANIELSON et al., 1996). No Brasil não existem dados de literatura sobre a política utilizada pelos centros de hemoterapia que fornecem material para os centros de transplante, porém no nosso meio, no centro onde estes transplantes foram realizados, não há política de transfusão quanto a sorologia para CMV em relação aos pacientes transplantados.

São necessários mais estudos para compreender completamente as conseqüências da infecção por CMV no transplante renal e impacto de cada combinação da sorologia do doador e receptor na evolução dos transplantes à

longo prazo. Esforços para responder a estas questões devem incluir análise do impacto financeiro da infecção e doença causadas pelo CMV em pacientes submetidos à transplante renal, estudo de características relacionadas ao doador e receptor que possam interagir com o vírus, e empenho em reduzir o impacto da doença citomegálica nos pacientes tratados. Avanços nestas áreas podem definir o impacto da combinação da sorologia do doador e receptor, e determinar o valor dos programas de distribuição de órgãos baseados na sorologia para CMV.

### **5.7. Sobrevida do enxerto e do paciente**

A sobrevida global do enxerto e dos pacientes nesta coorte, conforme o tipo de doador, foi semelhante à relatada na literatura. Nos doadores vivos e cadáveres, a sobrevida do enxerto no primeiro ano foi de 92,8% e 83,3 % respectivamente, e a sobrevida dos pacientes foi 92% para doadores vivos e 96,7% para doadores cadáveres. Estes resultados são comparáveis aos registrados noUSRDS (United States Renal Data System) onde a sobrevida do enxerto nos doadores vivos foi de 94%, e nos doadores cadavéricos 85%, para transplantes realizados em 1994. Da mesma forma, os dados relatados pelo UNOS (United Network for Organ Sharing), para transplantes com doadores cadáveres, mostram sobrevida do enxerto no primeiro ano de 87% e do paciente 94%, para o mesmo período.

No presente estudo, as médias das creatininas de cada ano de acompanhamento nos pacientes que desenvolveram infecção e doença citomegálica, não foram diferentes daquelas observadas nos pacientes com antigenemia negativa, sugerindo que a infecção ou a doença não apresentam impacto na função renal. Alguns estudos semelhantes, utilizando a técnica de

antigenemia, porém com tempo de acompanhamento de 6 meses, demonstraram que a média de creatinina foi maior somente nos pacientes que desenvolveram doença por CMV (SCHROEDER et al., 1999). No entanto, a maioria dos estudos analisam o impacto da infecção e/ou doença no transplante renal através da disfunção do enxerto, por lesão direta ou indução de rejeição, e redução da sobrevida do enxerto, com resultados heterogêneos (RANJAN et al., 1991; BESSE et al., 2000; CHOI et al., 1996; LEWIS et al., 1988). Estudos anteriores ao uso de anti-virais, em especial o Ganciclovir, demonstram o efeito adverso da doença por CMV nas sobrevidas do enxerto e do paciente (RUBIM et al., 1985; RUBIN, 1989 e 1990; HIRATA et al., 1996). Por outro lado, estudos da mesma época, já apresentam resultados diferentes, e não demonstraram diferenças nas curvas de sobrevida do enxerto e dos pacientes conforme a sorologia do doador ou receptor, sendo que somente os receptores com sorologia negativa (R-) que receberam rins de doadores com sorologia positiva (D+) apresentaram maior risco de desenvolver doença citomegálica, porém as curvas de sobrevida em 10 anos não mostraram diferenças estatisticamente significativas (RANJAN et al., 1991). Dados semelhantes, em estudos mais recentes, na era da terapia antiviral, têm relatado um impacto menor da infecção e doença citomegálica nas sobrevidas do enxerto e do paciente, provavelmente refletindo a eficácia desta terapia (TERAZAKI et al., 1994, SCHNITZLER et al., 1997; HUMAR et al., 1999).

Em relação às perdas de enxerto, os pacientes que desenvolveram doença citomegálica apresentaram perdas significativamente mais elevadas do que aqueles sem doença, segundo já demonstrado em outros estudos, onde o desenvolvimento de doença por CMV foi associado a pior sobrevida do enxerto e do paciente, independente da combinação da sorologia do doador e receptor.

(SCHACKLETON et al., 1991; RANJAN et al., 1991; LEWIS, et al., 1988), No entanto, no nosso trabalho, este impacto na sobrevida do enxerto e do paciente não foi demonstrado nos pacientes que apenas desenvolveram infecção assintomática. Da mesma, outros trabalhos demonstraram que apenas os pacientes que desenvolvem doença citomegálica apresentam pior sobrevida do enxerto e maior mortalidade do paciente. (FARRUGIA e SCHWAB, 1992; BIRKELAND et al., 1995).

LEWIS et al.(1988) também demonstraram que a infecção por CMV não teve impacto na sobrevida do paciente, porém a sobrevida do enxerto nos pacientes infectados foi significativamente menor do que naqueles sem infecção, mas somente nos transplantados com rins de doadores cadáveres. Da mesma forma, BESSE et al. (2000), estudaram 91 receptores com sorologia negativa que receberam rins de doadores com sorologia também negativa para CMV, com objetivo de avaliar o impacto da infecção primária como fator de risco para rejeição celular aguda e sobrevida do enxerto. No referido estudo, os pacientes que apresentaram soroconversão para CMV após o transplante, evoluíram com maior incidência de rejeição crônica e pior sobrevida do enxerto em comparação com aqueles que permaneceram com sorologia negativa, mostrando um impacto negativo da infecção por CMV na sobrevida do enxerto renal, não havendo diferença na sobrevida do paciente. Neste estudo a maioria do pacientes com infecção no pós-operatório recebeu transfusão sangüínea, sem critério quanto a sorologia para CMV do doador de sangue. O grupo de pacientes que soroconverteu apresentava maior reatividade ao painel de células e apresentou maior incidência de episódios de rejeição aguda, colaborando com a hipótese que o CMV cause aumento da expressão dos antígenos HLA classe I (VAN ES



et al., 1984; VON WILLEBRAND et al., 1986).

No nosso estudo a sobrevida do enxerto nos pacientes que receberam rins de doadores vivos foi significativamente melhor do que nos que receberam rins de doadores cadavéricos, como referido em toda literatura e com taxas semelhantes. (United States Renal Data System, 2000). Porém a sobrevida do enxerto quanto ao tipo de doador e infecção, não foi diferente entre os pacientes que desenvolveram ou não antigenemia, somente naqueles que desenvolveram doença citomegálica (Tabelas 6 e 7). No entanto, quando agrupados pelo desenvolvimento ou não de antigenemia no pós operatório e analisado o tipo de doador, nos pacientes que apresentaram antigenemia negativa, a sobrevida do rim de doador vivo foi significativamente melhor em relação ao doador cadáver, como observado no grupo em geral e na literatura (UNOS, 2000). Entretanto, nos pacientes com antigenemia positiva, não houve diferença estatisticamente significativa na sobrevida do enxerto dos receptores de rins de doadores vivos comparada aos que receberam rim de doador cadáver. Poderíamos então sugerir que o efeito negativo da infecção por CMV na sobrevida do enxerto, provavelmente foi maior no grupo de doadores vivos, e neutralizou a melhor sobrevida esperada do enxerto dos doadores vivos, tornando as duas curvas semelhantes.

## **5.8. Métodos diagnósticos**

Devido as conseqüências que a infecção e doença por CMV podem determinar nos pacientes transplantados renais, um método rápido, sensível, específico e exeqüível é necessário para identificar os pacientes com infecção ativa. O melhor teste diagnóstico deve fornecer um meio acurado de estabelecer

um diagnóstico precoce no curso da infecção ou doença, para permitir a instituição de terapêutica adequada. Os diferentes métodos de detecção atualmente disponíveis para identificação do CMV em sangue periférico apresentam técnicas diversas, exibem resultados variados entre os diferentes métodos, nos diferentes tipos de transplantes (BOECKH and BOIVIN, 1998; TONG et al., 1998; GAETA et al., 1997; MURRAY et al., 1997; BARRET-MUIR et al., 1998).

Até o fim dos anos 80, o isolamento do citomegalovírus a partir do sangue era considerado como marcador de infecção ativa, clinicamente significativa. No entanto, como o desenvolvimento do efeito citopático, característico da infecção por CMV em técnicas de cultura convencional, é prejudicado pela lenta replicação do vírus, este método de isolamento tem aplicação limitada na prática clínica (PERSONS et al., 1991; PILLAY et al., 1993; VAN DER BIJ et al., 1988).

Desde que foi inicialmente descrita por VAN DER BIJ (et al., 1988), a antigenemia tem sido amplamente estudada na literatura, com diferentes resultados de sensibilidade e especificidade relatados, dependendo principalmente do padrão ouro utilizado, fonte do anticorpo usado, método de preparo da amostra e intervalo de tempo entre a coleta do material e a realização do exame. A técnica de antigenemia, por ser de fácil execução, não requerendo equipamentos sofisticados, com resultado obtido no mesmo dia e por apresentar boa correlação com o desenvolvimento de doença pelo CMV (BLOK et al., 1998), tem se tornado uma ferramenta amplamente utilizada pelos serviços de transplante em todo o mundo, para o diagnóstico da infecção e doença citomegálica (BEIN et al., 1991; LE GOFF et al., 1995; WIE et al., 1996; TONG et al., 1998; REINA et al., 2000; LUCHSINGER et al., 1999; MURRAY et al.,

1997).

No nosso estudo a sensibilidade da antigenemia para detectar os pacientes que desenvolveram doença citomegálica foi de 100%, pois todos os pacientes que desenvolveram doença por CMV apresentaram antigenemia positiva. A especificidade observada foi de 72,2%, com valor preditivo positivo de 25% e valor preditivo negativo de 100%. Resultados semelhantes foram relatados por VAN DEN BERG (et al., 1989), onde a sensibilidade e especificidade da antigenemia foram de 89% e 93% respectivamente, em receptores de transplante renal com infecção ativa, e sensibilidade de 100% nos pacientes que desenvolveram doença. Da mesma forma, THE et al., 1990 e MURRAY et al., 1997, demonstraram 100% de sensibilidade da antigenemia em detectar pacientes que desenvolverão sintomas.

No presente trabalho, houve correlação do número de células positivas com o desenvolvimento de doença citomegálica, pois o número de células positivas foi significativamente maior naqueles pacientes que desenvolveram doença citomegálica do que naqueles que apresentaram apenas antigenemia positiva e não desenvolveram doença. O número de células positivas entre os pacientes com doença variou entre 9 e 138 células/50.000. Estes achados são amplamente referendados na literatura, sendo que quanto maior número de células positivas, maior o risco de doença citomegálica e mais graves os sintomas apresentados (GAETA et al., 1997; GERNA et al., 1992a; GOOSSENS et al., 2000; REINA et al., 2000). Estudos consistentemente demonstram que pacientes com doença citomegálica tem maior carga viral sistêmica do que os pacientes assintomáticos, demonstrada por vários métodos, como antigenemia, cultura viral ou PCR (THE et al., 1990; FREYMUTH et al., 1994; WEINBERG et

al., 2000). No entanto, o valor numérico reportado para células positivas para antigenemia ou de cópias de DNA nos vários estudos, por vezes diferem substancialmente, mesmo quando as populações analisadas são semelhantes (BOECKH and BOIVIN, 1998). Estas diferenças não permitem estabelecer um ponto de corte definitivo para o diagnóstico de doença por CMV. As variações podem ser devidas a diferentes técnicas dos testes utilizados (PCR, cultura ou antigenemia), método de quantificação, definição de doença por CMV, e esquema de imunossupressão (BOECKH and BOIVIN, 1998)

Considerando somente o teste de antigenemia, o número de células positivas a partir do qual aumenta a probabilidade de doença por CMV varia amplamente na literatura, podendo esta variação ser devida a diferentes fontes do anticorpo monoclonal, diferentes técnicas de preparo das amostras e variação no intervalo entre a coleta e o processamento (TONG et al., 1998; BOECKH and BOIVIN, 1998). Entretanto, MURRAY (et al., 1997) em uma coorte de 37 pacientes, demonstram que contagens superiores a 10 células / 50.000 estão correlacionadas com o desenvolvimento de sintomas relacionados à doença por CMV em 100% dos pacientes, e sugerem que este valor seja usado como ponto de corte para indicar doença.

Além dos benefícios já descritos (rapidez na execução, facilidade técnica, boa correlação clínica, boa sensibilidade e especificidade) a antigenemia costuma tornar-se positiva cerca de 7 dias antes do início dos sintomas enquanto que o desenvolvimento de anticorpos é observado em torno de 6 dias após o surgimento dos sintomas (MIDDELDORF et al., 1984; VAN DER GIESSEN et al., 1990; VAN DEN BER et al., 1989; RAO et al., 2000; THE et al., 1990; ERIKSON et al., 1996). Pela precocidade com que a antigenemia se torna positiva em

relação ao desenvolvimento de doença, ela pode ser usada para identificação destes pacientes em risco, para instituição de tratamento precoce, bem como aqueles com maior risco de recidiva da doença, conforme o número de células positivas (VAN DEN BER et al., 1993). O período pós-operatório em que a antigenemia foi positiva no nosso trabalho foi semelhante aquele referido na literatura, sendo que a maioria das amostras positivas ocorreram no primeiro mês após o transplante (MURRAY et al., 1997), geralmente 3 a 4 dias antes do início dos sintomas.

Outra aplicação da antigenemia no manejo do paciente transplantado é a monitorização da resposta ao tratamento específico. Vários estudos mostram que o número de células positivas detectadas pela antigenemia decresce após a instituição do tratamento e se correlaciona com a resposta ao tratamento e recuperação clínica (MURRAY et al., 1997; GERNA et al., 1998;) No entanto alguns estudos têm demonstrado que a viremia se torna negativa antes que a antigenemia, (THE et al., 1992; REINA et al., 2000) e que o número de células positivas na antigenemia pode aumentar durante o tratamento apesar da resposta clínica (GERNA et al., 1998), sendo proposto que a viremia seja utilizada como método para controle da resposta ao tratamento. Porém, o consenso é que o acompanhamento dos pacientes deva ser feito até que ambos os testes estejam negativos (BOECK and BOIVIN, 1998; BOIVIN et al., 1997; REINA et al., 2000).

### **5.9. Antigenemia e outros métodos diagnósticos**

A comparação do desempenho da antigenemia e viremia foi analisado por VAN DER BIJ (et al.,1988), onde a sensibilidade da antigenemia foi superior a da

viremia, porém estudos posteriores (REINA et al., 1998) demonstraram igual sensibilidade destes métodos nos pacientes transplantados renais. No entanto, para o seguimento dos pacientes tratados com Ganciclovir, a viremia parece ser mais útil do que a antigenemia para controle da resposta, pois a viremia negativa antes da antigenemia, sendo que a persistência de antigenemia positiva com viremia negativa, deva ser considerada como resposta satisfatória, porém o paciente deve ser monitorado até que ambos os testes estejam negativos (REINA et al., 2000). No entanto, a aplicabilidade clínica da viremia é limitada pela relativa baixa sensibilidade, pela demora do resultado, pela complexidade técnica e pela rápida perda de viabilidade do material estocado (BOECKH and BOIVIN, 1998; MURRAY et al., 1997).

Apesar da amplificação do genoma viral pela PCR ser descrita como uma técnica altamente sensível, sendo na maioria dos relatos de 100% (LÖNING et al., 1992; PEIRIS et al., 1995) sua positividade não necessariamente se correlaciona com infecção ativa, devido a possível detecção de DNA de vírus latentes ou de genoma viral incompleto (THE et al., 1992; MURRAY et al., 1997). LARSSON et al.(1998), através da PCR, detectaram o DNA do CMV em leucócitos do sangue periférico em 100% dos indivíduos doadores de sangue, com IgG positivo para CMV, e em 55% dos indivíduos com sorologia negativa. Portanto, embora a PCR qualitativa tenha alta sensibilidade em detectar DNA viral, possui utilidade clínica limitada, principalmente em áreas endêmicas (RAO et al., 2000), pois a sua positividade como critério para iniciar tratamento para infecção por CMV determina o tratamento de muitos pacientes que não desenvolveriam doença citomegálica, aumentando significativamente os custos (BRENNAN et al., 1997a). No entanto, a especificidade relatada da PCR é de

60% e o valor preditivo negativo de 100%, sendo que o resultado negativo exclui doença por CMV com confiança (PEIRIS et al., 1995; ABECASSIS et al., 1997). Para diminuir os resultados positivos da PCR não relacionados à infecção ativa, leucócitos purificados (polimorfonucleares) devem ser utilizados para realização da PCR qualitativa (SCHÄFER et al., 1998a). A quantificação do número de cópias de DNA viral tem sido usada para melhorar a correlação dos resultados da PCR com o desenvolvimento de doença viral (FOX et al., 1995), sendo que o valor de 1.000 cópias/100.000 leucócitos tem sido descrito como altamente indicativo de desenvolvimento de sintomas da doença (KÜHN et al., 1994; ROBERTS et al., 1998). Outros autores demonstram que pontos de corte mais elevados (>40.000 cópias/ml), aumentam significativamente a especificidade do método, melhorando o valor preditivo positivo, porém reduzindo a sensibilidade (TONG et al., 2000a). Por outro lado, pontos de cortes mais baixos (>1.000 cópias /ml) melhoram a sensibilidade, sendo utilizados apenas para excluir a doença (CALIENDO et al., 2000).

FREYMUTH et al. (1994) compararam a técnica de PCR e antigenemia e demonstraram correlação dos resultados em 98% dos casos. Dados semelhantes mostram que PCR e antigenemia são altamente específicos (100%) para detectar infecção viral, no entanto a PCR apresenta superior sensibilidade (BLOK et al., 1998), porém com baixa correlação com desenvolvimento de sintomas, sendo que a antigenemia foi o teste que se tornou positivo mais precocemente (ERIKSON et al., 1996). Alguns trabalhos utilizam a técnica de PCR com “*primers*” desenvolvidos no próprio laboratório da instituição que conduz a pesquisa (ROBERTS et al., 1997; NITSCHKE et al., 2000), não havendo uma padronização do método, o que dificulta a comparação dos

resultados dos testes realizados em diferentes instituições, e não permite conclusões quanto a utilidade clínica da PCR quantitativa nestas condições. O valor da PCR padronizada, disponível comercialmente, tem sido demonstrado em vários trabalhos e permite uma melhor comparação dos dados (KÜHN et al., 1994; ABECASSIS et al., 1997; TONG et al., 1998; CALIENDO et al., 2000). Estudos com PCR utilizando plasma mostram melhor correlação com os resultados de antigenemia do que aqueles que usam leucócitos ou sangue total, e conseqüentemente, com melhor associação com o desenvolvimento de sintomas de doença por CMV (WIRGART et al., 1996; HAMPRECHT et al., 1998; TONG et al., 1998; CALIENDO et al., 2000).

A PCR qualitativa pode comprovar a disseminação do CMV, mas não tem a simplicidade técnica e de equipamento, que a antigenemia oferece (THE et al., 1992). Por outro lado, são descritas algumas vantagens da PCR. São necessários 200 µl de plasma para a PCR, comparados a 3-5 ml de sangue total utilizados na antigenemia, e como a PCR é realizada no plasma, não é necessário um volume de material maior nos pacientes com leucopenia grave. Além disto, o DNA viral permanece estável por até 5 dias quando material é armazenado a 4°C, o que não acontece com a antigenemia, onde o material deve ser processado no mesmo dia e o armazenamento está associado a diminuição da sensibilidade do método (SCHÄFER et al., 1997).

Considerando-se os transplantes de órgãos sólidos, os resultados dos métodos diagnósticos relatados variam nos diferentes órgãos. No transplante pulmonar, a comparação da antigenemia, com cultura rápida de sangue e PRC (qualitativa e quantitativa), mostrou igual especificidade nos diferentes métodos, porém a PCR apresentou a maior sensibilidade (79%), superior a antigenemia



(48%) e a cultura (8%) sugerindo uma melhor performance da PCR nesta população (WEINBERG et al., 2000). Entretanto, estudos anteriores mostraram melhor desempenho da antigenemia no transplante pulmonar, com sensibilidade de 100% e especificidade de 93% (EGAN et al., 1995). Porém estes estudos apresentam diferenças importantes, principalmente no manejo do tratamento para CMV (profilaxia intensa em todos os casos no primeiro estudo, e nenhuma profilaxia no segundo), que podem justificar as diferentes taxas de sensibilidade encontradas para o teste de antigenemia na população de transplante pulmonar.

A citometria de fluxo tem sido usada na detecção de infecções virais, analisando um grande número de células especificamente marcadas, quantificando precisamente o número de células positivas. A citometria de fluxo e a antigenemia tem apresentado acurácia semelhante para detectar células infectadas no sangue periférico (BOSSART et al., 1997), com similar correlação com sintomas clínicos, mesmo em antigenemias com contagens inferiores a 5 células  $\times 10^4$  (ESSA, et al., 2000). Estudos recentes utilizam a citometria de fluxo para detectar células T citotóxicas, específicas contra o CMV, através de tetrâmeros do MHC (que são complexos entre moléculas HLA classe I ou II e peptídeos antigênicos conjugados a fluorocromos) para determinar a resposta imunológica anti viral específica em cada paciente, demonstrando que a presença destes tetrâmeros indicam recuperação clínica (ENGSTRAND et al., 2000).

A citometria de fluxo tem a vantagem de analisar um grande número de células em um curto intervalo de tempo, no entanto, necessita de equipamento de alta tecnologia, com alto custo, atualmente restrito a poucos laboratórios no nosso meio.

Apesar do novos métodos de detecção do CMV em sangue periférico com resultados promissores, como a PCR quantitativa e a citometria de fluxo, a detecção da antigenemia permanece sendo uma valiosa ferramenta para o diagnóstico precoce e preciso da infecção e doença por citomegalovírus, pois é de fácil realização, não necessitando de equipamentos dispendiosos, apresentando elevada correlação com o desenvolvimento de doença por CMV, mostrando resultados superiores quando comparada aos métodos de PCR qualitativa e cultura, sendo ainda considerada o melhor método para monitorar a infecção por CMV após o transplante renal (TANABLE et al., 1997). Atualmente estão disponíveis no mercado vários “kits” comerciais para a realização da antigenemia, com acurácia semelhantes, e que permitem a realização desta técnica na maioria dos laboratórios (GEORGE et al., 2000).

#### **5.10. Prevenção e tratamento da infecção por CMV**

Prevenção e tratamento da doença citomegálica são possíveis atualmente. Apesar da segurança (PESCOVITZ et al., 1998), tolerabilidade (FILLER et al., 1998), eficácia do tratamento com Ganciclovir (KONING et al., 1992; BOIVIN et al., 1997; NOBEL e FAULDS, 1998), com o conseqüente menor impacto da infecção e doença na sobrevivência de enxertos e pacientes com o uso de anti-virais (YANG et al., 1998), a identificação precoce e acurada dos pacientes em maior risco de desenvolver doença, permite a instituição de terapia adequada, o que pode reduzir a morbi-mortalidade associada ao citomegalovírus (SNYDMAN et al., 1993).

Embora inicialmente o uso do Ganciclovir, para o manejo da doença por CMV, tenha sido baseado em estudos não controlados, atualmente este é o

tratamento padronizado para os pacientes que desenvolvem a doença (FARRUGIA e SCHWAB, 1992, SNYDMAN, 1990). A dose preconizada é de 5mg/kg/ a cada 12 horas, por 2 semanas para pacientes com função renal normal (STUART e NOBLE, 1998). Recomenda-se o ajuste da dose conforme a função renal (SAYEGH et al., 2000), no entanto, existem evidências que sugerem que doses reduzidas aumentam a probabilidade de recorrência da doença (KLETZMAYR et al., 1996; HUMAR et al., 1999b). O efeito colateral mais comum é a mielotoxicidade com o desenvolvimento de leucopenia, que usualmente é reversível com a redução ou suspensão da droga, mas outros efeitos são descritos como elevação da creatinina sérica e alterações do sistema nervoso central, com surgimento de alucinações e coma (SNYDMAN et al., 1993).

Estudos analisam o uso do Ganciclovir nos pacientes com infecção por CMV com diferentes estratégias, de forma deferida ou *“preemptive”*, comparando seus resultados. No tratamento *“preemptive”*, os anti-virais são iniciados assim que houver detecção de viremia, independente a presença de sintomas relacionados (BRENNAN et al., 1996; HEBART et al., 1998). No entanto este conceito não tem sido igualmente empregado na literatura, havendo autores que utilizam o termo *“preemptive”* para o uso de Ganciclovir em pacientes que receberam anticorpos monoclonais, portanto com alto risco de desenvolver doença por CMV, mas independente da detecção viral (CONTI et al., 1995; TURGEON et al., 1998; HIBBERD et al., 1995b). Alguns autores (BRENNAN et al., 1996; PILLAY, 2000), argumentam que o termo *“preemptive”* deva ser reservado para os pacientes com evidência de infecção ativa pelo CMV, baseada em resultados laboratoriais de alto valor preditivo, porém assintomática. Por outro lado HIBBERD et al.(1995) defendem o uso do termo *“preemptive”* para

pacientes de alto risco para desenvolver doença por CMV (por exemplo com o uso de preparações de anticorpos anti-lifocitários), para diferenciar do uso profilático geral em todos os pacientes. Nesta estratégia de tratamento “*preemptive*”, em pacientes que receberam anticorpos, vários autores demonstram eficácia do tratamento em reduzir a incidência de doença por CMV (HIBBEERD et al., 1995; PILLAY, 2000) e também em diminuir o número de episódios de rejeição aguda no grupo tratado (CONTI et al., 1995). Embora os resultados do tratamento “*preemptive*” nos pacientes que recebem anticorpos sejam encorajadores, é necessária a monitorização criteriosa das cepas virais para assegurar que esta estratégia não induz o desenvolvimento de vírus resistentes ao Ganciclovir (JASSAL et al., 1998). No tratamento deferido, o Ganciclovir é utilizado somente quando há viremia associada a sintomas de doença citomegálica. BRENNAN et al., (1997c) demonstraram que as duas estratégias de tratamento são igualmente efetivas no controle da infecção e doença por CMV após o transplante, porém o tratamento deferido possui uma melhor relação custo-benefício do que o tratamento “*preemptive*”, pois trata somente os pacientes com doença. A análise da efetividade do tratamento deferido baseado em monitorização semanal para detecção viral em um grupo prospectivo, comparado a um grupo controle histórico onde o tratamento foi baseado na suspeita clínica, não mostrou benefício do tratamento deferido (WAISER et al., 1998). No entanto estes estudos apresentam diferenças importantes que podem justificar os resultados conflitantes, como a incidência de doença por CMV que foi bem menor no segundo estudo (5% versus 42%) e o método de detecção viral.

O uso da antigenemia para detectar os pacientes com infecção ativa e instituição de tratamento “*preemptive*” no transplante renal, tem sido

recentemente relatado na literatura. Estes estudos, embora não controlados, mostram uma baixa incidência de doença por CMV na população tratada (menor que 3%), sugerindo que quando a infecção ativa é diagnosticada e os pacientes são tratados precocemente, o vírus é eliminado com 3 semanas de tratamento com Ganciclovir, o que diminui a incidência de doença por CMV (GOTTI et al., 1996; CHIARAMONTE et al., 2000). Outros estudos semelhantes, utilizando a antigenemia para instituição de tratamento “*preemptive*” em transplantes hepáticos (KUSNE et al., 1999; GROSSI et al., 1996) e de medula óssea (MANTEIGA et al., 1998), mostram que o tratamento precoce destes pacientes com infecção ativa diminui a progressão para doença citomegálica, e evita o tratamento profilático de todos os pacientes, com melhor relação custo-benefício.

Vários estudos analisam a profilaxia da infecção e doença por CMV (LEGENDRE e THERVET, 2000) com uso de imunoglobulina (SNYDMAN et al., 1987; GLOWACKI et al., 1994), Aciclovir (BALFOUR et al., 1989; BIERKELAND et al., 1995; DAVIS, 1990; BERTONI et al., 1998; MEYERS ET AL., 1988; KLETZMAYR et al., 1996) ou Ganciclovir (RONDEAU et al., 1993; GOODRICH et al., 1993; FILLER et al., 1998; LASKE et al., 1991; BRENNAN et al., 1997c), com resultados conflitantes. A profilaxia com Ganciclovir endovenoso ou via oral foi significativamente benéfica em alguns estudos controlados em reduzir a incidência de infecção e doença por CMV em pacientes portadores de transplantes renais (HIBBERD et al., 1995b, CONTI et al., 1995. BRENNAN et al., 1997c, ASHAN et al., 1997). Na maioria dos estudos, os pacientes que receberam profilaxia foram também tratados com anticorpos monoclonais, ou eram receptores com sorologia negativa que receberam rins de doadores com sorologia positiva para CMV, constituindo assim, grupos de maior risco para

infecção e doença por CMV. Outros estudos não conseguiram reproduzir estes benefícios nos grupos de maior risco (RONDEAU et al., 1993; KLETZMAYR et al., 1996), bem como em pacientes submetidos a imunossupressão sem uso de anticorpos monoclonais (LEE et al., 1996). Não existem, até o presente, estudos que consigam demonstrar o benefício do uso profilático de Ganciclovir, seja por via oral ou intravenosa, ou do Acyclovir em pacientes transplantados renais que utilizam imunossupressão convencional, aqui definida por Prednisona, Azatioprina e Ciclosporina, e que não constituem grupo de risco aumentado, mais especificamente doadores com sorologia positiva e receptores com sorologia negativa. Entretanto, em pacientes transplantados que receberam imunossupressão convencional, o uso profilático de anti-virais tem mostrado efeitos benéficos em estudos randomizados e controlados, em pacientes receptores de transplante hepático, cardíaco ou de medula óssea, nos quais a prevalência de infecção e doença por CMV é maior (WINSTON et al., 1993 e 1995; MacDONALD et al., 1995). Por estas evidências, é possível que este efeito seja semelhante no transplante renal, porém com menor magnitude (JASSAL et al., 1998). Um estudo de meta-análise conduzido por COUCHOUD et al. (1998) demonstrou que o tratamento profilático com agentes anti-virais (Acyclovir ou Ganciclovir) é efetivo em reduzir a incidência de infecção citomegálica com uma redução de 30% no risco relativo e de doença por CMV com redução de 50% neste mesmo risco em pacientes que recebam transplantes de órgãos sólidos. A revisão do mesmo autor para a "Cochrane Library, Oxford-2000", conclui que existe um benefício clinicamente significativo do uso de anti-virais em prevenir infecção e doença por CMV. (COUCHOUD, 2000). No entanto, é importante considerar que em relação ao transplante renal, dos sete trabalhos que

preencheram os critérios de inclusão, 3 foram realizados com pacientes soronegativos que receberam órgãos de doadores soropositivos, representando um grupo de maior risco. Apenas 2 trabalhos incluíram todos os pacientes transplantados, independente da sorologia dos doadores e receptores e do tipo de imunossupressão (BALFOUR et al., 1989; AHSAN et al., 1996). Apesar disto, os resultados finais desta meta-análise e o “Relatório da British Society for Antimicrobial Chemotherapy” orientam o uso de profilaxia com anti-virais em transplantes de órgãos sólidos, a qual deve ser considerada não somente nos grupos de maior risco (PILLAY, 2000). No entanto, ambas revisões não conseguiram demonstrar benefício da profilaxia com anti-virais em diminuir a taxa de perda de enxertos, de episódios de rejeição celular aguda, e de óbitos nos grupos profilaticamente tratados. Os trabalhos que analisam o custo da profilaxia da infecção por CMV demonstram benefício desta estratégia, principalmente em pacientes de alto risco, onde o desenvolvimento de doença significa maior tempo de internação, maiores custos com medicação, maior risco de rejeição do enxerto, com maior custo total do transplante ( TSEVAT et al., 1991;HIBBERD et al., 1995b; WRIGHT e BANOWSKY, 1998).

Atualmente tem sido utilizado um outro anti-viral, o Valaciclovir, derivado do Acyclovir e rotineiramente utilizado para tratar infecções por herpes simples e varicela zoster, e que apresenta melhor biodisponibilidade oral, facilitando sua posologia (HIMMELMANN-JUD et al., 1998; ORMROD et al., 2000). Um estudo randomizado e controlado, analisando o uso profilático do Valaciclovir versus placebo por 90 dias, em 208 pacientes transplantados renais, mostrou redução da incidência de doença por CMV e também conseguiu reduzir o risco de rejeição aguda nos receptores com sorologia negativa que receberam rins de

doadores com sorologia positiva (LOWANCE et al., 2000). A eficácia de novas drogas constituem uma alternativa para a profilaxia e manejo da infecção por CMV em relação ao Ganciclovir, permitindo que possivelmente este seja reservado para o tratamento da doença citomegálica, evitando a emergência de cepas virais resistentes.

No presente estudo nenhum paciente recebeu profilaxia, nem tratamento “*preemptive*” conforme anteriormente definido. Somente os seis pacientes que desenvolveram doença citomegálica foram tratados com Ganciclovir, por via endovenosa, na dose de 10mg/kg/dia, por 3 semanas. Destes, houve resolução da doença em 83% (5/6).

Várias questões importantes ainda permanecem sem respostas. Primeiro, poderemos melhorar a sobrevida do enxerto e do paciente através do controle da doença por CMV em todos os pacientes, ou somente naqueles com maior risco de desenvolver doença? Segundo, para onde o controle da infecção por CMV deve ser direcionado: através do tratamento de infecção assintomática (“*preemptive*”), apenas infecção sintomática (deferido), nos grupos de maior risco, ou ainda em todos os pacientes (profilático)? Terceiro, qual o papel da antigenemia e PCR em detectar precocemente a infecção ativa através da monitorização freqüente, principalmente nos pacientes de alto risco para desenvolver doença por CMV? Quarto, o tratamento da infecção ativa, quando já existe replicação viral, é capaz de evitar os efeitos deletérios associados com a doença citomegálica descritos na literatura, ou após a reativação viral e conseqüente ativação do sistema imune o desenvolvimento estes efeitos seria irreversível, independente do tratamento instituído? Quinto, qual a melhor droga para tratamento ou profilaxia (Acyclovir, Ganciclovir oral ou intravenoso,



Valaciclovir), e em que dose, considerando-se a relação custo-benefício e praticidade clínica? Finalmente, será a lesão por CMV única, ou existem outras viroses como herpes vírus (HHV6 e HHV7) que também podem causar ou contribuir para a injúria renal e que poderiam ser evitadas com a profilaxia anti-viral? (BRENNAN, 2000; TONG et al., 2000b).

É consenso na literatura que são necessários novos estudos, adequadamente delineados, que analisem o custo-benefício do uso profilático de anti-virais em todos os pacientes transplantados, comparado ao tratamento deferido e “*preemptive*” para demonstrar a efetividade da profilaxia da infecção e doença citomegálica na evolução do transplante a longo prazo. Isto é especialmente importante, principalmente nos dias atuais onde estão disponíveis drogas anti-virais efetivas no tratamento da doença citomegálica e métodos de detecção viral com elevada acurácia, como antigenemia e PCR, que permitem um diagnóstico preciso da infecção ativa, possibilitando a instituição de um tratamento precoce. Neste contexto, a antigenemia é uma ferramenta importante no manejo do paciente transplantado renal, pois como foi demonstrado, permite um diagnóstico rápido, preciso, facilmente exequível e precoce, antes do surgimento dos sintomas, e que sendo um método quantitativo com excelente correlação clínica, possui elevada acurácia em detectar os pacientes que desenvolverão doença citomegálica. Devido a estas características, a antigenemia ainda desempenha um importante papel no diagnóstico da infecção por CMV, e certamente continuará sendo amplamente utilizada no acompanhamento dos pacientes transplantados renais.



## 6. CONCLUSÕES

### 6.1. Quanto ao objetivo principal

- Neste estudo, a incidência de infecção e doença por citomegalovírus após o transplante renal foi de 33,3% e 8,4%, respectivamente.

### 6.2. Quanto aos objetivos secundários

- A doença citomegálica apresentou impacto negativo, a longo prazo, na sobrevida de enxertos e de pacientes.
- A antigenemia mostrou sensibilidade de 100% em detectar os pacientes que desenvolveram doença citomegálica, com especificidade de 75%, VPN de 100% e VPP de 25%, sendo uma ferramenta útil e elevada acurácia no diagnóstico da doença por CMV.
- Não houve correlação dos fatores de risco analisados, (dose de imunossupressão, o uso de anticorpos monoclonais, número de episódios de rejeição, sexo e idade do doador e receptor, tipo de doador) com o desenvolvimento de infecção e doença por CMV.
- Entre os transplantes realizados com doadores vivos, aqueles com sorologia positiva para CMV apresentaram maior risco para desenvolvimento de infecção por CMV, sendo que os pares R-/D+ apresentaram significativamente maior incidência de infecção e doença por CMV do que os pares R+/D-, porém não houve diferença nas curvas de sobrevida em 5 anos entre os diferentes grupos conforme a combinação da sorologia do doador e receptor.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABECASSIS, M.M.; KOFFRON, A. J.; KAPLAN, B.; BUCKINGHAM, M.; MULDOON, J.P.; CRIBBINS, A.J.; KAUFMAN, D.B.; FRYER, J.P.; STUART, J. and STUART, F.P. The role of PCR in the diagnosis and management of CMV in solid organ recipients. **Transplantation**, 63:275-279, Jan. 1997.
- AHSAN, N.; HOLMAN, M.J. and YANG, H. C. Efficacy of oral ganciclovir in prevention of cytomegalovirus infection in post-kidney transplant patients. **Clin Transplant**, 11:633-639, 1997.
- ALFORD, C.A.; STAGNO, S.; PASS, R.F. and BRITT, W. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. **Rev Infect Dis**, 12 (7 Suppl):S745-53, 1990.
- AVERY, R.K. The relationship between Cytomegalovirus and chronic allograft dysfunction. (CME) **Transplantation Clinical Management**, Medscape, v.7, 2000, available in:  
<http://www.medscape.com/medscape/transplantation/ClinicalMgmt/CM.v07/public/index-CM.v07.html>
- AYLWARD, P.A.; KARIM, M. A.; CHIU, A.; LANDSBERG, D.; SHCKELTON, C.R and KEOWN, P.A. The role of monoclonal antibody (OKT3), antilymphocyte globulins (ALG) and CMV serology as risk factors for development of cytomegalovirus (CMV) infection following renal transplantation (Abstract). **J Am Soc Nephrol**, .2.: 791, 1991.
- BALFOUR, H. D.; CHAGE, B. A.; STAPLETON, J. T.; SIMMONS, R. S. and FRYD, D.S. A randomized, placebo-controlled trial of oral acyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease in recipients of renal allografts. **N Engl J Med**, 320(21): 1381-1387,1989.
- BARRET-MUIR, W. Y.; AITKEN, C.; TEMPLETON, K.; RAFTERY, M.; KELSEY,

- S.M. and BREUER, J. Evaluation of the murex hybrid capture cytomegalovirus DNA assay versus plasma PCR and shell vial assay for diagnosis of human cytomegalovirus viremia in immuno-compromised patients. **J Clin Microbiol**, 36 : 2554-2556, 1998.
- BASÇIL, N.; ERDEM, Y.; YALÇIN, A.U.; HAYRAN, M.; HAZNEDAROGLU, I.C.; YASAVUL, Ü.; TURGAN, Ç. and ÇAGLAR, S. Evisceration of the eye in a renal transplant recipient with cytomegalovirus horioetinitis. **Am J Nephrol**, 16: 367-368, 1996.
- BEIK, A. I.; MORRIS, A.G. HIGGINS, R.M. and LAM, F. T. Serial flow cytometric analysis of T-cell surface markers can be useful in differential diagnosis of renal allograft dysfunction. **Clin Transplant**, 12: 24-29, 1998.
- BEIN, G.; BITSCH, A.; HOYER, J. and KIRCHNER, H. The detection of human cytomegalovirus immediate early antigen in peripheral blood leucocytes. **J Immunol Methods**, 137: 175-180, 1991.
- BERGE, I.J.M.TEM; WEVER, P.C.; RENTENAAR, R.J.; SPAENY, L.H.; SURACHNO, J.; WERTHEIM, P.M.E.; SCHELLEKENS, P.T.A. and HACK, C.E. Selective expansion of a peripheral blood CD8+ memory T cell subset expression both granzyme B and L-selectin during primary viral infection in renal allograft recipients. **Transplant Proc**, 30: 3975-3977, 1998.
- BERGE, I.J.M.TEM; WEVER, P.C.; WOLBINK, A.M.; SURACHNO, J.; WERTHEIN, P.M.E.; SPAENY, L.H.A. and HACK, C.E. Increased systemic levels of soluble granzymes A and B during primary cytomegalovirus infection after renal transplantation. **Transplant Proc**, 30: 3972-3974, 1998.
- BERTONI, E.; ROSATI, A.; ZANAZZI, M.; MOSCARELLI, L.; DI MARIA, L.; PIPERNO, R.; ORSI, A.; PARRI, F.; DEDOLA, G. and SALVADORI, M. Cytomegalovirus disease prophylaxis in renal transplantation by high dose oral acyclovir. **Transplant Proc**, 30: 2094, 1998.

- BESANÇON-WATELET, C; DE MARCH, A. K.; RENOULT, E.; KESSLER, M.; BENÉ, M.C.; FAURE, G.C. and SARDA, M.N.K. Early increase of peripheral B cell levels in kidney transplant recipients with CMV infection or reactivation. **Transplantation**,69:366-371, 2000.
- BESSE, T.; MALAISE, J.; DE MEYER, M.; MOURAD, M. and SQUIFFLET, J.P. Renal allograft outcome from cytomegalovirus seronegative donor into cytomegalovirus seronegative recipient: poor prognosis after seroconversion. **Transplant Proc**, 32:408-410, 2000.
- BIRK, P. E. and CHAVRES, B. M. Does cytomegalovirus cause glomerular injury in renal allograft recipients? **J Am Soc Nephrol**, 8:1801 –1807, 1997.
- BIRKELAND, S.; GAHRN-HANSEN, B.; ADERSEN, H.; ROHR, N.; LARSEN, K.E. and JORGENSEN, A. Cytomegalovirus prophylaxis in antibody-treated renal transplanted patients. **Transplant Proc**, 27:3473-3476, 1995.
- BITSCH, A.; KIRCHNER, H.; DENNIN, R.; HOYER, J.; FRICKE, L.; STEINHOFF, J.; SACK, K. and BEIN, G. The long persistence of CMV DNA in the blood of renal transplant patients after recovery from CMV infection. **Transplantation**, 56: 108-113, 1993.
- BLOK, M.J.; GOOSSENS, V.J.; VANHERLE, S.J.V.; TOP, B.; TACKEN, N.; MIDDELDORP, J.M.; CHRISTIAANS, M.H.L.; VAN HOOFF, J.P. and BRUGGEMAN, C.A. Diagnostic value of monitoring human cytomegalovirus late pp67 mRNA expression in renal-allograft recipients by nucleic acid sequence-based amplification. **J Clin Microbiol**, 36: 1341-1346, 1998.
- BLOOM, J.N.; PALESTINE, A.G. The diagnosis of cytomegalovirus retinitis. **Ann Int Med**, 109: 963-969 ,1988.
- BOECKH, M. and BOIVIN, G.. Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. **Clin Microbiol**, 3: 533-54, 1998.

- BOIVIN, G.; QUIRK, M.R.; KRINGSTAD, B. A.; GERMAIN, M. and JORDAN, C. Early effects of Ganciclovir Therapy on the Quality of Cytomegalovirus DNA in Leucocytes of Immunocompromised Patients. **Antimicrob Agents Chemother**, 41: 869-62, 1997.
- BOSCH, F. H.; HOITSMA, A.J.; JANSSEN, H.P.; VAN LOON, A.M. and KOENE, R.A.P. Cytomegalovirus infection and disease in renal transplant patients treated with ciclosporin : a prospective study. **Transplant Int**, 2: 92-95, 1989.
- BOSSART, W.; BIENZ, K. and WUNDERLI, W. Surveillance of cytomegalovirus after solid-organ transplantation: comparison of pp65 antigenemia assay with a quantitative DNA hybridization assay. **J Clin Microbiol**, 35: 3303-4, 1997.
- BOUEDJORO-CAMUS, M.C.; NOVELLA, J.L.; TOUPANCE, O.; WYNCKEL, A.; CARQUIN, J.; JOLLY, D. and CHANARD, J. Cytomegalovirus infection, a risk factor for acute graft rejection in renal transplant recipients. A case-contr
- BRENNAN, C.D.; STORCH, G. A.; LIPPMAN, B.J. Preemptive Ganciclovir therapy in renal transplantation. **Ann Intern Med**, 124: 693, 1996.
- BRENNAN, D. C.; GARLOCK, K.A.; LIPPMANN, B.J.; BULLER, R. S.; GAUDREULT-KEENER, M.; LOWELL, J. A.; MILLER, S. B.; SHENOY, S.; HOWARD, T.K. and STORCH, G. A. Polymerase chain reaction-triggered preemptive a deferred therapy to control cytomegalovirus-associated morbidity and costs in renal transplants patients. **Transplant Proc**, 29: 809-811, 1997a.
- BRENNAN, D. C.; GARLOCK, K.A.; LIPPMANN, B.J.; BULLER, R. S.; GAUDREULT-KEENER, M.; LOWELL, J. A.; MILLER, S. B.; SHENOY, S.; HOWARD, T.K. and STORCH, G. Control of cytomegalovirus associated morbidity in renal transplant recipients using intensive monitoring and either preemptive or deferred therapy. **J Am Soc Nephrol**, 8: 118-125, 1997b.
- BRENNAN, D.C.; GARLOCK., K.A.; SINGER, G.G.; SCHNITZLER, M.A.;

LIPPMANN, B.J.; BULLER, R.S.; GAUDREAU-KEENER, M.; LOWELL, J.A.; SHENOY, S.; HOWARD, T.K. and STORCH, G.A. Prophylactic oral ganciclovir compared with deferred therapy for control of cytomegalovirus in renal transplant recipients. **Transplantation**, 64:1843-1846, 1997c.

BRENNAN, D.C.; FLAVIN, K.; LOWELL, J. A.; HOWARD, T.K.; SHENOY, S.; BURGESS, S.; DOLAN, S.; KANO, J.M.; MAHON, M.; SCHNITZLER, M. A.; WOODWARD, R.; IRISH, W. and SINGER, G.G,. A randomized, double-blinded comparison of thymoglobulin versus atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. **Transplantation**, Baltimore, 67: 1011-1018, 1999.

BRENNAN, C.D. Dancing partners: Cytomegalovirus and allograft injury. XVIII International Congress of the Transplantation Society. [http://www.medscape.com/medscape/cno/2000/ICTS/Story.cfm?story\\_id=1593](http://www.medscape.com/medscape/cno/2000/ICTS/Story.cfm?story_id=1593), aug 27 – sept 1, 2000..

CALIENDO, A.M.; GEORGE, K.ST.; KAO, S.; ALLEGA, J.; TAN, B.; La FONTAINE, R.; BUI, L. and RINALDO, C. Comparison of quantitative Cytomegalovirus (CMV) PCR in plasma and CMV antigenemia assay: Clinical utility of the prototype AMPLICOR CMV MONITOR test in transplant recipients. **J Clin Microbiol** , 38: 2122-2127, 2000.

CAPULONG, M. G. T.; MENDOZA, M. and CHAVEZ, J.. Cytomegalovirus pneumonia in renal transplant patients. **Transplant Proc**, 30:3151-3153, 1998.

CARNEY, W. P., IACOVIELLO, Vi. and HIRSCH, M.S. Functional properties of T lymphocytes and their subsets in cytomegalovirus mononucleosis. **J Immunol**, 130: 390-3, 1983.

CHIARAMONTE, S.; PELLIZZER, G.; RASSU, M.; DISSEGNA, D.; BRAGANTIINI, L.; ZUCCAROTTO, D and LA GRECCA, G. Role of antigenemia assay in the early diagnosis and treatment of CMV infection in renal transplant patients. **Clin**



**Nephrol**, 54:10-2, 2000.

CHOI, S. J. N.; KIM, N. H.; CHO, C.K.; CHUNG, S.Y.; KIM,H.J.; CHOI, K. C. and KIM, S. K. Effects of cytomegalovirus infection on renal function in kidney transplant recipients. **Transplant Proc**, 28: 1523-1524, 1996.

CONTI, D. J.; FREED, B.M.; SINGH, T.P.; GALLICHIO, M.; GRUBER, S.A. and LEMPERT, N. Preemptive ganciclovir therapy in cytomegalovirus-seropositive renal transplants recipients. **Arch Surg**, Chicago, v. 130, p. 1217-1222, Nov., 1995.

COUCHOUD, C. Cytomegalovirus prophylaxis with antiviral agents for solid organ transplantation ( Cochrane Review). In: **The Cochrane Library**, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.

COUCHOUD, C.; CUCHERAT, M.; HAUGH, M. and POUTEIL NOBLE, C.. Cytomegalovirus prophylaxis with antiviral agents in solid organ transplantation: a meta-analysis. **Transplantation**, 65: 641-7, 1998.

DANIELSON, C.F.M.; FO;P, R. S.; O'DONNELL, J. A. and McCARTHY, L.J. Institutional variation in hemotherapy for solid organ transplantation. **Transfusion**,36:263-267, 1996.

DAVIS, C.L. The prevention of cytomegalovirus disease in renal transplantation. **Am J Kidney Dis**,16:175-88, 1990.

DÉCHANET, J.; MERVILLE, P.; BERGÉ, F.; BONE-MANE, G.; TAUPIN, J.; MICHEL, P.; JOLY, P.; BONNEVILLE, M.; POTAU, L. and MOREAU, J. Major expansion of  $\gamma\delta$  T lymphocytes following Cytomegalovirus infection in kidney allograft recipients. **J Infec Dis**, 179: 1-8, 1999.

DETWILER, R.K.; SINGH, H.K.; BOLIN, P. and JENNETE, J.C. Cytomegalovirus-induced necrotizing and crescentic glomerulonephritis in a renal transplant patient. **Am J Kidney Dis**, 32:820-824, 1998.

DRAGO, F.; ARAGONE, M. G.; LUGANI, C. and REBORA, A. Cytomegalovirus infection in normal and immunocompromised humans. A review. **Dermatol**, 200:189-195, 2000.

DREW, W, L. Cytomegalovirus infection in patients with AIDS. **J Infect Dis**, 158: 449-456, 1988.

EGAN, J.J.; BARBER, L.; LOMAS, J.; FOX, A.; YONAM, N.; RAHMAN, A. N.; CAMPBELL, C. S.; DEIRANIYA, A. K.; CARROLL, B.; CRASKE, J.; TURNER, A. and WOODCOCK, A. A. Detection of human cytomegalovirus antigenaemia: a rapid diagnostic technique for predicting cytomegalovirus infection/pneumonitis in lung and heart transplant recipients. **Thorax**, 50: 9-13, 1995.

ENGSTRAND, M.; TOURNAY, C.; PEYRAT, M. A.; ERIKSON, B.M.; WADSTRÖM, J.; WIRGART, B.Z.; ROMAGNE, F.; BONNEVILLE, M.; TÖTTERMAN, T. H. and KORSGREN, O. Characterization of CMV pp65-specific CD8+ T lymphocytes using MHC tetramers in kidney transplant patients and healthy participants. **Transplantation**, 69:2243-2250, 2000.

ERIKSON, B. M.; WIRGART, B. Z.; CLAEISSON, K.; TUFVESON, G.; MAGNUSSON, G.; TOTTERMAN, T. and GRILLNER, L. A prospective study of rapid methods of detecting cytomegalovirus in the blood of renal transplant recipients in relation to patient and graft survival. **Clin Transplant** , 10:494-502, 1996.

ESSA, S.; PACSA, A.; AL-ATTIYAH, R.; EL-SHAZLY, A.; RAGHUPATHY, R. and SAID, T. The use of flow cytometry for the detection of CMV-specific antigen (pp65) in leukocytes of kidney recipients. **Clin Transplant**, 14: 147-151, 2000.

ETTINGER, N. A.; BAILEY, T.C.; TRULOCK, E. P.; STORCH, G. A.; ANDERSON, D.; RAAB, S.; SPITZNAGEL, E.L.; DRESLER, C. and COOPER, J. D.

Cytomegalovirus infection and pneumonitis. **Am Rev Respir Dis**, 147: 1017-1023, 1993.

FAJAC, A .; VIDAUD, M.; LEBARGY, F.; STEPHAN, F.; RICCI, S.; GESLIN, P.; GOOSSENS, M. and DERNAUDIN, J. Evaluation of human cytomegalovirus latency in alveolar macrophages. **Am J Respir Crit Care Med**, 149:. 495-499, 1994.

FALAGAS, M. E.; ARBO, M.; RUTHZAER, R.; GRIFFITH, J.L.; WERNER, B.G.; ROHRER, R.; FREEMAN, R.; LEWIS, W. D. and SNYDMAN, D. R. Cytomegalovirus disease is associated with increased cost and hospital length of stay among orthotopic liver transplant recipients. **Transplantation**, 63: 1595-1601, 1997.

FARRUGIA, E. and SCHWAB T.R., Management and prevention of cytomegalovirus infection after renal transplantation. **Mayo Clin Proc**, 67:879, 1992.

FILLER, G.; LA MPE, D.; VON BREDOW, M. A.; SAPPENBERG-PELZER, M.; ROCHER, S.; STREHLAU,J. and EHRICH, J.H.H. Prophylactic oral ganciclovir after renal transplantation dosing and pharmacokinetics. **Pediatr Nephrol**, 12: 6-9, 1998.

FOX, J. C.; KIDD, I. M., GRIFFITHS, P. D.; SWENY, P. and EMERY, V.C. Longitudinal analysis of cytomegalovirus load in renal transplant recipients using a quantitative polymerase chain reaction: correlation with disease. **J Gen Virol**, 76: 309-19, 1995.

FREYMUTH, F.; GENNETAY, E.;PETITJEAN, J.; EUGENE, G.; LYGNY, B.H.;RYCKELYNCK, J.; LEGOFF, C.; HAZERA,P. and BAZIN, C. Comparison of nested PCR for detection of DNA in plasma with pp65 leukocytic antigenemia procedure for diagnosis of human cytomegalovirus infection. **J Clin Microbiol**, 32: 1614-1618, 1994.

GAETA, A.; NAZZARI, C.; ANGELETTI, S.; LAZZARINI, M.; MAZZEI, E. and MANCINI, C.. Monitoring for cytomegalovirus infection in organ transplant recipients: analysis of pp65 antigen, DNA and late mRNA in peripheral blood leukocytes. **J Med Virol**, 53:189-95, 1997.

GEORGE, K.ST.; BOYD, M. J.; LIPSON, S.M.; FERGUSON, D.; CARTMELL, G.F.; FALK, L.H.; RINALDO, C.R. and LANDRY, M.L. A Multisite Trial Comparing Two Cytomegalovirus (CMV) pp 65 Antigenemia Test Kits, Biotest CMV Brite and Bartels/Argene CMV Antigenemia. **J Clin Microbiol**, 38:1430-1433, 2000.

GERNA, G.; REVELLO, M. G.; PERCIVALLE, E. and MORINI, F. Comparison of different immunostaining techniques and monoclonal antibodies to the lower matrix phosphoprotein (pp65) for optimal quantitation of human cytomegalovirus infection. **J Clin Microbiol**, 30:1232-7, 1992.

GERNA, G.; ZIPETO, D.; PERCIVALLE, E.; PAREA, M.; REVELLO, M. G. ; MACARIO, R.; PERI, G. and MILANESE, G. Human cytomegalovirus infection of the major leukocyte subpopulations and evidence for initial viral replication in polymorphonuclear leukocytes from viremic patients. **J Infect Dis**, 166:1236-44, 1992.

GERNA, G.; ZAVATTONI, M.; PERCIVALLE, E.; GROSSI, P.; TORSELLINI, M. and REVELLO, M. G. Rising levels of human cytomegalovirus (HCMV) antigenemia during initial antiviral treatment of solid-organ transplant recipients with primary HCMV infection. **J Clin Microbiol**, 36:113-6, 1998.

GLENN, J.. Cytomegalovirus infections following renal transplantation. **Rev Infect Dis**, 3:1151-78, 1981.

GLOWACKI, L. S. and SMAILL, F. M. . Use of immune globulin to prevent symptomatic cytomegalovirus disease in transplant recipients : a meta-analysis.

**Clin Transplant**,8: 10-18, 1994.

GOODRICH, J.; BOWDEN, R. A.; FISHER, L.; KELLER, C.; SCHOCH, G. and MEYERS, J. D. Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogenic marrow transplant. **Ann Intern Med**, 118: 173-178, 1993.

GOOSSENS, V.J.; BLOK, M.J.; CHRISTIAANS, M.H.L.; SILLEKENS, P.; MIDDELDORP, J.M. and BRUGGEMAN, C.A. Early detection of cytomegalovirus in renal transplant recipients: comparison of PCR, NASBA, pp65 Antigenemia, and Viral culture. **Transplant Proc**. 32:155-158, 2000.

GOTTI, E.; SUTER, F.; BARUZZO, S. PERANI, V.; MOIOLI, F. and REMUZZI, G. Early ganciclovir therapy effectively controls viremia and avoids the need for cytomegalovirus (CMV) prophylaxis in renal transplant patients with cytomegalovirus antigenemia. **Clin Transplant**, 10: 550-5, 1996.

GRATTAN, M. T.; MORENO-CABRAL, C .E. and STARNES, V. A. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. **JAMA**, 261: 3561, 1989.

GROSSI, P.; KUSNE, S.; RINALDO, C.; ST GEORGE, K.; MAGNONE, M.; RAKELA, J. and STARZL, T.E. Guidance of ganciclovir therapy with pp65 antigenemia in cytomegalovirus-free recipients of livers from seropositive donors. **Transplantation**, 61:1659-60, 1996.

HAMPRECHT, K.; STEINMASSL, M.; EINSELE, H., and JAHN, G.. Discordant detection of human cytomegalovirus DNA from peripheral blood mononuclear cells, granulocytes and plasma: correlation to viremia and HCMV infection. **J Clin Virol**, 11: 125-136, 1998.

HEBART, H.; KANZ, L.; JAHN, G. and EINSELE, H.. Management of cytomegalovirus infection after solid-organ or stem-cell transplantation. Current guidelines and future prospects. **Drugs**, 55:59-72, 1998.

- HENGSTER, P.; PERCOVITZ, M.D.; HYATT, D. and MARGREITER, R. Cytomegalovirus infections after treatment with daclizumb, and anti IL-2 receptor antibody, for prevention or renal allograft rejection. Roche Study Group. **Transplantation**, 68:310-3, 1999.
- HERRERA, G A.; ALEXANDER, R.W. ; COOLEY, C.F.; LUKE, R. G.; KELLY, D. R.; CURTIS, J .J. and GOCKERMAN, J. P. Cytomegalovirus glomeruopathy: a controversial lesion. **Kidney Int**, 29:725,1986.
- HIBBERD, P. L. and RUBIN, R.H. Prevention of cytomegalovirus infection in the pediatric renal transplant recipient. **Pediatr Nephrol**, 5:112-117, 1991
- HIBBERD, P. L.; TOLKOFF-RUBIIN, N.E.; COSIMI, A. B.; SCHOOLEY, R.T.; ISAACSON, D.; DORAN, M.; DELVECCHIO, A.; DELMONICO, F. L.; AUCHINCLOSS, H. Jr. and RUBIN, R.H. Symptomatic cytomegalovirus disease in the cytomegalovirus antibody seropositive renal transplant recipient treated with OKT3. **Transplantation**, 54:68-72, 1992.
- HIBBERD, P. L.; SURMAN, O. S.; BASS, M.; TOLKOFF-RUBIN, N.E.; SOIMI, A. B.; DORAN, M.; DELVECCHIO, A.; ROSAL, M. and RUBIN, R. Psychiatric disease and cytomegalovirus viremia in renal transplant recipients. **Psychosomatics**, 36: 561-563, 1995a.
- HIBBERD, P.L.; TOLKOFF-RUBIN, N.E.; CONTI, D.; STUART, F.; THISTLETHWAITE, J.R.; NEYLAN, J.F.; SNYDMAN, D.R.; FREEMAN, R.; LORBER, M.I. and RUBIN, R.H. Preemptive ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus antibody-positive renal transplant recipients. A randomized controlled trial. **Ann Int Med**, 1:18-26, 1995b.
- HIMMELMANN-JUD, B.; WÜTHRICHM, R. P.; WEINREICH, Th. and BISNWANGER, U. Successful use of oral valacyclovir in post-transplant cytomegaloviurs infection in renal allograft recipients. **Nephrol Dial**

**Transplant**, 13:1326-27, 1998.

HIRATA, M.; TERASAKI, P. I. and CHO, Y. W. . Cytomegalovirus antibody status and renal transplantation : 1987-1994. **Transplantation**, 62: 34-37, 1998.

HO, M.. Advances in understanding cytomegalovirus infection after transplantation. **Transplant Proc**, 26: 7-11, 1994.

HUMAR, A.; GILLINGHAN, K.J.; PAYNE,W.D.; DUNN, D.L.; SUTHERLAND, D.E.R. and MATAS, A. Association between cytomegalovirus disease and chronic rejection in kidney transplantation recipients. **Transplantation**, 68: 1879-1883, 1999a.

HUMAR, A.; UKNIS, M.;CARLONE-JAMBOR, C.; GRUESSNER, R.W.; DUNN, D.L. and MATAS, A. Cytomegalovirus disease recurrence after Ganciclovir treatment in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. **Transplantation**, 67:94-97, 1999b.

IANHEZ, L. E. and SABBAGA, E. Infecção pós transplante renal. **Rev Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**. 34: 84-87, 1979.

IANHEZ, L. E.; SARTURI, P.S.; PAULA, F.J. and SABBAGA, E. Infecção por citomegalovírus pós transplante renal. **Rer. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**. 39: 47-53, 1984.

JACOBSON, M.A. and MILLS, J.. Cytomegalovirus infection. **Clin Chest Med**, 9: 443-448, 1988.

JASSAL, S. B.; ROSCOE, J.M.; ZALTZMAN, J. S.; MAZZULLI, T.; KRAJDEN, M.; GADAWSKI, M.; CATTRAN, D. C.; CARDELLA, C. J.; ALBERT, S. E. and COLE, E.H. Clinical practice guidelines: Prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. **J Am Soc Nephrol**, 9: 1697-1708, 1998.

JEEJEEBHOY, F. M. and ZALTZMAN, J. S. Thrombotic microangiopathy in association with cytomegalovirus infection in a renal transplant patient. **Transplantation**, 65: 1645-1647, 1998.

JEFFRIES, D. J. . The spectrum of cytomegalovirus infection and its management. **J Antimicrob Chemother**, 23: 1-16, 1989.

JOHNSON, P. C.; LEWIS, R. M.; GOLDEN, D. L.; OEFINGER, P. E.; VAN BUREN, C. T.; KERMAN, R. H. and KAHAN, B. D. The impact of cytomegalovirus infection on seronegative recipients of seropositive donor kidneys versus seropositive recipients treated with cyclosporine-prednisone immunosuppression. **Transplantation**, 45: 116-21, 1988.

KAHNG, K. W.; KANG, C. M. and KWAK, J. Y. . Detection of cytomegalovirus infection in renal transplant recipients in Korea. **Transplant Proc**, 28: 1507, 1996.

KAMISATO, D.; TSUBAKI, K. and ADACHI, Y. Autoimmune hepatitis after cytomegalovirus infection in a bone marrow-transplant patient (letter). **Am J Gastroenterol**, 92:1238-9, 1997.

KANO, Y. and SHIOHARA, T. Current understanding of cytomegalovirus infection in immunocompetent individuals. **J Dermatol Sci**, 22:196-201, 2000.

KAPASI, K. and RICE, G.P.A. Cytomegalovirus infection of peripheral blood mononuclear cells: effects on interleukin-1 and -2 production and responsiveness. **J. Virol.** 62, 3603, 1988.

KASHYAP, R.; SHAPIRO, R.; JORDAN, M. and RANDHAWA,S. The clinical significance of cytomegaloviral inclusions in the allograft kidney. **Transplantation**, 67: 98-103, 1999.

KLETZMAYR, J.; KOTZMANN, H.; POPOW-KRAUPP, T.; KOVARIK, J. and



- KLAUSER, R. Impact of high-dose oral acyclovir prophylaxis on cytomegalovirus (CMV) disease in CMV high-risk renal transplant patients. **J Am Soc Nephrol**, 7:325-330, 1996.
- KONING, J.; VAN DORP, W.T.; VAN ES, L. A.; VAN'T WOUT, J.W. and VAN DER WOUDE, F.J. Ganciclovir effectively treats cytomegalovirus disease after solid-organ transplantation, even during rejection treatment. **Nephrol Dial Transplant**, 7: 350-356, 1992.
- KOOIJMANS-COUTINHO, M. F.; HERMANS, J.; SCHRAMA, E.; DAHA, M.R.; BRUIJN, J. A. and VAN DER WOUDE, F.J. Interstitial rejection vascular rejection and diffuse thrombosis of renal allografts. **Transplantation**, 61: 1338-1344, 1996.
- KOSKINEN, P.K. The association of the induction of vascular cell adhesion molecule-1 with cytomegalovirus antigenemia in human heart allografts. **Transplantation**, 56:1103-1108, 1993.
- KOSKINEN, P.K.; LEMSTROM, K.; BRUGGEMAN, C.; LAUTENSCHLAGER, I. and HAYRT, P. Acute cytomegalovirus infections induces a subendothelial inflammation (endothelialitis) in the allograft vascular wall. A possible linkage with enhanced allograft arteriosclerosis. **Am J Pathol**, 144:41-50, 1994.
- KRAAT, Y. J.; STALS, F. S.; CHRISTIAANS, M.H.; LAZZAROTTO, T.; LANDINI, M.P. and BRUGGEMAN, C.A. IgM antibody detection of ppUL80a na ppUL32 by immunoblotting: An Early Parameter for Recurrent Cytomegalovirus Infection in Renal Transplant Recipients. **J Med Virol**, v: 289-294, 1996.
- KÜHN, J. E.; WENDLAND, T.; SCHAFFER, P.; MOHRING, K.; WIELAND, U.; ELGAS, M. and EGGERS, H. J. Monitoring of renal allograft recipients by quantitation of human cytomegalovirus genomes in peripheral blood leucocytes. **J Med Virol**, 44:398-405, 1994.

- KUMAR, M.S.A.; CRIDGE, P.; MOLAVI, A.; STEPHAN, R. and ABOUNA, G. M.  
Infectious complications in the first 100 days after renal transplantation.  
**Transplant Proc**, 27: 2705-2706, 1995.
- KUSNE, S.; GROSSI, P.; IRISH, W.; ST GERGE, K.; RINALDO, C.; RAKELA, J.  
and FUNG, J. Cytomegalovirus pp65 antigenemia monitoring as a guide for  
preemptive therapy: a cost effective strategy for prevention of cytomegalovirus  
disease in adult liver transplant recipients. **Transplantation**, 68: 1125-31, 1999.
- LARSSON, S.; SODERBERG-NAUCLER, C.; WANG, F.Z. and MOLLER, E.  
Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells  
from all seropositive and most seronegative healthy blood donors over time.  
**Transplantation**, 38: 271-8, 1998.
- LASKE, A. ; GALILINO, A.; MOHACSI, P.; BAUER, E.P.;CARREL, T.; VON  
SEGESSER, L.K. and TURINA, M. I.. Prophylactic treatment with ganciclovir for  
cytomegalovirus infection in hearth transplantation. **Transplant Proc**, 23:  
1170-1173, 1991.
- LE GOFF, C.; LIGNIY, B.H.; FREYMUTH, F.; HENRI, P.; LEVALTIER, B. and  
RYCKELYNCK . Détection quantitative de l'antigène pp65 cytomégalique intra-  
leucocytaire en transplantation rénale. **La Presse Médicale**, 24: 1731-1735,  
1995.
- LEE, P. C. ; HUNG, C. J.; SUNG, J.M.; CHANG, Y. T. and TSAI, M. T.  
Asymptomatic cytomegalovirus infection in renal transplants : treatment or no  
treatment. **Transplant Proc**.28: 1513-1515, 1996.
- LEGENDRE, C. and THERVET, E. Cytomegalovirus prophylaxis in solid organ  
transplant recipients: The issues. **Transplant Proc**, 32: 377-378, 2000.
- LEMSTROM, K.; BRUNING, J.H.; BRUGGEMAN, C.A.; KOSKINEN, P.K.; AHO,  
P. T.; YILMAZ, S.; LAUTENSCHLAGER, I T. and HAYRY, P.J.  
Cytomegalovirus infection-enhanced allograft arteriosclerosis is prevented by

DHPG prophylaxis in the rat. **Circulation**, 90: 1969-1978, 1994.

LEMSTROM, K.; KOSKINEM, P.; KROGERUS, L.; DAEMEN, M.; BRUGGEMAN, C. and HAYRY, P. Cytomegalovirus antigen expression, endothelial cell proliferation, and intimal thickening in rat cardiac allograft after cytomegalovirus infections. **Circulation**, 92: 2594-2604, 1995.

LEWIS, R.M.; JOHNSON, P.C.; GOLDEN, D.; VAN BUREN, C.T.; KERMAN, R.H. and KAHAN, B.D. The adverse impact of cytomegalovirus infection on clinical outcome in cyclosporine-prednisolone treated renal allograft recipients. **Transplantation**, 45: 353-359, 1988.

LÖNING, T. H.; STILLO, K., RIVIÈRE, A. and HELMCHEN, U. Cytomegalovirus detection in kidney transplants: results obtained from the polymerase chain reaction. **Clin Nephrol**, 37: 78-83, 1992.

LOWANCE, D.; NEUMAYER, H.H.; LEGENDRE, C.M.; SQUIFFLET, J.P.; KOVARIK, J.; BRENNAN, P.J.; NORMAN, D.; MENDEZ, R.; KEATING, M.R.; GOGGON, G.I.; CRISP, A. and LEE, I. C. Valacyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. International Valacyclovir Cytomegalovirus Prophylaxis Transplantation Study Group. **N Engl J Med**, 13: 1462-70, 1999.

LUCHSINGER, V.F.; SUÁREZ, M.G.; MONTIEL, F.A. and KALTWASSER, G.G. Evolución de la infección por citomegalovirus en trasplantados renales. **Rev Med Chile**, 127: 9-17, 1999.

MANFRO, R.C.; GONÇALVES, L.F.S.; RAUBER, M. and MOURA, L.A.R. Analysis of ICAM-I and HLA-DR expression on renal allograft aspirates. **Clin Transplant**, 10:379-83, 1996.

MANTEIGA, R.; MARTINO, R.; SUREDA, A.; LABEAGA, R.; BRUNET, S.; SIERRA, J. and RABELLA, N. Cytomegalovirus pp65 antigenemia –guided

preemptive treatment with ganciclovir after allogenic stem transplantation: a single center experience. **Bone Marrow Transplant**, 22: 899-904, 1998.

MARKOVIC-LIPKOVSKI, J.; MÜLLER, C.A.; ENGLER-BLUM, G.; STRUTZ, F.; KÜHN, W.; RISLER, T.; LAUCHART, W. and MÜLLER, G.A. Human cytomegalovirus in rejected kidney grafts. **Nephrol Dial Transplant**, 7: 865-870, 1992.

McCARTHY, J. M.; KARIN, M.A.; KRUEGER, H. and KEOWN, P.A. The cost impact of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. **Transplantation**, 55:1277-1282, 1993.

MEYERS, J. D.; REED, E. C.; SHEPP, D. H.; THORNQUIST, M.; DANDLIKER, P.S.; VICARY, C.A.; FLOURNAOY, N.; KIRK, L. E.; KERSEY, J.H.; THOMAS, E. D. and BALFOUR, H.H. Acyclovir for prevention of cytomegalovirus infection and disease after allogenic marrow transplantation. **N Engl J Med**, 318:7075, 1988.

MIDDELDORP, J.M.; JONGSMA, J.; TER HAAR, A.; SCHRIM, J. and THE, T.H. Detection of immunoglobulin M and G antibodies against cytomegalovirus early and late antigens by enzyme-linked immunosorbent assay. **J Clin Microbiol**, 20:763-66, 1984.

MIDDELDORP, J.M.; SILLEKENS, P. and LUNENBERG, J. Diagnosis of active HCMV infection: the mRNA approach. **Org and Tis**, 2: 99-107, 2000.

MULDON, J.; O'RIORDAN, K.; RAO, S. and ABECASSIS, M. Ischemic colitis secondary to venous thrombosis. **Transplantation**, 61:1651-1653, 1996.

MUÑOZ, P.; MUÑOZ, R.M.; PALOMO, J.; RODRIGUEZ-CREIXÉMS, M.; MUÑOZ, R. and BOUZA, E. Pneumocystis carinii infection in heart transplant recipients. **Medicine**, 76: 415-422, 1997.

- MURRAY, B.M.; AMSTERDAM, D.; GRAY,V.; MYERS,J.; GERBASE,J. and VENUTO, R.. Monitoring and diagnosis of cytomegalovirus infection in renal transplantation. **J Am Soc Nephrol**, 8:1448-1457, 1997.
- MUSSI-PINHATA, M.M.; YAMAMOTO, A .Y.; FIGUEIREDO L.T.M.; CERVI M.C. and DUARTE, G. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection in infants born to mothers infected with human immunodeficiency virus. **J Pediatr**, 132: 285-90, 1998.
- NG-BAUTISTA, C. L. and SEDMAK, D. D. . Cytomegalovirus infection is associated with absence of alveolar epithelial cell HLA class II antigen expression. **J Infect Dis**, 171: 39-44, 1995.
- NITSCHKE, A.; STEUER, N.; SHMIDT, C.A.; LANDT, O.; ELLERBROK, H.; PAULI, G. and SIEGERT, W. Detection of human cytomegalovirus DNA by Real-time quantitative PCR. **J Clin Microbiol**, 38: 2734-2737, 2000.
- NOBEL, S. and FAULDS, D.. Ganciclovir: Ann update of its use in the prevention of Cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. **Drugs**, 56: 115-146, 1998.
- ORMROD, D.; SCOTT, L.J. and PERRY, C. M. Valaciclovir: A review of its long term utility in the management of genital herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. **Drugs**, 59: 839-863, 2000.
- OSMAN, H. K. E.; PEIRIS, J.S.M.;TAYLOR, C. E.; WARWICKER, P.; JARRETT, R.F. and MADELEY, C.R. "Cytomegalovirus disease" in renal allograft recipients. **J Med Virol**, 48: 295-301, 1996.
- PEIRIS, J. S. M.; TAYLOR, C. E.; MAIN, J.; GRAHAM, K. and MADELEY, C.R. . Diagnosis of cytomegalovirus (CMV) disease in renal allograft recipients: the role of semiquantitative polymerase chain reaction (PCR). **Nephrol Dial Transplant**, 10: 1198-1205, 1995.

PERSONS, D. L.; MOORE, J. A. and FISHBACK, J. L. . Comparison of polymerase chain reaction, DNA Hybridization and hystology with viral culture to detect cytomegalovirus in immunosuppressed patients. **Mod Pathol**, 4: 149-153, 1991.

PESCOVITZ, M. D.; PRUETT, T. L.; GONWA, T.; BROOK, B.; McGORY, R.; WICKER,K.; GRIFFY,K.; ROBINSONC.A. and JUNG, D. Oral ganciclovir dosing in transplant recipients and dialysis patients based on renal function. **Transplantation**, 66: 1104-1107, 1998.

PETERSON, P.K.;BALFOUR, H.H.; MARKER, S.C.; FRYD, D.S.; HOWARD, R. J. and SIMMONS, R.L. Citomegalovirus disease in renal allograft recipients: a prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation. **Medicine**, 59:283-300, 1980.

PFAU, P. and ROTHSTEIN, R. D. Cytomegalovirus cecal ulcer in a patient awaiting cardiac transplantation. **Am J Gastroenterol**, 91: 2435-36, 1996.

PILLAY, D.; ALI, A. A.; LIU, S.F.; KOPS,.E.; SWENY, P. and GRIFFITHS, P. D. The prognostic significance of positive CMV cultures during surveillance of renal Transplant recipients. **Transplantation**, 56: 103-108, 1993.

PILLAY, D. Management of herpes virus infections following transplantation. A report from the British Society for Antimicrobial Chemotherapy Working Party on Antiviral Therapy. **J Antimicrobib Chemother**, 45: 729-748, 2000.

POLIC, B. ; JONJC, S.; PAVIC, I.; CRNKOVIC, I.; ZORICA, I.; HENGEL, H.; LUCIN, P. and KOSZINOWSKI, U.H. Lack of MHC class I complex expression has no effect on spread and control of cytomegalovirus infection in vivo. **J Gen Virol**, 77: 217-225, 1996.

POURIA, S.; STATE, O.I.; WONG, W. and HENDRY, B.M. CMV infection is

associated with transplant renal artery stenosis. **Q J Med**, 91:185-189, 1998.

POUTEIL-NOBLE, C.; ECOCHARD, R.; LANDRIVON, G. ; DONIA-MAGED, A.; TARDY, J.C.; BOSSHARD, S.; COLON, S.; BETUEL, H.; AYMARD, M. and TOURANINE, J.L. Cytomegalovirus infection- an etiological factor for rejection? A prospective study in 242 renal transplant patients. **Transplantation**, 55: 851-7,1993.

QUINNAN, G.V.; KIRMANI, N.; ROOK, A .H.; MANISCHEWITZ, J.F. and MORESCHI, G. Cytotoxic T cells in cytomegalovirus infection: HLA-restricted T-lymphocyte and non T lymphocyte cytotoxic responses correlate with recovery from cytomegalovirus in bone marrow transplant recipient. **N Engl J Med**, 303: 6-13, 1982.

RANDHAWA, P.S. Cytomegalovirus infections in renal transplant recipients treated with daclizumab. **Transplantation**, 15: 1026-1027, 2000.

RANJAN, D.; BURKE, G.; ESQUENAZI, V.; MILGROM, M.; KOLEILAT, N.; ROTH, D.; GOMEZ, C.; OLSON, L.; BABISCHKIN, S. and GHARAGOZLOO, H. Factors affecting the ten-year outcome of human renal allografts: The effects of viral infections. **Transplantation**, 5: 113-117, 1991.

RAO, M.; FINNY, G.J.; ABRAHAM, P.; JUNEJA, R.; THOMAS, P.P. and JACOB, C.K. Cytomegalovirus Infection in a seroendemic renal transplant population: A longitudinal Study of Virological Markers. **Nephron**, 84: 367-373, 2000.

RATNAMOHAN, V. M.; CHAPMAN, J.; HOWSE, H.; BOVINGTON, K.; ROBERTSON, P.; BYTH, K.; ALLEN, R. and CUNNINGHAM. Cytomegalovirus and herpesvirus 6 both cause viral disease after renal transplantation. **Transplantation**, 66: 877-882, Oct., 1998.

REINA, J.; BALLESTEROS, F.; GASCO, J.; MUNAR, M. and MARI, M. Usefulness of pp65 antigenemia and viremia in the follow-up of renal transplant

recipients with cytomegalovirus disease treated with ganciclovir. **Diagn Microbiol Infect Dis**, 37: 83-86, 2000.

REINA, J. ; FERNANDEZ-BACA, V.; SURINA, J.; BLANCO, I. and MUNAR, M. Shell-vial culture and pp65 antigenemia assay in the detection of cytomegalovirus in the first blood sample of renal transplant recipients. **J Med Virol**, 55: 240-242, 1998.

REINA, J.; BALLESTEROS, F.; GASCO, J.; MUNAR, M. and MARI, M. Usefulness of pp65 antigenemia and viremia in the follow-up of renal transplant recipients with cytomegalovirus disease treated with ganciclovir. **Diagn Microbiol Infect Dis**, 37: 83-86, 2000.

RENTENAAR, R. J.; WEVER, P.C.; VAN DIEPEN, F.N.; OUT, T.A.; SCHELLEKENS, P.T. and TEN BERGE, I.J. Concomitant detection by flow cytometry of the intragranular antigen granzyme B and the intranuclear antigen Ki-67 in peripheral blood mononuclear cells from healthy individuals and patients with acute CMV infection after renal transplantation. **Transplant Proc**, 30: 3958-3959, 1998.

REUSSER, P.; FISHER, L.D.; BUCKNER, C.D.; THOMAS, E. D. and MEYERS, J. D. Cytomegalovirus infection after autologous marrow transplantation: Occurrence of cytomegalovirus disease and effect on engraftment. **Blood** 75:1888, 1990.

REUSSER, P.; RIDDEL, S. R.; MEYERS, J. D. and GREENBERG, P. D. Cytotoxic T-lymphocyte response to cytomegalovirus after human allogeneic bone marrow transplantation. **Blood**, 78: 1373-1380, 1991.

RICHARDSON, W. P. ; COLVIN, R.B.; CHEESEMAN, S.H.; TOLKOFF-RUBIN, N.E.; HERRIN, J. T.; COSIMI, A.B; COLLINS, A. B.; HIRSCH, M. S.; McCLUSKEY, R.T.; RUSSELL, P.S. and RUBIN, R.H. Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts. **N Engl J Med**,



305: 57-63, 1981.

ROBERTS, T. C.; BRENNAN, D.C.; BULLER, R. S.; GAUDREAU-KEENER, M.; SCHNITZLER, M. A.; STERNHELL, K.E.; GARLOCK, K. A.; SINGER, G.G. and STORCH, G.A..Quantitative polymerase chain reaction to predict occurrence of symptomatic cytomegalovirus infection and assess response to ganciclovir therapy in renal transplant recipients. **J Infect Dis**, 178: 626-635, 1998.

RONDEAU, E.; BOURGEON, B.; PERALDI, M. N.; LANG, P.; BUISSON, C.; SCHULTE, K.M.; WEILL, B. and SRAER, J. D. Effect of prophylactic ganciclovir on cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant**, 8: 858-862, 1993.

ROOK, A.H.; QUINNAN, G.V.; FREDERICK, W.; MANISCHEWITZ, J.F.; KIRMANI, N. ; DANTZLER, T.; LEE, B.B. and CURRIER, C. B. Importance of cytotoxic lymphocytes during cytomegalovirus infection of renal transplant recipients. **Am J Med**, 76: 385-92, 1984.

ROOK, A .H. Interactions of cytomegalovirus with the human immune system. **Rev Infect Dis**, 10(suppl.3):460-7, 1988.

RUBIN, R. H.; TOLKOFF-RUBIN, N.E.; OLIVER, D.; ROTA, T.R.; HAMILTON, J.; BETTS, R.F.; PASS, R.F.; HILLIS, W.;; SZMUNESS, W.; FARRELL, M. L. and HIRSCH, M. S. Multicenter seroepidemiologic study of the impact of cytomegalovirus infection on renal transplantation. **Transplantation**, 40: 243-249, 1985.

RUBIN,R.H and COSIMI, R B. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical importance and control. In: Williams G.M., Burdick J.F., Solez K. (eds). **Kidney Transplant Rejection. Diagnosis and Treatment**, 283-404, 1986.

RUBIN, R.H. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. **JAMA**, 261: 3607- 3609, 1989.

RUBIN, R.H. Impact of cytomegalovirus infection on organ transplant recipients. **Rev Infect Dis**, 12 (suppl 7): S754-766, 1990.

RUBIN, R. The bi-directional relationship between cytomegalovirus and allograft rejection. (Abstracts) **XVIII International Congress of The Transplantation Society**, Session 05, abstract 0553, Aug 27-Sep 01, Rome, Italy, 2000.

SAYEGH, M. ; CARPENTER, C. B.; BENNET, W. M. . Cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. **UpToDate in Medicine**, 5: 1-7 CD-Rom, ISSN: 1090-3496, Full-text, 2000.

SCHÄFER, P. ; KÜHN, J.E.; TENSCHERT, W.; EINNG, B.; SCHRÖTER, M. and LAUFS, R. Polymerase chain reaction (PCR) from fycoll-purified polymorphonuclear Leukocytes for monitoring cytomegalovirus infections in renal allograft recipients. **J Infec Dis**, 178: 1544-1546, 1998.

SCHÄFER, P.; TENSCHERT, W.; GUTENSOHN, K and LAUFS, R. Minimal effecto of delayed sample processing on results of quantitative PCR for cytomegalovirus DNA in leukocytes compared to results of an antigenemia assay. **J Clin Microbiol**, 35: 741-4, 1997.

SCHÄFER, P.; TENSCHERT, W.; CHEMASCHI, L.; GUTENSOHN, K. and LAUFS, R. Utility of major leukocyte subpopulations for monitoring secondary cytomegalovirus infections in renal-allograft recipients by PCR. **J Clin Microbiol**, 36: 1008-1014, 1998.

SCHNITZLER, M. A.; WOODWARD, R. S.; BRENNAN, D.C.; SPITZNAGEL, E. L.; DUNAGAN, W.C. and BEILEY, T.C. The effects of Cytomegalovirus serology on graft and recipient survival in cadaveric renal transplantation: Implications for organ allocation. **Am J Kidney Dis**, 29: 428-434, 1997.

SCHROEDER, R.; MESKO, J.; SANTOS, A.; KEITEL, E.; BITTAR, A.; GARCIA,

V. and NEUMANN, J. Cytomegalovirus antigenemia and renal function post-kidney-transplantation. **Transplant Proc**, 31: 3027-8, 1999.

SEDMAK, D. ; ROBERTS, W.H.; STEPHENS, R. E.; BUESCHING, W.J.; MORGAN, L. A.; DAVIS, D. H. and WALDAN, W.J. Inability of cytomegalovirus infection of cultured endothelial cells to induce HLA class II antigen expression. **Transplantation**, 49: 458-462 , 1990.

SEPKOWITZ, K. Infectious challenges in solid organ and bone marrow transplant recipients. Program and abstracts of **40<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy**; Toronto, Ontario, Canada, September 17-20, 2000

SHACKLETON, C. R.; KEOWN, P.A.; LANDSBERG, D.N.; McCARTHY, J.M.; SCUDAMORE, C.H.; KANE, L. M.; CAMERON, E. C.; YEUNG, C.K. and CHIU, A.S. The impact of donor/recipient matching for cytomegalovirus compatibility or identity on the incidence of disease and outcome following renal transplantation. **Transplant Proc**, 23: 1350-1351, 1991.

SHAVER, M.J.; BONSI, S.M.; ABUL-EZZ, S. and BARRI, Y.M. Renal allograft dysfunction associated with cytomegalovirus infections. **Am J Kidney Dis**, 34: 942-946, 1999.

SMILEY, M. L.; WLODAVER, C. G.; GROSSMAN, R.A.; BARKER, C.F.; PERLOFF, L.J.; TUSTIN, N.B.; STUART, S. E.; PLOTKIN, S.A. and FRIEDMAN, H.M. The role of pretransplant from cytomegalovirus disease following renal transplantation. **Transplantation**, 40: 157-161, 1985.

SMITH, M. G. Propagation of salivary gland virus of the mouse in tissue culture. **Proc Soc Exp Biol Med**, 86, 435-440, 1954.

SMITH, C. B. . Cytomegalovirus pneumonia : state of art. **Chest**, 95: 182S-187S, 1989.

- SMITH, S. R.; BUTTERLY, D.W.; CONLON, P.J.; HARLAND, R.C. and EMOVON, O.E.. Incidence of cytomegalovirus disease in renal transplantation without antilymphocyte induction. **Transplant Proc**, 30: 2097-2099, 1998.
- SNYDMAN, D. R. Cytomegalovirus infection in solid organ transplantation: Prospects for prevention. **Transpl Rev**, 4: 59-67, 1990.
- SNYDMAN, D.R., RUBIN, R.H. and WERNER, B.G. New developments in cytomegalovirus prevention and management. **Am J Kidney Dis**, 21: 217-228, 1993.
- STAINER,P.; TAYLOR, D. L.; KITCHEN, A .D.; WALES, N.; TRYHORN, Y. and TYMS, A .S. Persistence of cytomegalovirus in mononuclear cells in peripheral blood from blood donors. **Br Med J**,299 (6704): 897-8,1989.
- STEFFENS, H. P.; KURZ,S.; HOLTAPPELS, R. and REDDEHASE, M.J.. Preemptive CD8 T-cell immunotherapy of acute cytomegalovirus infection prevents lethal disease, limits the burden of latent viral genomes and reduces the risk of virus recurrence. **J Virol**, 72: 1797-804, 1998.
- SYMMONS, R. S.; MATAS, A .J.; RATAZZI, L.C.; BALFOUR, H.H.; HOWARD, R. J. and NAJARIAN, J.S. Clinical characteristic of the lethal cytomegalovirus infection following renal transplantation. **Surgery**, 82: 537-46, 1977.
- TASHIRO, M.; AIKAWA, A.; SATO, I.; KIMURA, I.; IWASHITA, Y.; ARAI, K.; OHARA, T.; HIRATA, K. and HASEGAWA, A. Comparasion of lymphocyte subsets of peripheral blood and grafts in renal transplant recipients. **Transplant Proc**, 21: 1859-1860, 1989.
- TERASAKI, P. I.; YUGE, J.; CECKA, J. M. and GJERTSON, D .W. Cytomegalovirus antibody status and kidney transplantation. **Clin Transpl**,509: 18, 1994.

THE, T. H.; VAN DER BIJ, W.; VAN DEN BERG, A. P.; VAN DER GIESSEN, M.; WEITS, J.; SPRENGER, H.G. and VAN SON, W.J. Cytomegalovirus antigenemia. **Rev Infect Dis**, 2(suppl 7):S734-44, 1990.

THE, T. H.; VAN DER PLOEG, M.; VAN DER BERG, A. P.; VLIETGER, A.M.; VAN DER GIESSEN, M. and VAN SON, W.J. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes – A review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. **Transplantation**, 54: 193-198, 1992

TOLKOFF-RUBIN, N.E. and RUBIN, R.H.. Viral infections in organ transplantation. **Transplant Proc**, 5: 2060-3, 1998.

TONG, C. Y. W.; CUEVAS, L.; WILLIAMS, H. and BAKRAN, A. Use of laboratory assays to predict cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. **J Clin Microbiol**, 36: 2681-2685, 1998.

TONG, C.Y.W.; CUEVAS, L.E.; WILLIAMS, H. and BAKRAN, A. Comparison of two commercial methods for measurement of cytomegalovirus load in blood samples after renal transplantation. **J Clin Microbiol**, 38: 1209-1213, 2000a.

TONG, C.Y.; BAKRAN, A.; WILLIAMS, H.; CHEUNG, C.Y. and PEIRIS, J.S. Association of human herpesvirus 7 with cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. **Transplantation**, 15: 213-6, 2000b .

TOUPANCE, O.; BOUEDJORO-CAMUS, M.C.; CARQUIN, J.; NOVELLA, J.L.; LAVAUD, S.; WYNCKEL, A.; JOLLY, D. and CHANARD, J. Cytomegalovirus-related disease and risk of acute rejection in renal transplant recipients: a cohort study with case-control analyses. **Transplant Int**, 13(6):413-9, 2000.

TSEVAT, J.; SNYDMAN, D.R.; PAUKER, S.G.; DURAND-ZALESKI, I.; WERNER, B.G. and LEVEY, A. S. Which renal transplant patients should receive cytomegalovirus immune globulin? **Transplantation**, 52(2): 259-65, 1991.

TURGEON, N.; FISHMAN, J. A.; BASGOZ, N.; TOLKOFF-RUBIN, N.E.; DORAN, M.; COSIMI, A. B. and RUBIN, R.H. Effect of oral acyclovir or ganciclovir therapy after preemptive intravenous ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus seropositive renal and liver transplant recipients receiving antilymphocyte antibody therapy. **Transplantation**, 66(12): 1780-6, 1998.

TYMS, A .S.. Cytomegalovirus and the acquired immunodeficiency syndrome. **J Antimicrob Chemother**, 23(supplA): 89-105, 1989.

UNOS. United Network Organ Sharing. Home page, available data: [http://www.patients.unos.org/tpd/frm\\_stats\\_application.asp?org=KI&tab1=&tab2=national&ctr=&dim1=&dim2=&dim2=&loc=NAT&btty=state&table=5](http://www.patients.unos.org/tpd/frm_stats_application.asp?org=KI&tab1=&tab2=national&ctr=&dim1=&dim2=&dim2=&loc=NAT&btty=state&table=5)

URBAN, M.; WINKLER, T.; LANDINI, M.P.; BRITT, W. and MACH, M. Epitope-specific distribution of IgG subclasses against antigenic domains on glycoproteins of human cytomegalovirus. **J Infect Dis**, 169: 83-90, 1994.

USRDS. United States Renal Disease System. Home page, available data: <http://www.usrds.org/atlas.htm>

VAN DEN BERG, A. P.; VAN DER BIJ, W.; VAN SON, W.J.; ANEMA, J.; VAN DER GIESSEN, M.; SCHIRM, J.; TEGZESS, A.M. and THE, T.H. Cytomegalovirus antigenemia as a useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation. **Transplantation**, 48: 991-995, 1989.

VAN DEN BERG, A. P.; TEGZESS, A.M.; SCHOLTEN-SAMPSON, A.; VAN DER GIESSEN, M.; THE, T. H. and VAN SON, W.J. Quo vadis? : the clinical dilemma of simultaneous cytomegalovirus infection and steroid-resistant rejection. **Transplantation**, 52: 1081-1083, 1991.

VAN DEN BERG, A .P.; VAN SON, W.J.; JANSSEN, R.A.J.; BROS, N.H.C.;

- HEYN, A. A.; SCHOLTEN-SAMPSON, A.; POST MA, S.; VAN DER GIESSES, M.; TEGZESS, A.M.; DE LEIJ, L.H.F.M. and THE, T.H. Recovery from cytomegalovirus infection is associated with activation of peripheral blood lymphocytes. **J Infec Dis**, 166: 1228-1235, 1992.
- VAN DER BIJ, W.; SCHIRM, J.; TORENSMA, R.; VAN SON, W.J.; TEGZESS, A. M. and THE, T.H. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. **J Clin Microbiol**, 26:2531-2535, 1988.
- VAN DER GIESSEN, M.; VAN DENBERG, A.P.; VAN DER BIJ, W.; POSTMA, S.; VAN SON, W.J. and THE, T.H. Quantitative measurement of cytomegalovirus-specific IgG and IgM antibodies in relation to cytomegalovirus antigenaemia and disease activity in kidney recipients with active cytomegalovirus infection. **Clin Exp Immunol**, 80: 56-61, 1990.
- VAN ES, A.; BALDWIN, W.M.; OLIJANS, P.J.; TANKE, H.J.; PLOEM, J.S. and VAN ES, L.A. Expression of HLA-DR on T lymphocytes following renal transplantation, and association with graft episodes and cytomegalovirus infection. **Transplantation**, 37: 65-69, 1984.
- VAN SON, W. J. and THE, T. H. . Cytomegalovirus infection after organ transplantation: an update with special emphasis on renal transplantation. **Transplant Int**, 2:147-164, 1989.
- VAN ZANTEN, J.; DE LEIJ, L.; PROP, J.; HARMSSEN, M.C. and THE, T.H. Human cytomegalovirus: a viral complication in transplantation. **Clin Transplant**, 12: 145-158, 1998.
- VON WILLEBRAND, E.; LAUTENSCHLAGER, I. and AHONEN, J. . Cellular activation in the graft and in blood during CMV disease. **Transplant Proc**, 21: 2080- 2081, 1989.
- VON WILLEBRAND, E.; PEERSSON, E.; AHONEN, J and HAYRY, P. CMV

infection, class II antigen expression, and human kidney allograft rejection. **Transplantation**, 42: 364-7, 1986.

WAISER, J.; BUDDE, K.; SCHREIBER, M.; KORN, K.; STENGLEIN, S.; DRENCKHAHN, J. T.; BÖHLER, T.; HAUSER, I. and NEUMAYER, H.H. Effectiveness of deferred therapy with ganciclovir in renal allograft recipients with cytomegalovirus disease. **Transplant Proc**, 30: 2083-2085, 1998.

WALDMANN, J.W.; KNIGHT, D. A.; ADAMS, P.W.; OROSZ, C. G. and SEDMAK, D. D. In vitro induction of endothelial HLA class II antigen expression by cytomegalovirus virus-activated CD4+ T cells. **Transplantation**, 56: 1504-1512, 1993a.

WALDMANN, W.J.; KNIGHT, D.A.; VAN BUSKIRK, A.; ADAMS, P.W.; OROSZ, C. G. and SEDMAK, D. D.. Endothelial HLA class II induction mediated by allogeneic T cells activated by cytomegalovirus-infected cultured endothelial cells. **Transplant Proc**, 25:1439-1440, 1993b.

WALDMAN, W. J. and KNIGHT, D. A. . Cytokine-mediated induction of endothelial adhesion molecule and histocompatibility leukocyte antigen expression by cytomegalovirus-activated T cells. **Am J Pathol**, 148: 105-119, 1996.

WEINBERG, A.; HODGES, T. N.; LI, S.; CAI, G. and ZAMORA, M.R. Comparison of PCR, Antigenemia Assay, and Rapid Blood Culture for Detection and Prevention of Cytomegalovirus Disease after Lung Transplantation. **J Clin Microbiol**, 38: 768-772, 2000.

WEIR, M.R.; ENRY, M. L.; BLACKMORE, M.; SMITH, J.; FIRST, M.R.; IRWIN, B.; SHEN, S.; GENEMANS, G.; ALEXANDRE, J.W.; CORRY, R. J.; NGHIEM, D. H.; FERGUSON, R.M.; KITTUR, D.; SHIELD, C.F.; SOMMER, B.G and WILLIAMS, G. M. Incidence and morbidity of cytomegalovirus disease associated with a seronegative recipient receiving seropositive donor-specific



- transfusion and living-related donor transplantation. **Transplantation**, 45: 111-116, 1988.
- WELLER, T. H. Cytomegalovirus: the difficult years . **J. Infect Dis**, 122: 532-539, 1970.
- WIE, S.H.; SONG, H. C.; KIM, Y.R.; YOON, S.A.; LEE, S.H.; YANG, C.W.; KIN, Y.S.; KIM, S.Y.; KANG, M.W. and BANG, B.K. Immunocytochemical assay for cytomegalovirus detection in peripheral blood for renal transplant patients in clinical practice. **Transplant Proc**, 28: 1505-1506, 1996.
- WINSTON, D. J.; HO, W.G.; BARTONI, K.; DU MOND, C.; EBELING, D.F.; BUHLES, W.C. and CHAMPLIN, R. E. Ganciclovir prophylaxis of cytomegalovirus infection and disease in allogeneic bone marrow transplant recipients. **Ann Int Med**, 118: 179-184, 1993.
- WIRGART, B. Z.; CLAEISSON, K.; ERIKSSON, B. M.; BRUNDIN, M.; TUFVESON, G.; TOTTERMAN, T. and GRILLNER, L. Cytomegalovirus (CMV) DNA amplification from plasma compared with CMV pp65antigen (ppUL83) detection in leukocytes for early diagnosis of symptomatic CMV infection in kidney transplant recipients. **Clin Diagn Virol**, 7:99-110, 1996.
- WRIGHT, F. H. and BANOWSKY, L. H. . Cytomegalovirus infection and prophylaxis in renal transplantation financial considerations. **Transplantation Proc**, 30:1318-1319, 1998.
- YANG, C. W.; KIM, Y.O; KIM, Y.S.; KIM, S.Y.; MOON, I.S.; AHN, H.J.; KOH, Y.B. and BANG, B.K. Clinical course of cytomegalovirus (CMV) viremia with and without ganciclovir treatment in CMV-seropositive kidney transplant recipients. **Am J Nephrol**, 18:373-379, 1998.
- YEUNG, J. S. ; TONG, K. L. and CHAN, H. W. H. . Clinical pattern, risk factors, and outcome of CMV infection in renal transplant recipients : local experience. **Transplant Proc**, 30: 3144-3145, 1998.