

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E
CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM NEFROLOGIA

**AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO
PELO POLIOMAVÍRUS EM TRANSPLANTADOS
RENAIS E PANCREÁTICOS ATRAVÉS DA
EXCREÇÃO URINÁRIA DE CÉLULAS DECOY**

LEONARDO VILIANO KROTH

Porto Alegre

2007

LEONARDO VILIANO KROTH

**AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO
POLIOMAVÍRUS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS E
PANCREÁTICOS ATRAVÉS DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE
CÉLULAS DECOY**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre, pelo Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. David Saitovitch

Porto Alegre

2007

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

K93a Kroth, Leonardo Viliano
Avaliação da prevalência de infecção pelo poliomavírus em transplantados renais e pancreáticos através da excreção urinária de células Decoy / Leonardo Viliano Kroth; orient. David Saitovitch. Porto Alegre: PUCRS, 2007.
58f.: il. tab.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Nefrologia.

1. INFECÇÕES POR POLYOMAVIRUS/epidemiologia. 2. INFECÇÕES POR POLYOMAVIRUS/diagnóstico. 3. URINA/virologia. 4. URINA/citologia. 5. TRANSPLANTE RENAL. 6. TRANSPLANTE DE PÂNCREAS. 7. VÍRUS BK. 8. FATORES DE RISCO. 9. POLYOMAVIRUS. 10. CÉLULAS DECOY. 11. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Saitovitch, David. II. Título.

C.D.D. 617.61

C.D.U. 578.24:616.61-089.84(043.2)

N.L.M. QW 165.5.P2

Dedico esta dissertação de mestrado aos meus pais, Lenir e Hélio, pelo apoio, incentivo, carinho e amor. Sempre me incentivaram a constantemente buscar conhecimento e educação; sendo o verdadeiro motivo de eu estar vivenciando este momento em minha vida.

À Denise, minha esposa, amor da minha vida, muito dedicada, companheira, que faz a minha vida ser melhor a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. David Saitovitch, orientador, colega, amigo, pessoa ímpar que muito me apoiou, incentivou e colaborou em muitas de minhas realizações, desde a iniciação científica no terceiro ano da Faculdade de Medicina, passando pela residência médica em nefrologia e, agora, na pós-graduação e atividades do transplante.

Ao Dr. Moacir Alexandre Traesel, amigo, sócio, compadre, médico exemplar em quem me espelhei e me motivei para ser nefrologista e trabalhar com transplantados renais. Faltam palavras ao agradecer pelo fato de ter me aberto tantas portas, principalmente por oportunizar a possibilidade de atuar ao seu lado e aprender sempre a cada dia.

Ao Dr. Domingos Otávio L. d'Avila, pessoa de extremo caráter, honestidade e seriedade, de dedicação exemplar a todos os médicos; que acreditou em mim proporcionando a oportunidade de trabalhar com uma equipe de excelentes nefrologistas.

Ao Dr. Fernando Martins Tettamanzy, amigo, sócio, pela força e incentivo nos momentos decisivos e fundamentais para que este projeto se concretizasse.

Aos acadêmicos de medicina, Caroline Henkin, Luciana Peres e Mateus Paganella, que me auxiliaram na coleta dos dados e foram fundamentais para a realização deste momento.

Ao Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS e aos seus competentes médicos e enfermeiras, pelo apoio e incentivo de todos. Especial agradecimento ao Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo e à enfermeira Ana Elizabeth Prado Lima de Figueiredo pelo apoio, amizade, muito incentivo, e dicas para concretizar este projeto.

Ao meu irmão Eduardo que conviveu comigo durante boa parte da minha graduação e agüentando-me e apoiando-me em momentos de dificuldades. Pela sua força e capacidade de aproveitar a vida, ao lado da Juliana, servindo de grande lição para vivermos de maneira intensa longe das atividades profissionais.

Aos meus mais recentes pais, Maria da Graça e Getúlio, que viveram muitas batalhas, comemoraram as vitórias e consolaram nas poucas derrotas, sendo pessoas onde pude de maneira segura buscar muito apoio durante esses últimos anos.

A todos que colaboraram, de alguma maneira, para realização deste projeto.

RESUMO

O presente trabalho aborda aspectos relacionados à infecção por poliomavírus em pacientes transplantados de rim e pâncreas. Este vírus teve sua importância destacada nos últimos anos, em virtude da descoberta de sua associação com uma nefropatia responsável por redução significativa da sobrevida do enxerto renal. Muitos estudos estão em andamento para avaliar a ocorrência do vírus em diferentes populações, seus fatores de riscos, métodos para diagnóstico e terapêuticas. Até o momento, esta “nova” infecção permanece misteriosa em muitos aspectos.

Os métodos para diagnóstico da infecção pelo poliomavírus consistem de citologia urinária, pesquisa do vírus por PCR na urina e sangue e histologia renal. A citologia urinária é um método de fácil realização e baixo custo, onde pesquisa-se a ocorrência de células epiteliais com inclusões virais intranucleares, denominadas de células decoy. Estas células sugerem replicação viral.

A prevalência de células decoy em pacientes transplantados renais varia de 20 a 60%. Destes, cerca de 1 a 8% desenvolvem nefropatia relacionada ao vírus, associada com perda de enxerto renal variando de 10 a 80% dos casos. Não há relatos sobre prevalência de células decoy em transplantados pancreáticos.

Neste trabalho, avaliou-se a prevalência das células decoy em pacientes transplantados de rim, pâncreas e pâncreas-rim no nosso meio. A ocorrência de positividade das células decoy foi correlacionada com diferentes variáveis clínicas, para avaliar fatores de risco associados. Foram avaliados 231 pacientes, maiores de 18 anos, com mais de 1 mês de transplante, que consultaram no ambulatório no período de setembro a dezembro de 2006.

A prevalência total de células decoy em pacientes transplantados no Hospital São Lucas da PUCRS foi de 16% (16,9% em pacientes transplantados de rim, 5,9% em pacientes com transplante simultâneo de pâncreas e rim e 20% em pacientes transplantados de pâncreas isolado).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com citologia positiva e negativa para células decoy em relação as variáveis demográficas (sexo, idade e raça) ou clínicas (tempo em transplante, tipo de

transplante, tipo de doador, história de disfunção primária ou rejeição, outras infecções virais associadas e tipo de imunossupressão).

Palavras chaves: Poliomavírus. Células decoy. Transplante Renal. Transplante de Pâncreas. Vírus BK.

ABSTRACT

The present study evaluates aspects of polyomavirus infection in renal transplant patients. Recently, BK virus has been recognized as an important infectious agent because BK virus associated nephropathy (BKVN) has emerged as a significant cause of allograft failure. Currently, studies on its prevalence, risk factors, diagnostics and therapeutics methods, in different populations, are underway around the world. To date, this “newly emerged” infection remains mysterious in many aspects.

The methods used to diagnosis polyomavirus infection are urinary cytology, urinary and plasmatic viral PCR and renal histology. Urinary cytology is an inexpensive and a simple method where urothelial cells with intranuclear viral inclusions are sought; these are called decoy cells and are thought to represent viral replication.

The prevalence of decoy cells in renal transplants recipients is between 20 and 60%. Of these, 1 to 8% develops BKV nephropathy in witch case up to 80% may lose their grafts. No data on the prevalence of decoy cells in pancreas graft recipients has been published so far.

In this study, we evaluated the prevalence of decoy cells in kidney, pancreas and kidney-pancreas recipients. The presence of decoy cells has been correlated with clinical variables, in an attempt to analyze risk factors. Two hundred and twenty one patients, 18 years-old or older, with more than 1 month follow up after transplantation, that attended the outpatients clinic between September and December 2006 were studied.

The total prevalence of decoy cells was 16% (16.9% in kidney recipients, 5.9% in simultaneous kidney-pancreas recipients and 20% in pancreas alone recipients).

There were no statistically significant differences between patients with either positive or negative urinary cytology for decoy cells, regarding demographic (gender, age, race) or clinical (time post-transplantation, donor type and history of delayed graft function or rejection, other associated viral infections and type of immunosuppressive drugs employed) variables.

Key-words: Polyomavirus. Decoy cells. Renal Transplant. Pancreas Transplant.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Vias de entrada e migração intracelular do poliomavírus. Adaptado de Dugan⁽³⁾.....15
- Figura 2. Citologia Urinária com poliomavírus (células decoy). Microscopia óptica 1000x. Coloração de papanicolau.25
- Figura 3. Padrão histológico B de nefropatia por vírus BK. Microscopia Óptica 400x.....29
- Figura 4. Padrão histológico C de nefropatia por vírus BK. Microscopia Óptica 200x.....29
- Figura 5. Imunohistoquímica positiva para poliomavírus, em biópsia renal de paciente transplantado de pâncreas e rim do HSL-PUCRS. Aumento de 100x. (Cedido pela Dra. Marilda Mazzali).....39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BKV	Vírus BK
NCCR	“noncoding control region”
DNA	Ácido desoxiribonucléico
RNA	Ácido ribonucléico
VP	Proteína viral
SV40	Vírus Simian
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
PCR	Reação em cadeia da polimerase
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
HLA	Antígenos leucocitário humano
PRA	Reatividade contra painel
OKT3	Anticorpo monoclonal anti-linfócitos CD3
CMV	Citomegalovírus
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
IgA	Imunoglobulina A
ELISA	Teste imuno-enzimático
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
HSL-PUCRS	Hospital São Lucas da PUCRS

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
1.1. História.....	15
1.2. Evolução Clínica.....	16
1.3. Fatores de Risco.....	18
1.3.1. Doador.....	18
1.3.2. Compatibilidade HLA.....	19
1.3.3. Isquemia.....	20
1.3.4. Características do receptor.....	20
1.3.5. Imunossupressão.....	21
1.3.6. Infecções associadas.....	22
1.4. Manifestações clínicas.....	22
1.5. Métodos diagnósticos.....	24
1.5.1. Sorologia.....	24
1.5.2. Citologia urinária.....	24
1.5.3. Histologia renal.....	27
1.5.4. Reação em Cadeia de Polimerase.....	30
1.5.4.1. PCR urinário (viruria).....	30
1.5.4.2. PCR plasmático (viremia).....	31
1.6. Diagnóstico.....	32
1.7. Epidemiologia.....	33
1.7.1. Prevalência de sorologia para BKV.....	33
1.7.2. Prevalência de células decoy.....	33
1.7.3. Prevalência de viruria e viremia por BKV.....	34
1.7.4. Prevalência de nefropatia por BKV.....	35
1.8. Tratamento.....	37
1.9. Evolução e prognóstico.....	38
1.10. Transplantes na PUCRS.....	39
1.11. Justificativa.....	40
1.12. Referências.....	41
2. Objetivos.....	49
2.1. Principal.....	49

2.2. Secundário.....	49
3. Artigo encaminhado para publicação.....	50
4. Discussão.....	53
4.1. Referências.....	56
5. Anexos.....	58
5.1. Anexo 1 – Considerações sobre a dissertação.....	58

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a nefropatia associada ao vírus polioma tornou-se uma das mais importantes patologias do enxerto renal em todo o mundo; com alta prevalência e grande morbidade, levando à perda precoce do enxerto. Sem tratamentos satisfatórios, tem incentivado estudos em vários centros transplantadores.

Inicialmente, o poliomavírus pertencia ao grupo papilomavírus na família *Papovaviridae*. Atualmente, é considerado um gênero distinto denominado de *Polyomavirus*, cujas espécies mais relevantes são BK vírus (BKV), JC vírus e o Simian vírus 40. ⁽¹⁾

O poliomavírus é caracterizado por um vírus com DNA fita dupla não-envelopado com tamanho aproximado de 42 a 45 nm e peso molecular de aproximadamente $3,4 \times 10^6$ Da. ⁽²⁾ O genoma viral é composto de DNA circular de dupla-hélice arranjados em 3 regiões: a “noncoding control region” (NCCR), a região de codificação precoce e a região de codificação tardia. O NCCR é uma região que contém a origem da replicação e as regiões regulatórias para as transcrições precoce e tardia. ⁽¹⁾

O poliomavírus contém 5000 genes pareados compostos de DNA duplo que replica no núcleo do hospedeiro. Cada vírus polioma codifica 5 proteínas durante sua replicação: antígenos T pequenos e grandes são produzidos precocemente, correspondendo a proteínas não-estruturais e não sendo incorporados no virion maduro; 3 outras proteínas estruturais, proteína viral (VP) 1, VP2 e VP3, são produzidas tardiamente no ciclo infeccioso, e compõem a partícula viral. As diferenças sorológicas entre os vírus JC e BK são representadas na proteína VP1. ⁽²⁾

O vírus entra na célula por endocitose de forma lenta, conforme demonstrado na figura 1. Após a endocitose, antígenos T pequenos e grandes são detectados no núcleo, transcritos a partir da região reguladora precoce. Após acumulados, ocorre uma troca na transcrição para a região tardia do genoma, ocorrendo produção das proteínas estruturais VP1, VP2 e VP3. ⁽³⁾

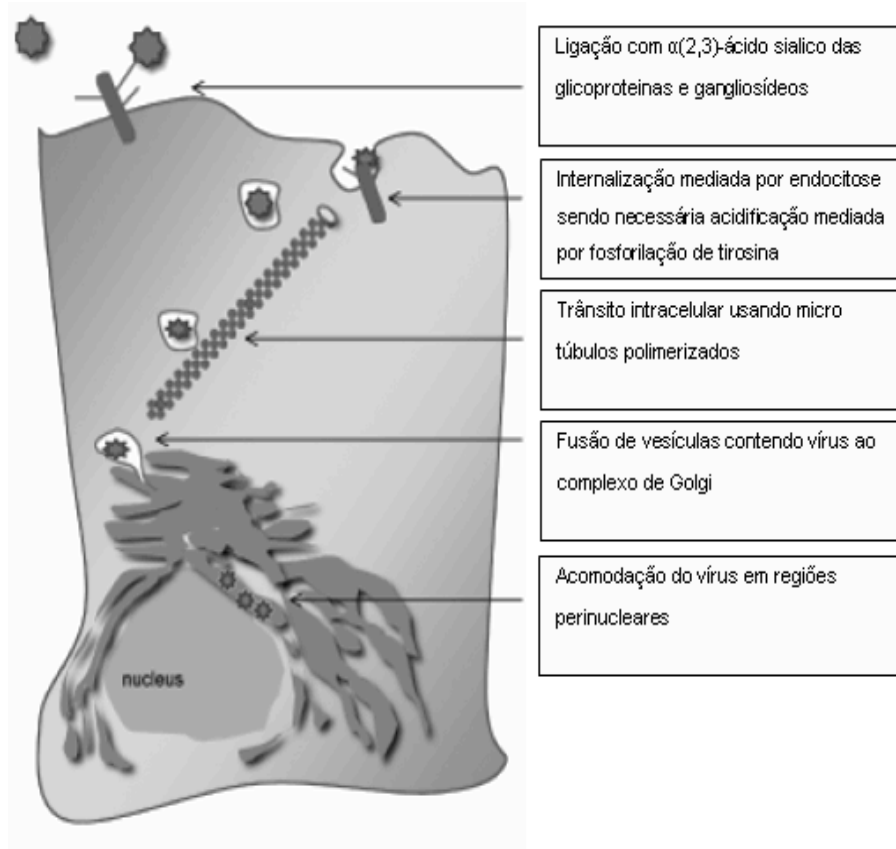


Figura 1: Vias de entrada e migração intracelular do poliomavírus. Adaptado de Dugan e colaboradores. ⁽³⁾

1.1 História

O vírus simian (SV) 40 é comumente encontrado em macacos, sendo de pouco significado em humanos. Entre 1950 e 1960, no entanto, milhões de pessoas foram inadvertidamente expostas ao SV40 de macacos rhesus em administração de vacinas da poliomielite. ⁽⁴⁾

O vírus JC foi isolado em 1971, a partir do cérebro de um paciente HIV positivo que morreu com leucoencefalopatia multifocal progressiva, sendo denominado com as iniciais do mesmo. ⁽⁵⁾

O vírus BK, por sua vez, infecta principalmente transplantados de rim e foi primeiramente isolado em 1970, pela Dra. Silvia Gardner, uma virologista do Laboratório de Pesquisas Virais, em Londres. Em um paciente Sudanês com 3,5

meses de transplante renal, que apresentava estenose ureteral, foram isoladas na urina numerosas células com inclusões virais. ⁽⁶⁾

Em 1983 foi descrito caso de óbito relacionado à disseminação sistêmica de vírus BK. Um menino de 6 anos com hiperimmunoglobulinemia que se apresentou com insuficiência renal aguda, com biópsia renal demonstrando um processo predominantemente túbulo-intersticial com numerosas inclusões virais identificadas como BK vírus. Presença de baixas concentrações do vírus em baço, linfonodos e pulmão foram demonstrados através de hibridização de DNA. Este paciente morreu após 6 meses em diálise. ⁽⁷⁾

Apenas em 1995, Purighalla e colaboradores relataram o primeiro caso de nefrite associada ao BKV em paciente transplantado renal. ⁽⁸⁾ A partir de então, vários centros notificaram casos. Este período coincide com aparecimento de novos esquemas de medicamentos imunossupressores.

1.2 Evolução Clínica

A infecção primária pelo vírus BK é extremamente comum, ocorrendo na infância, e geralmente assintomática, ou manifestando-se com sintomas semelhantes a um resfriado. ⁽¹⁾ Aproximadamente 60 a 80% da população adulta no ocidente apresentam evidência sorológica de infecção por poliomavírus. ^{(9) (10) (11) (12)} As formas de transmissão da infecção primária não estão claras. Acredita-se que ocorra por via oral ou respiratória, mas também durante a gestação, transfusões ou transplante. ⁽¹³⁾

Após a infecção primária, nos indivíduos imunocompetentes, o vírus entra em um período de latência, preferencialmente no trato urinário (células tubulares renais, camada parietal epitelial da cápsula de Bowman, ureter e epitélio transicional). ^{(9) (14) (15)} Estudos demonstram, ainda, presença de DNA de poliomavírus nos tecidos cervicais e vulvares, além do esperma. ⁽¹⁾

Outro foco de latência importante do BK vírus são as células mononucleares do sangue periférico. Há relatos de detecção de RNA viral circulante em indivíduos saudáveis. ⁽¹⁶⁾ Outros sítios são a mucosa de tonsilas, demonstrado em 5 de 12 amostras de crianças com infecção respiratória recorrente, ⁽¹⁷⁾ tecidos

cerebrais,⁽¹⁸⁾ e tumores como ósseos, pancreáticos, renais, urinários e cerebrais.⁽¹⁹⁾
(20)

Várias circunstâncias estão envolvidas na ativação do vírus no seu período de latência. Alterações hormonais da gravidez podem estar relacionadas com o aumento na incidência de poliomavírus neste período (de 3% a 7,5%), sendo evidente a presença de células decoy no segundo e terceiro semestres da gestação.

⁽¹⁾ Em pacientes com Lupus Eritematoso Sistêmico, o vírus BK foi identificado na urina em 16% de 44 pacientes, por PCR urinário, sendo este achado independente do nível de imunossupressão.⁽²¹⁾

Foi verificado um aumento gradual na incidência de vírus BK na urina diretamente proporcional ao envelhecimento, a partir de 30 anos idade, em indivíduos imunocompetentes candidatos à doação de órgãos.⁽²²⁾

Em pacientes com AIDS, o vírus JC é mais freqüente, e causa leucoencefalopatia multifocal progressiva.⁽¹³⁾ O vírus BK, por sua vez, está associado com cistite hemorrágica,⁽²³⁾ meningoencefalite, retinite e nefrite.⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾ Estudo em 63 pacientes HIV positivos comparados com pessoas imunocompetentes relatou prevalência de 16% de DNA para vírus BK no sangue, em pacientes com linfócitos T CD4 \geq 200, e de 35% com linfócitos T CD4 \leq 200 em sangue periférico. Entretanto, não houve associação significativa entre a presença de BKV na urina e o grau de imunodeficiência,⁽²⁶⁾ o que também já havia sido constatado por Sundsfjord e colaboradores.⁽²⁷⁾

Em receptores de transplante de medula óssea, cistite hemorrágica secundária à infecção por poliomavírus é uma complicação freqüente, ocorrendo, geralmente, entre 2 e 12 semanas pós-transplante.⁽²⁸⁾ Ocorre 4 vezes mais em pacientes com presença de BK vírus na urina, sendo este identificado em 55% dos pacientes.⁽²⁹⁾ Em transplantados renais com nefropatia associada ao vírus BK, cistite hemorrágica também foi uma complicação descrita.⁽³⁰⁾

Em transplante de pulmão há relato de caso de hematúria secundária ao poliomavírus, sendo identificadas células decoy e confirmada presença por DNA de BKV na urina e sangue.⁽³¹⁾ Também, um caso de nefropatia em transplantado de pulmão, 15 meses pós-transplante, com tubulite e reação inflamatória intersticial e imunohistoquímica positiva, foi relatado.⁽³²⁾ Dois outros relatos de casos de nefropatia em rins nativos em transplantes não-renais ocorreram em transplante autólogo de medula óssea e em transplante cardíaco.⁽³³⁾

Em transplante renal, a ocorrência de infecção relacionada ao poliomavírus representa uma das maiores complicações no período pós-transplante. Sua prevalência nesta população é elevada, com alta morbidade e com sobrevida reduzida de enxerto.

Atualmente, pouco se sabe sobre os mecanismos de ativação do poliomavírus. Nickeleit e colaboradores propuseram a hipótese de reativação em 2 etapas (“reactivation in two-hits”), a primeira é relacionada ao estímulo de replicação secundário à imunossupressão por drogas, como tacrolimo ou micofenolato. Como a minoria dos pacientes que recebem estas duas medicações simultaneamente desenvolve nefropatia por BK, a segunda etapa, ou seja, uma lesão tubular (episódio de rejeição aguda, por exemplo) parece necessária à replicação viral.⁽³⁴⁾

1.3 Fatores de Risco:

Fatores de risco associados com o desenvolvimento de nefropatia por poliomavírus envolvem determinantes do doador, do enxerto e do receptor.

1.3.1 Doador

Elevados níveis séricos de anticorpos para o vírus BK em doadores de rim estão associados com aumento do risco de doença por BKV no receptor.^{(35) (36)} Estudos prévios demonstraram que 44% dos casos de infecção por BKV, detectados por sorologia, ocorre quando o doador é positivo e o receptor negativo, sugerindo que esta situação possa representar um fator de risco para desenvolvimento de nefropatia por vírus BK.⁽³⁷⁾

Em estudo com transplantados renais pediátricos, com 70% dos receptores com sorologia positiva pré-transplante, a sorologia negativa do receptor foi o mais importante preditor de infecção por BKV. Dos pacientes soronegativos, 58,3% apresentaram infecção comparados com 21,4% daqueles com sorologia positiva pré-transplante ($p < 0,005$).⁽³⁸⁾

Análise retrospectiva identificou correlação entre sorologia do doador e receptor com ocorrência de infecção pós-transplante. Altos títulos de anticorpos no doador correlacionam-se diretamente com início precoce de virúria ($p < 0,001$) e com a duração da mesma ($p < 0,014$).⁽³⁹⁾ Receptores soropositivos que receberam rins de doadores soronegativos parecem ter uma maior chance de nefrite.⁽⁴⁰⁾

No entanto, Hirsch e colaboradores relataram que 85% dos pacientes com nefropatia pelo vírus BK apresentavam sorologia positiva pré-transplante, sugerindo que a combinação de alto risco não é o de doador soropositivo e receptor soronegativo.⁽⁴¹⁾ Há também um relato de caso de vasculopatia relacionada ao vírus BK em transplantado renal com sorologia positiva sugerindo reativação do vírus no receptor.⁽⁴²⁾

1.3.2 Compatibilidade HLA

Ainda não está definido o papel da incompatibilidade HLA entre doador e receptor na patogênese da nefropatia pelo vírus BK. Awadalla e colaboradores demonstraram que a nefropatia por BKV está significativamente associada ao número de incompatibilidades HLA entre o doador e o receptor ($p = 0,004$ e OR:7,6 com 5 à 6 incompatibilidades) em estudo de 40 pacientes com nefropatia por BK comparados com 404 controles. A incidência de rejeição aguda, no entanto, também foi maior no grupo com nefropatia por BK (77,5%), ocorrendo também maior incidência de uso de terapia com anti-linfocíticos ($p = 0,05$). Hirsch e colaboradores também demonstraram uma tendência a um maior número de incompatibilidades HLA com o doador em pacientes com nefropatia por BK vírus.⁽⁴¹⁾ Pode haver, portanto, uma relação entre incompatibilidade HLA e risco aumentado de rejeição e infecção por BK vírus devido à liberação de fatores relacionado à rejeição e injúria, bem como aumento da imunossupressão.⁽⁴³⁾ Por sua vez, outros estudos não encontraram diferenças no número médio de incompatibilidades HLA entre o grupo com e sem nefropatia por BK vírus.^{(44) (45) (46) (38)}

Bohl e colaboradores descreveram associação entre ausência de alelo HLA-C7 e viremia persistente por BK vírus.⁽³⁶⁾ A importância deste achado permanece por ser demonstrada.

1.3.3 Isquemia

Atencio e colaboradores evidenciaram em modelo murino que rins nativos submetidos à injúria por agentes nefrotóxicos ou isquemia de 30 minutos apresentaram maior suscetibilidade a replicação viral pelo poliomavírus. ⁽⁴⁷⁾ Bressollette-Bodin e colaboradores constataram que DNA na urina foi significativamente maior em receptores com tempo de isquemia superior a 24 horas aos 3 e 6 meses de acompanhamento. ⁽⁴⁶⁾ Matlosz e colaboradores, por sua vez, não encontraram evidências de que o tempo de isquemia seja fator de risco para presença de replicação viral do poliomavírus em 27 pacientes de 89 transplantes entre 2001 e 2002 em um centro. ⁽⁴⁸⁾ Outro estudo, também não apresentou diferença na ocorrência de virúria entre pacientes com longo tempo de isquemia comparados com baixos períodos de isquemia, porém, foram comparados doadores falecidos (tempo de isquemia de 17 horas em média) com doadores vivos (tempo de isquemia médio de 30 minutos). ⁽⁴⁹⁾

1.3.4 Características do receptor

Idade avançada e sexo masculino do receptor parecem estar relacionados com maior incidência de poliomavírus. ⁽⁴⁴⁾

Vasudev e colaboradores não identificaram diferenças demográficas entre 41 pacientes com BKV e os demais transplantados (n=960). A idade média de diagnóstico foi aos 44 anos, sendo mais freqüentes em homens (60%), brancos (58%), recebendo enxertos de doadores falecidos (54%). A baixa prevalência de nefropatia por BK (41 pacientes para 960) pode ser a causa da ausência de identificação de fatores de risco. ⁽⁵⁰⁾

Outros estudos, também não demonstraram diferenças significativas quanto ao sexo, ^{(49) (46) (38)} raça, idade, ^{(46) (38)} tipo de doador, ^{(49) (41) (38)} número de

transplantes, ⁽³⁸⁾ porcentagem de reatividade contra painel, tempo de isquemia, ⁽⁴¹⁾ ⁽³⁸⁾ presença de função retardada do enxerto. ⁽⁴³⁾

Uso de “stents” ureterais está associado com desenvolvimento e persistência da viremia por BKV. ⁽⁴⁵⁾

1.3.5 Imunossupressão

O uso de tacrolimo está associado com maior ocorrência de viruria. ⁽⁴⁶⁾ Estudo a partir de biópsia de enxertos com disfunção identificou um risco 13 vezes maior de ocorrência de nefropatia por BKV em pacientes com terapia tripla contendo tacrolimo e micofenolato, comparado com grupo controle. Em um relato de 8 casos de nefropatia por BK, dos quais 7 pacientes estavam em terapia com tacrolimo (apenas 27% de todos os pacientes deste centro usavam tacrolimo), há sugestão de a imunossupressão ser um possível fator associado a aumento da incidência de infecção por poliomavírus. ⁽⁵¹⁾

A conversão de ciclosporina para tacrolimo como terapia de resgate em pacientes com rejeição aguda está associada com aumento na ocorrência de nefropatia por BKV. ⁽⁵²⁾

Brennan e colaboradores, no entanto, em estudo prospectivo e randomizado com 200 pacientes comparando uso de ciclosporina e tacrolimo, não evidenciaram diferenças nos níveis de viruria e viremia por vírus BK, bem como em uma subanálise envolvendo azatioprina e micofenolato. A viremia persistente tende a ser maior no grupo que recebeu tacrolimo. ⁽⁴⁵⁾

Uso de micofenolato não esteve associado à maior ocorrência de nefropatia por BKV. ⁽⁴⁸⁾ Associado ao uso de tacrolimo e prednisona, no entanto, foi evidenciada uma incidência 8 vezes maior, implicando em um risco de 13 vezes maior para ocorrência de nefropatia por BKV comparado a grupo controle. ⁽⁵³⁾ Em transplante pediátrico foi demonstrada associação positiva em pacientes que usaram micofenolato como imunossupressão inicial, porém nos pacientes em uso atual desta medicação não se encontrou associação significativa com ocorrência de reativação urinária do BKV. ⁽³⁸⁾

Presença de células decoy, viremia ou nefropatia por BKV foi mais freqüente em pacientes que receberam tratamento anti-rejeição com anti-linfocíticos ou metilprednisolona. No entanto, o uso de preparações anti-linfocíticas para terapia de indução não se associou significativamente com presença de células decoy ou nefropatia. ⁽⁴¹⁾

Da mesma forma, a evolução do enxerto em 6 meses não foi pior em pacientes com uso de indução com anticorpos; em contraste com a literatura que descreve pior prognóstico de nefropatia por BKV com uso de anticorpos para tratamento de rejeição. Possivelmente, terapia com indução, reduzindo rejeição aguda precoce, associa-se a menor injúria no enxerto no momento da infecção viral. ⁽⁵⁴⁾

1.3.6 Infecções associadas

A infecção por citomegalovírus (CMV) está significativamente associada à infecção por vírus BK. Toyoda e colaboradores demonstraram em 12 pacientes com viremia positiva para vírus BK, 6 que apresentaram concomitantemente positividade para CMV, uma associação significativamente positiva ($p=0,001$) quando comparados a pacientes sem viremia para vírus BK (3 CMV positivos em 57 BKV negativos). Estes achados sugerem uma possível associação de fatores de risco entre as duas infecções. ⁽⁵⁵⁾

1.4 Manifestações Clínicas

Em pacientes transplantados a infecção por poliomavírus cursa, geralmente, assintomática. As manifestações mais comuns são elevações da creatinina, com disfunção renal progressiva, com alterações histológicas características, podendo ocasionar perda do enxerto, sendo esta doença renal denominada de nefropatia pelo vírus BK. ⁽⁵⁶⁾ Manifestações de sintomas comuns às

infecções virais (febre, mialgias, astenia) geralmente não estão associadas ao BK vírus.⁽⁵⁷⁾

Em alguns pacientes podem ocorrer estenose e obstrução ureteral. Acredita-se que esta possa ser secundária à ascensão do BK vírus, proveniente da bexiga.⁽⁶⁾ No entanto, estudo retrospectivo envolvendo 67 pacientes transplantados com diagnóstico de nefropatia por BKV, em média há 4 meses, verificou-se a ocorrência de estenose ureteral em 8,9% dos pacientes. Comparando-se com grupo controle, não houve diferença na incidência desta complicação (8,6%).⁽⁴⁴⁾ Outros estudos também não encontraram associação significativa.⁽⁵⁸⁾

Leucoencefalopatia focal progressiva, descrita principalmente associada ao poliomavírus JC, parece poder, também, estar associada com o vírus BK em pacientes transplantados renais.⁽⁵⁹⁾ Entretanto, trata-se de complicação rara nesta população.

Inclusões por BKV foram encontradas em úlceras no cólon e íleo de paciente transplantado renal que apresentava dor abdominal e diarreia. Após diminuição da imunossupressão, ocorreu desaparecimento das lesões e melhora clínica.⁽⁶⁰⁾

Comprometimento sistêmico por vasculopatia associado ao BKV também foi evidenciado em paciente transplantado renal. Achados de necropsia evidenciaram presença de alterações citopáticas nas células endoteliais de espécimes renais, cardíacos e musculares que, por amplificação através de PCR, demonstraram estar relacionadas ao vírus BK.⁽⁴²⁾

Potencial oncogênico do poliomavírus (JCV, BKV e SV40) para vários tipos de tumor parece existir, porém uma associação causal ainda não foi estabelecida. O BKV codifica um antígeno T grande que se liga e inativa reguladores de controle do ciclo celular, incluindo genes supressores tumorais (p53 e Rb). Além disso, DNA do BKV tem sido identificado em tumores, como verificado por Geetha e colaboradores em paciente transplantado de pâncreas e rim com tumor de bexiga metastático.⁽⁶¹⁾ Em uma criança de 9 anos transplantada renal com doador vivo e com nefropatia por BKV, manifestou-se um raro tumor de pelve metastático que respondeu significativamente bem após nefrectomia e retirada da imunossupressão.⁽⁶²⁾

1.5 Métodos diagnósticos

1.5.1 Sorologia

Atualmente, o uso da sorologia não representa uma ferramenta diagnóstica pertinente para a infecção por poliomavírus. Devido à prevalência de BKV na população geral ser elevada, cerca de 80% da população apresenta anticorpos, o uso de anticorpos específicos para BKV como teste diagnóstico torna-se limitado.⁽⁵⁶⁾

O teste mais usado é o de inibição da hemaglutinação, que detecta anticorpos IgM e IgG para antígenos capsídios virais. Estudo comparativo entre ELISA para IgG, IgA e IgM, inibição de hemaglutinação e testes de neutralização, demonstrou boa correlação entre os métodos. Os títulos do teste de neutralização corresponderam com altos níveis de anticorpos dos outros testes. Anticorpo IgA esteve relacionado com casos de reativação da doença.⁽⁶³⁾

Hariharan e colaboradores evidenciaram que pacientes com nefropatia por BKV geralmente apresentam altos títulos séricos de DNA viral e baixos títulos de IgG para BKV, que aumentam significativamente com a resolução da infecção. Os níveis de IgM, ao contrário, estão significativamente mais elevados durante o período de infecção em relação ao momento de resolução da doença.⁽⁶⁴⁾

1.5.2 Citologia urinária

Uma das características da presença de infecção associada ao poliomavírus é a presença, na urina, de células tubulares renais infectadas, provenientes dos segmentos distais e do ducto coletor, e das camadas superficiais do uroepitélio. São as chamadas células decoy.

Elas foram primeiramente descritas em 1950, por um técnico em citologia, Andrew Ricci, que trabalhava em um laboratório do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center em Nova Iorque, em pesquisa envolvendo urina de

pacientes em uma população com alto risco para câncer de bexiga. Ele observou em vários destes pacientes, células com núcleo aumentado e homogêneo que pareciam ser células neoplásicas, mas não tinham a mesma estrutura nuclear. Pelo fato destas células serem facilmente confundidas com células malignas ele denominou-as de decoy, em alusão aos “decoy ducks” (patos artificiais usados para atrair patos selvagens nas caçadas).⁽⁶⁵⁾ Em 1983, Coleman e colaboradores descobriram, através de microscopia eletrônica, que as alterações nucleares representam inclusões virais intranucleares.⁽⁶⁶⁾

Células decoy são caracterizadas por alterações nucleares das células epiteliais. A aparência característica é detecção de inclusão viral intranuclear, que é exclusivamente encontrada em células epiteliais, com exceção dos podócitos. Quatro tipos de inclusão viral:

- (1) aparência homogênea com padrão “*ground-glass*” ou vidro fosco;
- (2) aparência granular central eosinofílica com, na maioria dos casos, um halo incompleto;
- (3) mais homogêneo, com padrão granular fino;
- (4) variante vesicular com núcleo alargado e cromatina irregular.

As células contendo inclusão viral freqüentemente apresentam-se aumentadas de tamanho com núcleo polimórfico, ocorrendo com mais abundância nos segmentos tubulares distais e ductos coletores, mas também em células transicionais superficiais da pelve renal e ureter.⁽⁶⁷⁾

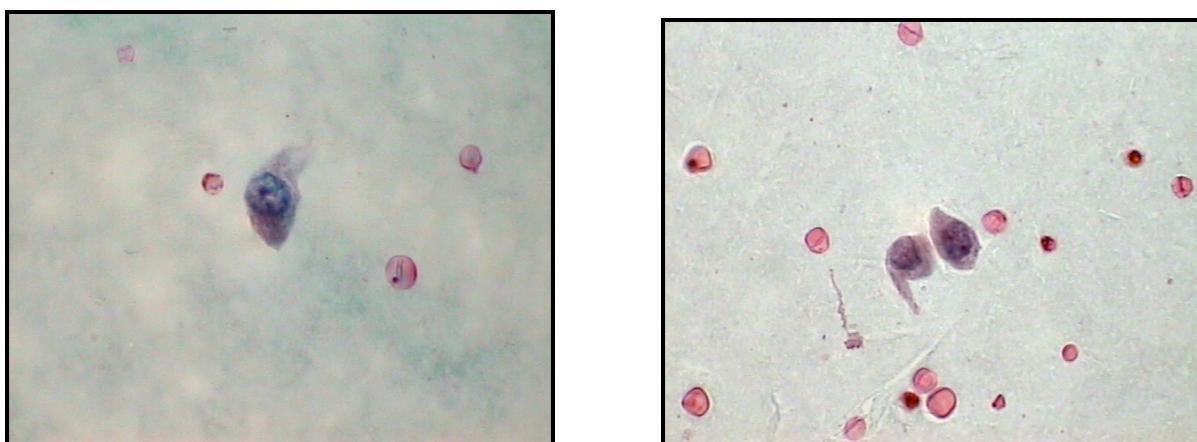


Figura 2. Citologia Urinária com poliomavírus (células decoy). Microscopia óptica 1000x. Coloração de papanicolau.

Estas células são sinais de replicação viral no uroepitélio e pré-requisito para o diagnóstico da nefropatia associada ao poliomavírus. ^{(67) (52) (68) (69)}

Drachenberg sugere que quanto maior o número de células decoy e presença de células inflamatórias no sedimento urinário, maior a probabilidade de desenvolvimento de nefropatia por BKV. ^{(70) (69)} Em pacientes com nefropatia por BKV, as células decoy são geralmente encontradas em grande número (>5 células por 10x por campo de microscopia óptica) na urina, e precedem o diagnóstico histológico de nefropatia em média em 5 a 6 meses. ⁽⁷¹⁾

No entanto, mesmo quando a presença do vírus é abundante, o seu valor preditivo positivo para nefropatia por BKV é de apenas 27 a 29%. E, apesar de baixo valor preditivo positivo para células decoy na urina, seu valor preditivo negativo para nefropatia por BKV é elevado, próximo de 100%. ^{(71) (41)} Por tanto, as células decoy são fundamentais para o diagnóstico de nefropatia por BK, mas podem ocorrer na ausência de doença clínica.

Drachenberg e colaboradores evidenciaram correlação de ausência de células decoy com biópsia negativa para BKV em 76% dos casos. Em 131 urinas positivas, 13 apresentaram ausência de BKV em biópsia à microscopia ótica e eletrônica. Em 4 ocasiões (1% do total de casos) as amostras de urina foram negativas, enquanto a biópsia demonstrava BKV (4 falsos positivos), sendo 2 destes casos devido à amostra urinária inadequada e 2 casos apresentavam doença leve na biópsia renal. Em amostras subsequentes, os resultados destas urinas foram positivas para BKV. ⁽⁶⁹⁾

Neste estudo, uma única amostra de urina demonstrando qualquer quantidade de inclusões por poliomavírus teve valor preditivo positivo de 90% e valor preditivo negativo de 99%, com sensibilidade do teste de 96,7% e especificidade de 97%. A acurácia do teste foi de 97%. ⁽⁶⁹⁾

A pesquisa de células decoy na urina pode ser realizada através de citologia urinária ou imunocitoquímica, com microscopia óptica e eletrônica. Fogazzi e colaboradores descreveram técnica de pesquisa de células decoy com método de microscopia de contraste de fase. Este método parece proporcionar melhor diferenciação entre estas células e as células tubulares renais e transicionais da bexiga. ⁽⁷²⁾

A citologia urinária é uma ferramenta clínica extremamente útil, de simples realização, que não requer equipamentos especiais, e de baixo custo. ^{(56) (70)}

⁽⁷³⁾ Através do método de coloração de papanicolau, as células decoy mostram um núcleo aumentado, ocupado por uma inclusão basofílica cercada de cromatina conferindo um padrão de vidro fosco, e algumas vezes, cercada por um halo com a inclusão apresentando um aspecto vesicular, com redução ou destruição do citoplasma adjacente. ⁽⁷²⁾

A imunocitoquímica, através de técnica de imunoperoxidase, pode ser utilizada para confirmar a presença das células decoy na urina, principalmente em casos duvidosos. Através da utilização de uma imunoglobulina de camundongo primária (NCL-JCBK) e anticorpo secundário anti-IgG de camundongo, o núcleo da célula infectada pelo vírus assume coloração marrom, diferente das demais estruturas urinárias. ⁽⁷³⁾

Estudos recentes sugerem que a persistência de positividade para células decoy e/ou DNA do vírus na urina em quantidades elevadas parecem estar associadas com nefropatia por BKV. ⁽⁴¹⁾ ⁽⁶⁹⁾ Foi evidenciado que pacientes com grande número de inclusões virais na urina e nefrite intersticial associado à poliomavírus apresentam piora mais rápida de função do enxerto em relação a grupos controle. ⁽⁷⁰⁾

No Brasil, Mazzali e colaboradores, estudaram 105 pacientes entre janeiro e dezembro de 2002 com função renal estável e em acompanhamento ambulatorial em média há 13 meses. Verificaram persistência de células decoy na urina em 37,5% dos pacientes. ⁽⁷³⁾

1.5.3 Histologia Renal

O diagnóstico de nefropatia por BK deve ser estabelecido através da identificação histológica, em biópsia renal. ⁽⁶⁷⁾ ⁽⁷¹⁾ ⁽⁷⁰⁾ ⁽⁶⁸⁾ Achados de corpúsculos de inclusão viral intranuclear nas células epiteliais, associados à necrose focal das células tubulares são fortemente sugestivos. A medula renal é, durante os estágios mais precoces da doença, o local preferencial para localização do vírus. Após, ocorre disseminação para o córtex renal e, então, aparecem alterações citopáticas nos túbulos renais proximais. ⁽³⁴⁾ Em aproximadamente 70% dos casos o envolvimento do córtex e medula ocorrem simultaneamente. ⁽⁷⁴⁾ Dano tubular

importante está associado com tubulite desproporcional e ausência de rejeição vascular. ⁽⁷⁰⁾

Alguns autores sugeriram uma classificação da nefropatia por BKV, de acordo com os seguintes padrões histológicos: ^{(75) (68)}

PADRÃO A: Alterações citopáticas/citolíticas com inflamação ausente ou mínima: poucos túbulos contendo uma ou mais células com alterações citopáticas por poliomavírus (cariomegalia, hipercromasia, inclusões nucleares basofílicas) e alterações citolíticas associadas (necrose celular individual, apoptose, células mumificadas e cromatina borrada).

PADRÃO B: Alterações citopáticas/citolíticas associadas à inflamação e atrofia túbulo-intersticial difusa: apresentam agrupamentos de túbulos com alterações citopáticas/citolíticas (conforme descrito acima) com padrão focal ou difuso associado com infiltrados inflamatórios, predominantemente linfomononuclear. Em alguns casos, também ocorre tubulite focal, desproporcional ao grau de alterações citopáticas. As áreas afetadas apresentam graus variados de atrofia túbulo-intersticial. Áreas de parênquima infectado e outras normais revelam um padrão de fibrose em faixa.

Subdivide-se em padrões B1, B2 e B3 dependendo de ocorrência de atrofia/fibrose intersticial ou inflamação na biópsia menor que 25%, entre 26-50% e maior que 50%, respectivamente.

PADRÃO C: Esclerose do enxerto (“*end-stage*” BKV): alterações citopáticas como base de fibrose intersticial intensa/atrofia tubular e inflamação linfomononuclear. O estágio final de doença por poliomavírus é indistinguível de alterações de esclerose do enxerto em doença terminal do rim.

Estes padrões de comprometimento renal na biópsia por poliomavírus estão diretamente correlacionados com a função renal, sendo que, pacientes com maior grau de severidade na biópsia apresentam maior perda de função do enxerto. Um baixo escore na biópsia está associado com resolução da infecção viral. ⁽⁷⁴⁾

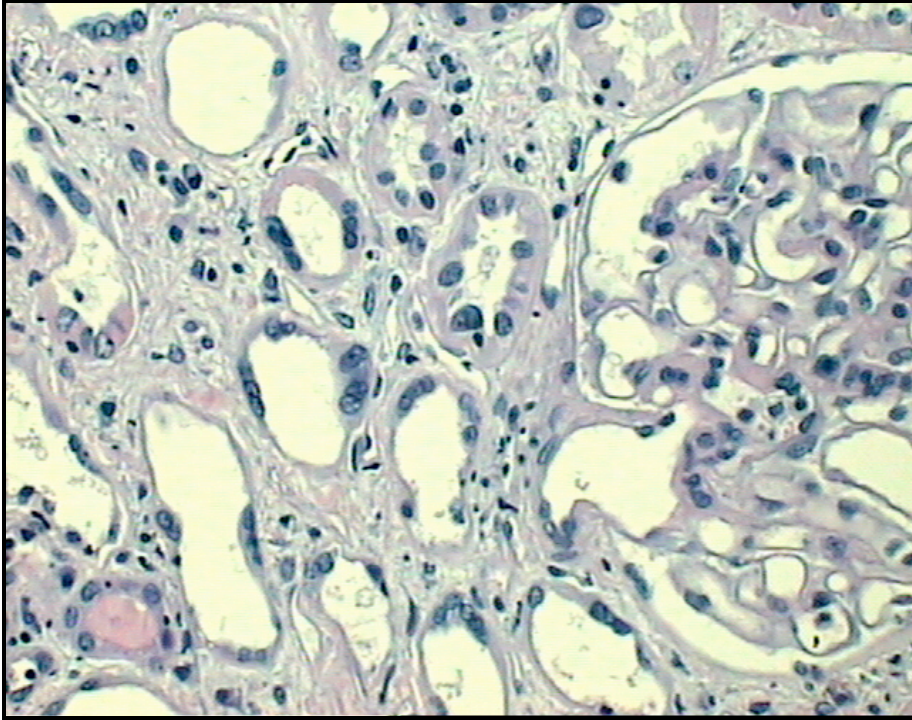


Figura 3 – Padrão histológico B de nefropatia por vírus BK. (Microscopia óptica 400x)

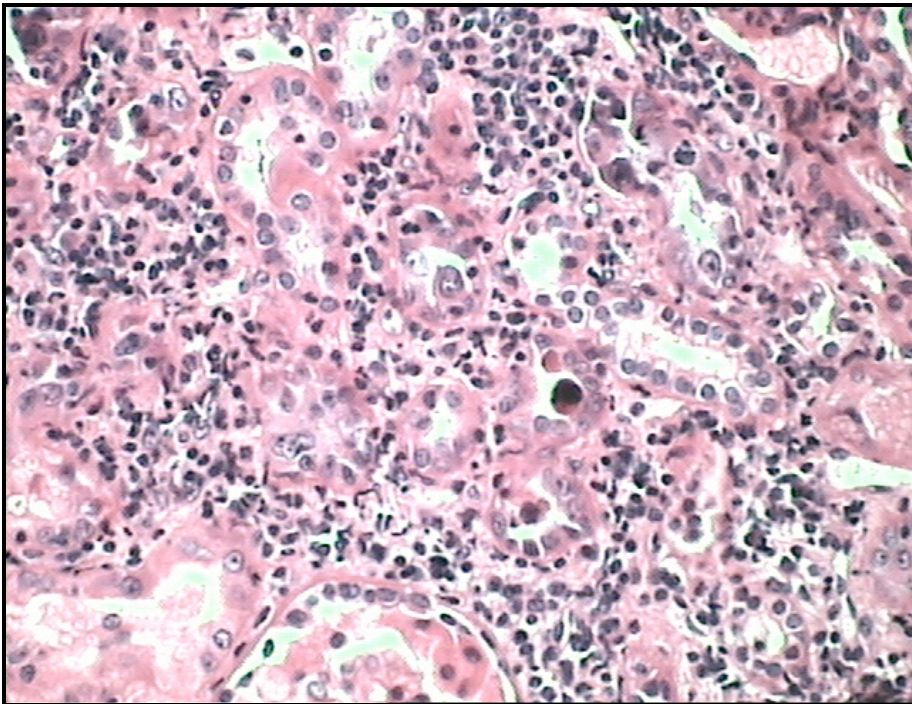


Figura 4 – Padrão Histológico C de nefropatia por vírus BK. (Microscopia óptica 200x)

A biópsia renal, além de ser imprescindível para o diagnóstico de nefropatia por BK, proporciona o diagnóstico diferencial com outras patologias, como rejeição aguda, toxicidade por drogas e recorrência de doença de base. No entanto, sua sensibilidade é limitada devido à ocorrência focal da nefropatia por BKV. ⁽¹³⁾

A confirmação diagnóstica adjuvante da nefropatia por BKV pode ser feita por imunohistoquímica ou microscopia eletrônica. A imunohistoquímica utiliza anticorpos para identificar antígenos de BK vírus, marcando com coloração semelhante à descrita anteriormente na imunocitoquímica. À microscopia eletrônica, o poliomavírus é visto como partículas cristalóides de aproximadamente 40nm de diâmetro no interior dos núcleos, sendo diferenciado dos demais vírus pelo tamanho característico. ⁽³⁴⁾

1.5.4 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

1.5.4.1 PCR urinário (viruria)

Realização de PCR urinário qualitativo não ofereceu informação diagnóstica adicional em relação à citologia urinária em estudo realizado por Drachenberg e colaboradores. Ambos os métodos são ferramentas consideradas úteis para “screening” em pacientes transplantados. O PCR urinário, no entanto, permite a diferenciação entre poliomavírus BK e JC. ⁽⁷⁶⁾

O PCR quantitativo, entretanto, quando comparado com citologia urinária na detecção de viruria, demonstrou maior sensibilidade, detectando 18% a mais de vírus BK, em amostras de urina. A especificidade e valor preditivo positivo do PCR na detecção de viruria foram de 100% considerando-se a histologia como padrão-ouro. Falsos negativos ocorreram em espécies com baixa celularidade, com contaminação vaginal ou com baixa carga viral. Quando se admite o PCR como padrão-ouro, verifica-se sensibilidade e valor preditivo negativo para células decoy na urina de, respectivamente, 41,9 e 82,8%. ⁽⁷⁷⁾ Ainda existem poucos estudos comparando PCR quantitativo com outras técnicas na avaliação de viruria.

1.5.4.2 PCR plasmático (viremia)

A detecção de BK vírus através de técnicas de PCR no plasma é uma ferramenta útil no diagnóstico, pois sua positividade geralmente indica ocorrência da nefropatia pelo vírus. Foi demonstrado que pacientes que se tornaram PCR plasmático positivos para BK vírus, permaneceram positivos durante o curso de nefropatia por BK, tornando-se novamente negativos com o desaparecimento da nefropatia por BKV. ⁽⁵⁸⁾ Todos os pacientes com nefropatia por BK apresentam PCR plasmático positivo para BK vírus. ^{(13) (34) (56) (58)}

Nickeleit e colaboradores estudaram, retrospectivamente, 9 pacientes com biópsia compatível com nefropatia por BK e concluíram que PCR para DNA de BK vírus no plasma tem sensibilidade de 100% e especificidade de 88%, com valor preditivo positivo de 82% e valor preditivo negativo de 100%, quando comparados com diagnóstico por biópsia. ^{(41) (58)} Em estudo prospectivo, Hirsch e colaboradores confirmaram estes achados, porém demonstraram um valor preditivo positivo menor, 50%. Verificaram, ainda, que pacientes com biópsia com nefropatia por BK têm PCR acima de 7700 cópias/ml de BK vírus no plasma comparados com pacientes sem nefropatia, que apresentam níveis inferiores a 2000 cópias/ml. ⁽⁴¹⁾ Viremia superior a 10.000 cópias/ml de BK vírus está fortemente correlacionado com nefropatia por BKV. ⁽⁷⁴⁾

Em estudo de Baldani e colaboradores, uma nova técnica de PCR quantitativo foi avaliada na urina e sangue de 201 pacientes transplantados renais. Destes, 6,9% apresentaram PCR positivo no plasma. Foi demonstrado, para diagnóstico de nefropatia por BKV, sensibilidade de 100%, especificidade de 96%, valor preditivo negativo de 50% e valor preditivo positivo de 100% para PCR sangüíneo. Comparado ao PCR na urina, no sangue o valor preditivo positivo do PCR plasmático para detecção de poliomavírus é consideravelmente maior, 50% versus 4,3%. ⁽⁷⁸⁾

Novas técnicas de PCR, como o PCR tempo real, têm sido descritas. Estes testes permitem diagnosticar e quantificar genomas de poliomavírus por células humanas de maneira rápida e específica. ^{(79) (80)}

Verificação de VP1 RNA, por PCR em tempo real, nas células urinárias parece ser uma nova ferramenta, não invasiva, para diagnóstico de nefropatia por BKV. A sensibilidade para prever nefropatia associada ao poliomavírus foi de 93,8% e especificidade de 93,9%.⁽⁸¹⁾ No entanto, o uso de extração de RNA de células da urina é suscetível a resultados superestimados, além dos altos custos, que limitam esta técnica.⁽⁸²⁾

1.6 Diagnóstico

O diagnóstico de nefropatia por BK é realizado, geralmente, no final do primeiro ano de transplante, em média entre 10 e 16 meses, podendo variar de 2 até 52 meses.^{(50) (44) (83) (84) (85) (54) (74) (41)}

A presença do vírus na urina sempre precede o diagnóstico de nefropatia por poliomavírus. Hirsch demonstrou que a presença de citologia urinária positiva e DNA viral urinário precedem o diagnóstico de viremia em cerca de 4 semanas e o histológico em 12 semanas.⁽⁴¹⁾

Existe uma recomendação que a procura por células decoy deve ser realizada a cada 3 meses durante os dois primeiros anos de transplante e anualmente pelos próximos 3 anos, bem como nos pacientes que desenvolvem disfunção do enxerto.^{(86) (68)} Citologia urinária e presença de viruria detectada por PCR são testes igualmente úteis para screening de poliomavírus, porém, o último consegue distinguir entre as formas JC e BK do vírus, com um custo, no entanto, mais elevado.⁽⁷⁶⁾

Um teste de “*screening*” positivo deve ser seguido da realização de PCR sanguíneo (viremia) e se este for positivo a realização de biópsia renal.⁽⁶⁸⁾ A persistência de células decoy por um período de 3 meses na urina, por sua vez, também pode ser considerado indicativo da realização de biópsia renal.⁽⁷⁶⁾ Entretanto, persistência de positividade de teste de screening urinário associado à positividade de viremia é diagnóstico presuntivo de nefropatia por BKV, mesmo com biópsia negativa.^{(74) (68)}

1.7 Epidemiologia

1.7.1 Prevalência de sorologia para BKV

A prevalência de anticorpos para BKV na população geral varia entre 70 e 98%. Hirsch e colaboradores encontraram sorologia positiva em 77% dos pacientes pré-transplante. ⁽⁴¹⁾ Ginevri e colaboradores, em estudo em transplantados pediátricos, evidenciaram 70% dos receptores e 67,5% dos doadores com sorologia positiva pré-transplante. ⁽³⁸⁾

A soropositividade para vírus BK aumenta rapidamente com o aumento da idade das crianças, atingindo uma prevalência de anticorpos de até 98% entre 7 e 9 anos de idade. Há relato de, em gestantes com mais de 25 anos de idade, prevalência de 96%. ⁽⁸⁷⁾

1.7.2 Prevalência de células decoy

A prevalência de células decoy em citologia urinária em pacientes transplantados renais está descrita na literatura como sendo, aproximadamente, entre 20 e 50%. Em geral, os estudos empregam microscopia óptica, mas a microscopia eletrônica também tem sido utilizada por alguns autores. ⁽⁶⁹⁾ ⁽⁸⁸⁾ Estudo comparativo demonstrou sensibilidade de 83% e especificidade de 90%, com valor preditivo positivo de 63% e valor preditivo negativo de 96%, para citologia urinária avaliada por microscopia óptica em relação à microscopia eletrônica. ⁽⁸⁹⁾

Hirsch e colaboradores, em estudo prospectivo com 78 pacientes transplantados de rim na Suíça no período entre 1999 e 2000, verificaram presença de células decoy na urina em 23 pacientes, com prevalência de 29,5%, em média 16 semanas pós-transplante (2 a 69 semanas). ⁽⁴¹⁾

Alexander e colaboradores realizaram estudo retrospectivo com crianças transplantadas em Toronto, acompanhadas ambulatorialmente entre

outubro de 2003 e setembro de 2004. A prevalência de células decoy, em citologia urinária, vistas por microscopia eletrônica foi de 19,2%.⁽⁸⁸⁾

Drachemberg e colaboradores analisaram 349 pacientes transplantados em acompanhamento ambulatorial há no mínimo 12 meses e encontraram uma prevalência de 51,2% para positividade de células decoy na urina.⁽⁷⁶⁾

Em um estudo de coorte envolvendo, 201 transplantados de rim na Itália, foi verificada a prevalência de células Decoy, DNA urinário e viremia para BKV de 33,3%, 57,7% e 7,0%, respectivamente.⁽⁷⁸⁾

Recentemente, em um estudo iraniano com 362 transplantados de rim, 26,6% dos pacientes apresentaram citologia positiva para células decoy, sendo que em 12,2% a positividade ocorreu no primeiro mês de transplante.⁽⁹⁰⁾

Em estudo comparativo entre citologia urinária e PCR urinário para poliomavírus verificou-se superioridade da avaliação do DNA nas amostras em relação à microscopia. Em 100 espécimes de urina, amostra foi escassa para células em 30%, com presença de 8% de células definitivamente decoy e 5% de prováveis células decoy. PCR quantitativo foi positivo em 31% das amostras.⁽⁷⁷⁾

1.7.3 Prevalência de virúria e viremia por BKV

Em estudo retrospectivo com 100 transplantados pediátricos de rim realizando PCR urinário e sérico, virúria foi diagnosticado em 26% e viremia em 5% dos pacientes.⁽³⁸⁾

Em estudo prospectivo avaliando incidência de infecção, por poliomavírus, foram randomizados 200 pacientes e acompanhados por 1 ano. Virúria foi verificado em 70 pacientes (35%) e viremia em 11,5%.⁽⁴⁵⁾

No estudo prospectivo de Hirsch e colaboradores, entre 1999 e 2000, foi verificado presença de viremia em 10 de 78 pacientes (12,8%). O tempo médio de diagnóstico foi de 23 (4 a 73) semanas pós-transplante.⁽⁴¹⁾

1.7.4 Prevalência de nefropatia por BKV

A prevalência estimada de nefropatia associada ao BKV está entre 1,1 e 8% nos receptores de rim.

Mengel e colaboradores descreveram uma prevalência de apenas 1,1% em pacientes transplantados de rim em estudo retrospectivo de imunohistoquímica em 1276 biópsias renais realizadas entre 1999 e 2001. ⁽⁵³⁾ Matlotsz e colaboradores obtiveram a mesma prevalência em 89 transplantes entre 2001 e 2002 na Polônia. ⁽⁴⁸⁾

Drachenberg e colaboradores verificaram incidência de nefropatia associada ao BKV em 1,9% dos pacientes transplantados em estudo com biópsia realizada em 96% dos casos por perda aguda ou crônica de função renal. ⁽⁷⁰⁾ Neste mesmo estudo, encontraram uma prevalência de 20% de decoy em pacientes transplantados com função renal estável.

Trofe e colaboradores, em estudo unicêntrico retrospectivo com 504 transplantados renais e 106 transplantados de pâncreas e rim biopsiados entre 1994 e 1999 verificaram prevalência total de 2,1% de nefropatia por BKV. A prevalência entre transplantados de pâncreas-rim foi de 7,5%, sendo significativamente maior quando comparada com a prevalência entre os pacientes transplantados renais, de 1% ($p=0,0015$). ⁽⁹¹⁾

Em 672 transplantados renais na Mayo Clinic entre 1996 e 2001 em acompanhamento com biópsia foram diagnosticados 18 casos de nefropatia por BKV (2,7%). Destes, 8 eram pacientes acompanhados com biópsia protocolar e 10 biopsiados por aumento do nível de creatinina. ⁽⁵⁴⁾

Em 100 transplantados pediátricos, PCR séricos e urinários realizados em amostras coletadas em diferentes momentos de transplante evidenciaram prevalência de 5% de viremia e 26% de viruria. Dos pacientes com viremia positiva, 3 apresentaram biópsia compatível com nefropatia por BKV. ⁽³⁸⁾ Prevalência de 3% coincide com a verificada por Nিকেleit e colaboradores, em população de transplantados adultos. ⁽⁷¹⁾ Em transplantados pediátricos, um estudo de coorte realizado por Smith e colaboradores, entre os anos de 1994 e 2002, encontrou incidência de 5,7% em 105 pacientes. ⁽⁴⁰⁾

Prevalência de nefropatia por poliomavírus semelhante foi verificada por Sener e colaboradores, Rahamimov e colaboradores e Kang e colaboradores (3,7, 3,8 e 3,9%). No primeiro relato, foram diagnosticados 8 casos de nefropatia em 216 transplantados de rim, entres os anos de 2000 e 2003. No segundo, evidenciou-se 4 casos entre 106 pacientes transplantados, no período de 1 ano, em biópsias renais e confirmados por PCR sérico ou urinário. No terceiro, 3 pacientes em 77 transplantes utilizando-se citologia, biópsia com microscopia eletrônica e imunohistoquímica.^{(83) (85) (92)}

Ramos e colaboradores em análise retrospectiva encontraram prevalência de 5,1% nos 67 pacientes com nefropatia por BKV em 1315 transplantes de rim realizados entre 1997 e 2001. Semelhante resultado achado por Kim e colaboradores, na Coréia, em estudo com 169 transplantados com prevalência de 5,3%.⁽⁹³⁾

Prevalências maiores de nefropatia associado ao vírus BK foram verificados por Namba e colaboradores no Japão, 6 casos em 87 transplantes (6,9%), Baldanti e colaboradores, em coorte de 14 casos com 201 transplantados renais (6,9%), Li e colaboradores do *National Institute of Health*, 6 casos em 91 transplantes (7%) e Maiza e colaboradores na França, 2 casos em 28 pacientes biopsiados por elevação de 20% da creatinina (7,1%).^{(94) (78) (95) (96)}

Hirsch e colaboradores, por sua vez, estudaram, prospectivamente, 78 transplantados renais. Em análise de Kaplan-Meyer foi estimado que a prevalência de nefropatia por BKV nestes pacientes foi de 8%.⁽⁴¹⁾

1.8 Tratamento

Redução da imunossupressão, permitindo ao sistema imune do hospedeiro combater a infecção viral, é a estratégia mais frequentemente empregada, com algum sucesso. ⁽⁶⁸⁾ ⁽⁴⁵⁾ No entanto, redução da imunossupressão implica em aumento de risco de desenvolvimento rejeição aguda concomitante. ⁽⁷¹⁾ ⁽⁴⁴⁾

Cidofovir, em uma dose 10-25% da dose usual (0,25-1mg/kg/dose) cada 1 a 3 semanas, tem sido usado com resultados satisfatórios. Em relato de dois casos de pacientes tratados inicialmente com redução da imunossupressão sem sucesso, baixas doses de cidofovir foram responsáveis por redução da presença de DNA viral e estabilização da função renal, sem toxicidade. ⁽⁹⁷⁾ Em estudo não randomizado com acompanhamento médio de 2 anos, 8 pacientes foram tratados com cidofovir associado com diminuição da imunossupressão, não apresentando nenhuma perda de enxerto; 13 pacientes não receberam cidofovir, dos quais 9 apresentaram perda de enxerto com tempo médio de 8 meses ($p=0,004$). ⁽⁹⁸⁾

Tratamento com leflunomida, na dose diária de 20-60mg, em pacientes com nefropatia por BKV reduz significativamente a carga viral no sangue e na urina. ⁽⁹⁹⁾ ⁽⁸⁴⁾ Não houve diferença no tratamento com leflunomida, apenas, e leflunomida mais cidofovir em acompanhamento de 12 meses. Em acompanhamento de 6 a 40 meses, perda de enxerto ocorreu em 15%. Ausência de toxicidade renal e menor redução da imunossupressão são vantagens em relação ao uso de cidofovir isoladamente. ⁽⁸⁴⁾

Imunoglobulina humana (IVIG) tem sido usada para tratamento de nefropatia por BKV com resultados iniciais satisfatórios. Relato de oito casos de pacientes com nefropatia por BKV que receberam imunoglobulina humana revelou 88% destes com enxerto funcional, porém, sem melhora da função renal, em acompanhamento médio de 15 meses. ⁽⁸³⁾

O uso de quinolonas pode estar associado com redução da carga viral na urina e no sangue. ⁽¹⁰⁰⁾ Ciprofloxacina esteve associada com redução da reativação de BKV após transplante de medula óssea e, *in vitro*, comparada com cidofovir, ciprofloxacina apresentou inibição de BKV de maneira relativamente mais fraca, podendo, eventualmente, ter utilidade para profilaxia. ⁽¹⁰⁰⁾

O tratamento farmacológico da nefropatia por poliomavírus ainda necessita da realização de estudos randomizados e prospectivos, comparativos para melhor avaliação da eficácia das terapias existentes até o momento. ^{(97) (98) (99) (84) (83) (100)}

1.9 Evolução e prognóstico

Estudos indicam um prognóstico ruim, com perda de enxerto renal variando de 10-80%. ^{(68) (93)} Análise de sobrevida de enxertos renais, através de curva de Kaplan-Meier, demonstrou que pacientes com nefropatia por BKV têm uma sobrevida de enxerto menor que pacientes controles apresentando disfunção renal, sem evidências de BKV ($p=0,0004$). Em estudo retrospectivo comparativo evidenciou-se, ainda, sobrevida média de 47,8 meses e 88,7 meses, respectivamente, para pacientes com e sem presença de BKV. ⁽⁴⁴⁾

Na ausência de intervenção, perda de enxerto tem sido evidenciada em aproximadamente 45% dos casos em uma média de 6 meses de diagnóstico. ⁽⁷¹⁾ E, na ausência de medicamentos antivirais, terapia com redução da imunossupressão para nefropatia por BKV está associado com sobrevida do enxerto renal de 35 a 67% em 1 ano de diagnóstico. ^{(52) (51) (84)} Diagnóstico precoce de replicação de poliomavírus permite intervenção precoce com diminuição da perda de enxerto. ^{(74) (68) (101)} Entretanto, conforme mencionado acima, a real eficácia destas terapias, ainda deverá ser estabelecida através de estudos adequadamente desenhados.

1.10 Transplantes na PUCRS

O Hospital São Lucas da PUCRS realiza transplantes renais desde 27 de abril de 1978 e, desde 17 de junho de 2002, realiza transplantes de pâncreas. Em 13 de fevereiro de 2003 realizou o primeiro transplante de pâncreas isolado do Rio Grande do Sul.

Até o presente momento, foram realizados, no Hospital São Lucas da PUCRS, 760 transplantes renais, sendo 47 transplantes simultâneos de pâncreas e rim, e 18 transplantes de pâncreas isolado. Destes, 563 foram com doadores falecidos, 174 com doadores vivos relacionados e 23 doadores vivos não-relacionados. Em 40 casos de doação renal com doador vivo, a retirada foi feita por videolaparoscopia.

Em novembro de 2003 foi realizado o primeiro diagnóstico de nefropatia por BKV em um paciente de 27 anos transplantado de pâncreas e rim há 4 meses, que apresentava biópsia renal com importante infiltrado túbulo-intersticial e destruição considerável de parênquima renal, e à imunohistoquímica (realizada pela Dra Marilda Mazzali, na UNICAMP) demonstrava grande quantidade de celularidade positiva para poliomavírus (Figura 5).

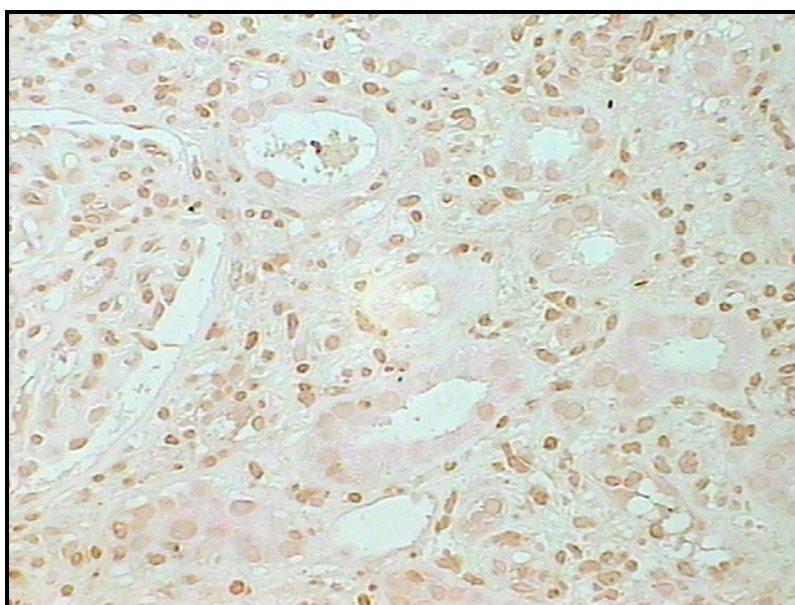


Figura 5 – Imunohistoquímica positiva para poliomavírus, em biópsia renal de paciente transplantado de pâncreas e rim do HSL-PUCRS. Aumento de 100x. (Cedido pela Dra. Marilda Mazzali).

1.11 Justificativa

A pesquisa de células decoy na urina é uma ferramenta clínica útil, principalmente como “screening”, de baixo custo e fácil disponibilidade, sem necessidade de equipamentos sofisticados. A importância deste teste, como já descrito, recai sobre a possibilidade de avaliar-se um sinal de replicação do poliomavírus no trato urinário, o que é um pré-requisito para doença viral (nefropatia por BK), de forma não invasiva.

No Brasil, apenas um estudo unicêntrico com 80 pacientes acompanhados prospectivamente avaliou a ocorrência de infecção por poliomavírus em transplantados renais. Seus dados, no entanto, são limitados pelo número de pacientes. Devido ao aumento da ocorrência desta patologia e a importância do seu diagnóstico em pacientes transplantados renais, consideramos importante a sua pesquisa em nosso meio.

1.12 Referências bibliográficas

1. Randhawa P, Vats A, Shapiro R, Weck K, Scantlebury V. BK Virus: Discovery, Epidemiology, and Biology. *GRAFT* 2002;5:s19-27.
2. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. Principles and practice of clinical virology. 4th ed. Chichester ; New York: Wiley; 2000.
3. Dugan AS, Eash S, Atwood WJ. Update on BK virus entry and intracellular trafficking. *Transpl Infect Dis* 2006;8(2):62-7.
4. Ahsan N, Shah KV. Polyomaviruses: An Overview. *Graft* 2002;5:S9-18.
5. Padgett BL, WD, Zu Rhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet* 1971;1:1257-60.
6. Gardner SD, FA, Coleman DV, et al. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971;1:1253-7.
7. Rosen S, HW, Krensky AM, et al. Tubulo-interstitial nephritis associated with polyomavirus (BK type) infection. *New England Journal of Medicine* 1983;308:1192-96 Tubulo-interstitial nephritis associated with polyomavirus (BK type) infection.
8. Purighalla R, Shapiro R, McCauley J, Randhawa P. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. *Am J Kidney Dis* 1995;26(4):671-3.
9. Agha I, Brennan DC. BK Virus and Current Immunosuppressive Therapy. *GRAFT* 2002;5:S65-72.
10. Shah KV, Daniel RW, Warszawski RM. High prevalence of antibodies to BK virus, an SV40-related papovavirus, in residents of Maryland. *J Infect Dis* 1973;128(6):784-7.
11. Portolani M, Marzocchi A, Barbanti-Brodano G, La Placa M. Prevalence in Italy of antibodies to a new human papovavirus (BK virus). *J Med Microbiol* 1974;7(4):543-6.
12. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DW, et al. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *J Med Virol* 2003;71(1):115-23.
13. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003;3(10):611-23.
14. Shinohara T, Matsuda M, Cheng SH, Marshall J, Fujita M, Nagashima K. BK virus infection of the human urinary tract. *J Med Virol* 1993;41(4):301-5.

15. Heritage J, Chesters PM, McCance DJ. The persistence of papovavirus BK DNA sequences in normal human renal tissue. *J Med Virol* 1981;8(2):143-50.
16. Dorries K, Vogel E, Gunther S, Czub S. Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals. *Virology* 1994;198(1):59-70.
17. Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. *J Med Virol* 1982;10(2):91-9.
18. Elsner C, Dorries K. Evidence of human polyomavirus BK and JC infection in normal brain tissue. *Virology* 1992;191(1):72-80.
19. De Mattei M, Martini F, Tognon M, Serra M, Baldini N, Barbanti-Brodano G. Polyomavirus latency and human tumors. *J Infect Dis* 1994;169(5):1175-6.
20. Lee W, Langhoff E. Polyomavirus and Human Cancer. *GRAFT* 2002;5:S73.
21. Sundsfjord A, Osei A, Rosenqvist H, Van Ghelue M, Silsand Y, Haga HJ, et al. BK and JC viruses in patients with systemic lupus erythematosus: prevalent and persistent BK viremia, sequence stability of the viral regulatory regions, and nondetectable viremia. *J Infect Dis* 1999;180(1):1-9.
22. Zhong S, Zheng HY, Suzuki M, Chen Q, Ikegaya H, Aoki N, et al. Age-Related Urinary Excretion of BK Polyomavirus by Non-immunocompromised Individuals. *J Clin Microbiol* 2006.
23. Barouch DH, Faquin WC, Chen Y, Koralnik IJ, Robbins GK, Davis BT. BK virus-associated hemorrhagic cystitis in a Human Immunodeficiency Virus-infected patient. *Clin Infect Dis* 2002;35(3):326-9.
24. Bratt G, Hammarin AL, Grandien M, Hedquist BG, Nennesmo I, Sundelin B, et al. BK virus as the cause of meningoencephalitis, retinitis and nephritis in a patient with AIDS. *Aids* 1999;13(9):1071-5.
25. Hedquist BG, Bratt G, Hammarin AL, Grandien M, Nennesmo I, Sundelin B, et al. Identification of BK virus in a patient with acquired immune deficiency syndrome and bilateral atypical retinitis. *Ophthalmology* 1999;106(1):129-32.
26. Behzad-Behbahani A, Klapper PE, Vallely PJ, Cleator GM, Khoo SH. Detection of BK virus and JC virus DNA in urine samples from immunocompromised (HIV-infected) and immunocompetent (HIV-non-infected) patients using polymerase chain reaction and microplate hybridisation. *J Clin Virol* 2004;29(4):224-9.
27. Sundsfjord A, Flaegstad T, Flo R, Spein AR, Pedersen M, Permin H, et al. BK and JC viruses in human immunodeficiency virus type 1-infected persons: prevalence, excretion, viremia, and viral regulatory regions. *J Infect Dis* 1994;169(3):485-90.

28. Erard V, Storer B, Corey L, Nollkamper J, Huang ML, Limaye A, et al. BK virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients: frequency, risk factors, and association with postengraftment hemorrhagic cystitis. *Clin Infect Dis* 2004;39(12):1861-5.

29. Arthur RR, Shah KV, Baust SJ, Santos GW, Saral R. Association of BK viremia with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med* 1986;315(4):230-4.

30. Singh D, Kiberd B, Gupta R, Alkudair W, Lawen J. Polyoma virus-induced hemorrhagic cystitis in renal transplantation patient with polyoma virus nephropathy. *Urology* 2006;67(2):423 e11-423 e12.

31. Jani JC, Guo M, Siddiqui NH. Polyomavirus in a lung transplant patient. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128(12):1463-4.

32. Schwarz A, Mengel M, Haller H, Niedermeyer J. Polyoma virus nephropathy in native kidneys after lung transplantation. *Am J Transplant* 2005;5(10):2582-5.

33. Limaye AP, Smith KD, Cook L, Groom DA, Hunt NC, Jerome KR, et al. Polyomavirus nephropathy in native kidneys of non-renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5(3):614-20.

34. Nicleleit V, Singh HK, Mihatsch MJ. Polyomavirus nephropathy: morphology, pathophysiology, and clinical management. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003;12(6):599-605.

35. Andrews CA, Shah KV, Daniel RW, Hirsch MS, Rubin RH. A serological investigation of BK virus and JC virus infections in recipients of renal allografts. *J Infect Dis* 1988;158(1):176-81.

36. Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C, Gaudreault-Keener M, Schnitzler MA, Major EO, et al. Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia. *Am J Transplant* 2005;5(9):2213-21.

37. Shah KV. Human polyomavirus BKV and renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(6):754-5.

38. Ginevri F, De Santis R, Comoli P, Pastorino N, Rossi C, Botti G, et al. Polyomavirus BK infection in pediatric kidney-allograft recipients: a single-center analysis of incidence, risk factors, and novel therapeutic approaches. *Transplantation* 2003;75(8):1266-70.

39. Hussain S, Bresnahan BA, Cohen EP, Hariharan S. Rapid kidney allograft failure in patients with polyoma virus nephritis with prior treatment with antilymphocyte agents. *Clin Transplant* 2002;16(1):43-7.

40. Smith JM, McDonald RA, Finn LS, Healey PJ, Davis CL, Limaye AP. Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2004;4(12):2109-17.

41. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347(7):488-96.

42. Petrogiannis-Haliotis T, Sakoulas G, Kirby J, Koralknik IJ, Dvorak AM, Monahan-Earley R, et al. BK-related polyomavirus vasculopathy in a renal-transplant recipient. *N Engl J Med* 2001;345(17):1250-5.

43. Awadalla Y, Randhawa P, Ruppert K, Zeevi A, Duquesnoy RJ. HLA mismatching increases the risk of BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2004;4(10):1691-6.

44. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hamze O, Fink JC, Klassen DK, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(8):2145-51.

45. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5(3):582-94.

46. Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebille V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5(8):1926-33.

47. Atencio IA, Shadan FF, Zhou XJ, Vaziri ND, Villarreal LP. Adult mouse kidneys become permissive to acute polyomavirus infection and reactivate persistent infections in response to cellular damage and regeneration. *J Virol* 1993;67(3):1424-32.

48. Matlosz B, Mroz A, Durluk M, Wesolowska A, Sadowska A, Cieciora T, et al. Polyomavirus BK infection. *Transplant Proc* 2003;35(6):2196-8.

49. Priftakis P, Bogdanovic G, Tyden G, Dalianis T. Polyomaviruria in renal transplant patients is not correlated to the cold ischemia period or to rejection episodes. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):406-7.

50. Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA, Zhu YR, Bresnahan BA, Cohen EP. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005;68(4):1834-9.

51. Barri YM, Ahmad I, Ketel BL, Barone GW, Walker PD, Bonsib SM, et al. Polyoma viral infection in renal transplantation: the role of immunosuppressive therapy. *Clin Transplant* 2001;15(4):240-6.

52. Binet I, Nিকেleit V, Hirsch HH, Prince O, Dalquen P, Gudat F, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999;67(6):918-22.

53. Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, Eden G, Schwarz A, Haller H, et al. Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(6):1190-6.

54. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers WK, Gloor JM, et al. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int* 2003;64(2):665-73.

55. Toyoda M, Puliyananda DP, Amet N, Baden L, Cam V, Radha R, et al. Co-infection of polyomavirus-BK and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005;80(2):198-205.

56. Hariharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. *Kidney Int* 2006;69(4):655-62.

57. Randhawa P, Brennan DC. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. *Am J Transplant* 2006;6(9):2000-5.

58. Nickenleit V, Klimkait T, Binet IF, Dalquen P, Del Zenero V, Thiel G, et al. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000;342(18):1309-15.

59. Hix JK, Braun WE, Isada CM. Delirium in a renal transplant recipient associated with BK virus in the cerebrospinal fluid. *Transplantation* 2004;78(9):1407-8.

60. Kim GY, Peji J, Nuovo G, Thomas F. BK virus colonic ulcerations. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2(2):175-7.

61. Geetha D, Tong BC, Racusen L, Markowitz JS, Westra WH. Bladder carcinoma in a transplant recipient: evidence to implicate the BK human polyomavirus as a causal transforming agent. *Transplantation* 2002;73(12):1933-6.

62. Kausman JY, Somers GR, Francis DM, Jones CL. Association of renal adenocarcinoma and BK virus nephropathy post transplantation. *Pediatr Nephrol* 2004;19(4):459-62.

63. Flaegstad T, Nilsen I, Skar AG, Traavik T. Antibodies against BK virus in renal transplant recipient sera: results with five different methods indicate frequent reactivations. *Scand J Infect Dis* 1991;23(3):287-91.

64. Hariharan S, Cohen EP, Vasudev B, Orentas R, Viscidi RP, Kakela J, et al. BK virus-specific antibodies and BKV DNA in renal transplant recipients with BKV nephritis. *Am J Transplant* 2005;5(11):2719-24.

65. Koss LG. On decoy cells. *Acta Cytol* 2005;49(3):233-4.

66. Smith J, Coleman DV. Electron microscopy of cells showing viral cytopathic effects in Papanicolaou smears. *Acta Cytol* 1983;27(6):605-13.

67. Nickeleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P, et al. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(5):1080-9.

68. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005;79(10):1277-86.

69. Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E, Fink JC, Wali R, et al. Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 2001;1(4):373-81.

70. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, Bourquin PM, Simsir A, Fink J, et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol* 1999;30(8):970-7.

71. Nickeleit V, Hirsch HH, Zeiler M, Gudat F, Prince O, Thiel G, et al. BK-virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(3):324-32.

72. Fogazzi GB, Cantu M, Saglimbeni L. 'Decoy cells' in the urine due to polyomavirus BK infection: easily seen by phase-contrast microscopy. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(7):1496-8.

73. Santos RL, Manfrinatto JA, Cia EM, Carvalho RB, Quadros KR, Alves-Filho G, et al. Urine cytology as a screening method for polyoma virus active infection. *Transplant Proc* 2004;36(4):899-901.

74. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J, et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant* 2004;4(12):2082-92.

75. Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, Papadimitriou JC. Polyomavirus disease in renal transplantation: review of pathological findings and diagnostic methods. *Hum Pathol* 2005;36(12):1245-55.

76. Drachenberg C, Hirsch HH, Papadimitriou JC, Mozafari P, Wali R, McKinney JD, et al. Cost efficiency in the prospective diagnosis and follow-up of polyomavirus allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2004;36(10):3028-31.

77. Randhawa P, Vats A, Shapiro R. Monitoring for polyomavirus BK And JC in urine: comparison of quantitative polymerase chain reaction with urine cytology. *Transplantation* 2005;79(8):984-6.

78. Baldanti F, Fogazzi GB, Furione M, Saglimbeni L, Rovida F, Gatti M, et al. Quantification and identification of polyomavirus DNA in blood and urine of renal transplant recipients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006.

79. McNees AL, White ZS, Zanwar P, Vilchez RA, Butel JS. Specific and quantitative detection of human polyomaviruses BKV, JCV, and SV40 by real time PCR. *J Clin Virol* 2005;34(1):52-62.

80. Ryschkewitsch C, Jensen P, Hou J, Fahle G, Fischer S, Major EO. Comparison of PCR-southern hybridization and quantitative real-time PCR for the detection of JC and BK viral nucleotide sequences in urine and cerebrospinal fluid. *J Virol Methods* 2004;121(2):217-21.

81. Ding R, Medeiros M, Dadhania D, Muthukumar T, Kracker D, Kong JM, et al. Noninvasive diagnosis of BK virus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1 in urine. *Transplantation* 2002;74(7):987-94.

82. Nিকেleit V, Steiger J, Mihatsch MJ. Re: noninvasive diagnosis of BK virus nephritis by measurement of messenger RNA for BK virus VP1. *Transplantation* 2003;75(12):2160-1.

83. Sener A, House AA, Jevnikar AM, Boudville N, McAlister VC, Muirhead N, et al. Intravenous immunoglobulin as a treatment for BK virus associated nephropathy: one-year follow-up of renal allograft recipients. *Transplantation* 2006;81(1):117-20.

84. Josephson MA, Gillen D, Javaid B, Kadambi P, Meehan S, Foster P, et al. Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. *Transplantation* 2006;81(5):704-10.

85. Rahamimov R, Lustig S, Tovar A, Yussim A, Bar-Nathan N, Shaharabani E, et al. BK polyoma virus nephropathy in kidney transplant recipient: the role of new immunosuppressive agents. *Transplant Proc* 2003;35(2):604-5.

86. Blanckaert K, De Vriese AS. Current recommendations for diagnosis and management of polyoma BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(12):3364-7.

87. Stolt A, Sasnauskas K, Koskela P, Lehtinen M, Dillner J. Seroepidemiology of the human polyomaviruses. *J Gen Virol* 2003;84(Pt 6):1499-504.

88. Alexander RT, Langlois V, Tellier R, Robinson L, Hebert D. The prevalence of BK viremia and urinary viral shedding in a pediatric renal transplant population: a single-center retrospective analysis. *Pediatr Transplant* 2006;10(5):586-92.

89. De Las Casas L, Hoerl D, Bardales R, Pirsch J, Sempf J, Wetzel D, et al. Utility of Urinary Cytology for Diagnosing Human Polyoma Virus Infection in Transplant Recipients: A Study of 37 Cases With Electron Microscopic Analysis. *Diagnostic Cytopathology* 2001;25(6):376-381.

90. Geramizadeh B, Roozbeh J, Malek-Hosseini SA, Azarpira N, Ayatollahi M, Salahi H, et al. Urine cytology as a useful screening method for polyoma virus nephropathy in renal transplant patients: a single-center experience. *Transplant Proc* 2006;38(9):2923-5.

91. Trofe J, Gaber LW, Stratta RJ, Shokouh-Amiri MH, Vera SR, Alloway RR, et al. Polyomavirus in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2003;5(1):21-8.

92. Kang YN, Han SM, Park KK, Jeon DS, Kim HC. BK virus infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2003;35(1):275-7.

93. Kim HC, Hwang EA, Kang MJ, Han SY, Park SB, Park KK. BK virus infection in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2004;36(7):2113-5.

94. Namba Y, Moriyama T, Kyo M, Imamura R, Shi Y, Ichimaru N, et al. Prevalence, characteristics, and outcome of BK virus nephropathy in Japanese renal transplant patients: analysis in protocol and episode biopsies. *Clin Transplant* 2005;19(1):97-101.

95. Li RM, Mannon RB, Kleiner D, Tsokos M, Bynum M, Kirk AD, et al. BK virus and SV40 co-infection in polyomavirus nephropathy. *Transplantation* 2002;74(11):1497-504.

96. Maiza H, Fontaniere B, Dijoud F, Pouteil-Noble C. Graft dysfunction and polyomavirus infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2002;34(3):809-11.

97. Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, Corey L, Jerome KR, Meehan SM, et al. Treatment of refractory BK virus-associated nephropathy with cidofovir. *Am J Transplant* 2003;3(2):186-91.

98. Kuypers DR, Vandooren AK, Lerut E, Evenepoel P, Claes K, Snoeck R, et al. Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5(8):1997-2004.

99. Williams JW, Javaid B, Kadambi PV, Gillen D, Harland R, Thistlewaite JR, et al. Leflunomide for polyomavirus type BK nephropathy. *N Engl J Med* 2005;352(11):1157-8.

100. Leung AY, Chan MT, Yuen KY, Cheng VC, Chan KH, Wong CL, et al. Ciprofloxacin decreased polyoma BK virus load in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 2005;40(4):528-37.

101. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R, Nogueira J, Mendley S, Hirsch HH, et al. Improved outcome of polyoma virus allograft nephropathy with early biopsy. *Transplant Proc* 2004;36(3):758-9.

2 OBJETIVOS

2.1 Principal

Avaliar a prevalência de células decoy na urina de pacientes transplantados (transplante renal, pancreático ou pâncreas-rim) do Hospital São Lucas da PUCRS.

2.2 Secundário

Correlacionar a presença de células decoy na urina com variáveis clínicas e laboratoriais em pacientes transplantados do Hospital São Lucas da PUCRS.

3 ARTIGO PUBLICADO



Prevalence of Urinary Decoy Cells and Associated Risk Factors in a Brazilian Kidney, Pancreas, and Kidney–Pancreas Transplant Population

L.V. Kroth, C.S. Henkin, L.D. Peres, M.C. Paganella, M. Mazzali, V.D. Duval, M.A. Traesel, and D. Saitovitch

ABSTRACT

Background. Polyomavirus BK (BKV) is currently considered one of the most important infectious diseases in kidney transplants recipients. The prevalence of decoy cells (viral containing shed urothelial cells) in these patients varies between 20% and 60%. Of decoy-positive patients, 1%–8% develop BKV nephropathy, a finding that may be associated with graft failure in up to 80% of affected individuals.

Methods. Decoy cells cytology is an easily performed and inexpensive assay useful for poliomyovirus infection screening. Data on the prevalence of decoy cells in simultaneous pancreas–kidney or isolated pancreas recipients remains largely unreported. In the present study, we evaluated 221 patients ≥ 18 years old with >1 month follow-up after transplantation who had attended the outpatient clinic between September and December 2006.

Results. The total prevalence of decoy cells was 16% (16.9% in kidney recipients, 5.9% in simultaneous kidney-pancreas recipients and 20% in pancreas alone recipients). There were no differences between patients with either positive or negative urinary cytology for decoy cells, regarding demographic (gender, age, race) or clinical (time posttransplantation, donor type [deceased vs living donation], and presence of delayed graft function or rejection, other associated viral infections and type of immunosuppressive drugs variables.

HUMAN polyoma viruses (BKV) have been increasingly recognized worldwide as a major cause of kidney allograft dysfunction, BKV nephropathy (BKVN), and potential graft loss.^{1,2} In the setting of immunosuppression, viral reactivation and replication occurs, and this is accompanied by the shedding of urothelial cells containing inclusion bodies, also known as decoy cells.³ Most studies have demonstrated urinary decoy cells to be highly sensitive (approaching 100%), although specificity varies among different examiners, for the diagnosis of BKVN.^{4,5} Its prevalence among kidney transplant recipients is usually reported to be high (20%–60%).^{6,7} BKVN occurs in about 1%–8% and causes allograft failure in 10%–80% of transplant recipients. In the kidney-pancreas and isolated pancreas recipient population, this subject has not been extensively studied yet, and the prevalence of urinary decoy cells has not been published, to the best of our knowledge. In the present investigation, we evaluated the prevalence of BKV

infection among renal transplant recipients (isolated or conjugated with a pancreas) as well as isolated pancreas recipients, based upon the presence of urinary decoy cells. Also, a correlation between the presence of these cells and clinical variables was attempted.

From the Divisions of Nephrology (L.V.K., C.S.H., L.D.P., M.P., M.A.T., D.S.), Pathology (V.D.D.) and Clinical Transplantation (L.V.K., M.A.T., D.S.), Hospital São Lucas da PUCRS, Porto Alegre, and Division of Clinical Medicine (M.M.), UNICAMP, Campinas, Brazil.

Address reprint requests to Leonardo Viliano Kroth, Division of Nephrology, Hospital São Lucas, Av. Ipiranga 6690, 3rd floor. CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: leonardo.kroth@pucrs.br

0041-1345/12/\$—see front matter
<http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.07.008>

© 2012 Published by Elsevier Inc.
 360 Park Avenue South, New York, NY 10010-1710

MATERIALS AND METHODS

This cross-sectional study included 231 adult recipients (>18 years old) who were >1 month from kidney, pancreas, and kidney-pancreas transplant recipients between September and December 2006 at the outpatient transplant unit of the Hospital São Lucas. Their average age was 45 years old. Of these, 207 were kidney recipients (89.6%), 19 were kidney-pancreas recipients (8.2%), and 5 were isolated pancreas recipients (2.2%). One hundred twenty patients (50.2%) were male, 197 were Caucasian (85.3%), and 34 were of African descent (14.7%). Mean blood hemoglobin was 12.7 g/dL (SD 1.84) and the mean total blood lymphocyte count was 1770/ μ L (SD 860). A sample with 5 mL in volume of the first voided morning urine was cytocentrifuged for 10 minutes at 800 rpm at room temperature. The slides were stained with the Papanicolaou method and examined by optical microscopy for the detection of decoy cells. Decoy cells were characterized by increased nuclear volume, basophilic nucleus, condensed chromatin and perinuclear halo. Urine samples with at least 1 decoy cell were considered positive. All statistical analyzes were made with 95% confidence interval and 80% of power statistics. For the continuous variables, mean and standard deviation were used. For the association analysis, Fischer exact test and tendency linear test were used.

RESULTS

The prevalence of urinary decoy cells in the study population was 16% (Table 1). Thirty-five kidney recipients (16.9%), 1 kidney-pancreas recipient (5.3%), and 1 isolated pancreas recipient (20%) tested positive. There were no differences among these frequencies. Also, there was no difference in the frequency of decoy positivity in the studied population regarding age, gender, race, type of donor, time after transplantation, renal function, or whether there was medical history of delayed graft function, acute rejection, bacterial infection, ureter stenosis, or malignancy and type of immunosuppression. Decoy cells prevalence was not different among recipients whether they were positive for hepatitis C or B serologies or whether there was a history of cytomegalovirus disease.

DISCUSSION

Polyomavirus infection has been increasingly recognized as a major cause of kidney allograft dysfunction.³ Because of its relatively recent description in the transplantation setting, reports on its prevalence are scarce. In Brazil, there is only 1 report investigating BKV infection in kidney transplant recipients,⁸ which found an incidence of positive urine cytology of 37.5%.

We found a decoy cells prevalence in kidney graft recipients (16%) inferior of that described in literature (20%–60%).^{6,7} In contrast, the literature has found decoy cells to occur more frequently in men, especially aged and with longer posttransplantation period.^{3,6,7} Immunosuppression has repeatedly been implicated in the pathogenesis of BKVN and emphasis has been given to the combination of tacrolimus and mycophenolate,⁹ as well as to use of some anti-lymphocytic agents.⁴ Again, in this initial evaluation of our transplant patients, these data have not been confirmed.

Table 1. Prevalence of Urinary Decoy Cells According to Clinical and Laboratory Variables

Variables	n (%)	Decoy Cells Prevalence % (CI)	P Value
Gender			
Male	116 (50.2)	16.4 (9.54–23.22)	1.0*
Female	115 (49.8)	15.7 (8.91–22.39)	
Age (yrs)			
18–42	78 (33.9)	18.0 (9.24–26.66)	.7†
43–52	81 (35.2)	13.6 (5.96–21.20)	
53–77	71 (30.9)	15.5 (6.87–24.12)	
Race			
Caucasian	197 (85.3)	15.7 (10.61–20.87)	.8*
African descent	34 (14.7)	17.7 (4.15–31.15)	
Type of donor			
Living related	53 (22.9)	15.1 (5.13–25.06)	1.0*
Cadaveric	169 (73.2)	16.6 (10.91–22.23)	
Living unrelated	9 (3.9)	11.1 (–14.51–36.73)	
Type of transplant			
Kidney	207 (89.6)	16.9 (11.76–22.06)	.4*
SPK	19 (8.2)	5.3 (–5.79–16.32)	
PTA	5 (2.2)	20.0 (–35.53–75.53)	
Delay graft function			
No	158 (69.0)	13.9 (8.47–19.38)	.2*
Yes	71 (31.0)	21.1 (11.40–30.86)	
Time after transplant (yrs)			
≤1	30 (13.0)	13.3 (0.42–26.24)	.4†
>1–≤5	90 (39.0)	14.4 (7.04–21.85)	
≥5	111 (48.1)	18.0 (10.76–25.28)	
Kidney rejection			
No	164 (71.0)	15.2 (9.68–20.80)	.7*
Yes	67 (29.0)	17.9 (8.49–27.33)	
Ureter stenosis			
No	215 (93.1)	15.0 (10.14–19.77)	.1*
Yes	16 (6.9)	31.3 (5.74–56.76)	
GFR (mL/min)			
≤50	112 (48.5)	19.6 (12.17–27.12)	.2*
>50	119 (51.5)	12.6 (6.55–18.66)	
Total	231 (100)		

*Fischer Exact Test.

†Tendency linear test.

In conclusion, a relatively low prevalence of urinary decoy cells was described in a population of solid organ recipients in Southern Brazil.

REFERENCES

1. Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, et al: Polyomavirus disease in renal transplantation: review of pathological findings and diagnostic methods. *Hum Pathol* 36:1245, 2005
2. Hariharan S: BK virus nephritis after renal transplantation. *Kidney Int* 69:655, 2006
3. Hirsch HH, Steiger J: Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 3:611, 2003
4. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al: Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 347:488, 2002
5. Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al: Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. *Am J Transplant* 1:373, 2001

2396

KROTH, HENKIN, PERES ET AL

6. Drachenberg C, Hirsch HH, Papadimitriou JC, et al: Cost efficiency in the prospective diagnosis and follow-up of polyomavirus allograft nephropathy. *Transplant Proc* 36:3028, 2004

7. Geramizadeh B, Roozbeh J, Malek-Hosseini SA, et al: Urine cytology as a useful screening method for polyoma virus nephropathy in renal transplant patients: a single-center experience. *Transplant Proc* 38:2923, 2006

8. Santos RL, Manfrinatto JA, Cia EM, et al: Urine cytology as a screening method for polyoma virus active infection. *Transplant Proc* 36:899, 2004

9. Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, et al: Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 18:1190, 2003

4 DISCUSSÃO

Com a supressão da imunidade celular, infecções oportunistas passam a desafiar o curso clínico pós-transplante. As infecções virais são exemplos importantes, principalmente pela peculiaridade que envolve as dificuldades diagnósticas e terapêuticas encontrados neste contexto clínico.

A infecção pelo poliomavírus representa, atualmente, uma das mais importantes complicações envolvendo pacientes transplantados. Com descoberta recente, dados referentes à prevalência de BKV na urina, em vários locais do mundo, ainda são escassos.

No Brasil, apenas um estudo, com número limitado de pacientes, avaliou a incidência de infecção por poliomavírus, através de citologia urinária, encontrando positividade em 37,5% dos pacientes. ⁽¹⁾ No presente estudo, a prevalência de células decoy entre pacientes transplantados que consultou no ambulatório de transplantes do Hospital São Lucas da PUCRS foi de 16%, sendo que em transplantados apenas de rim, foi de 16,9%. Esta prevalência é inferior à verificada em outros estudos, onde varia de cerca de 20 a 60%. ^{(2) (3) (4) (5)} É possível que os baixos índices encontrados se devam a ser um estudo transversal em uma única amostra de urina coletada com jato médio, em uma amostra de pacientes estáveis ambulatoriais. A realização de apenas uma coleta pode ter diminuído a sensibilidade da citologia urinária, tendo em vista ao fato de variabilidade da presença do vírus na urina. A coleta de urina com jato médio comparada ao jato inicial pode apresentar menor celularidade e dificultar avaliação da presença do vírus.

No estudo, 18 pacientes da amostra inicial foram excluídos por apresentar amostra considerada inadequada, pela ausência de material celular ou falha na preparação, o que corresponde a 7,2%. Isto não representa uma limitação para análise dos dados, por representar uma perda baixa de pacientes e por ser esperado, tendo em vista que a literatura demonstra estudos com até 30% de amostras de urinas consideradas escassas. ^{(1) (6)}

Nenhum estudo relatou a avaliação de células decoy em pacientes transplantados simultaneamente de pâncreas e rim. Nossa análise revelou prevalência de células decoy nesta população de 5,3%, porém a amostra de

pacientes é pequena, não permitindo maiores conclusões (1 caso em 19 pacientes). Há relato de estudo de ocorrência de 28,6% de virúria em pacientes transplantados de pâncreas e rim. Esta amostra consistiu-se de pacientes submetidos à biópsia renal por disfunção do enxerto renal. ⁽⁷⁾

A presença de células decoy foi igualmente freqüente em homens e mulheres, independente do sexo e idade, tipo de doador ou tipo de transplante. Estes achados são condizentes com vários estudos que analisaram estas variáveis com presença de virúria ^{(8) (9) (10) (11)}. Diferentemente, os achados de Geramizadeh e colaboradores, sugerem prevalência de células decoy significativamente maior em homens, idade mais avançada e associada com longo tempo de transplante. ⁽⁵⁾

O tipo de imunossupressão, particularmente alguns imunossupressores, está associado com reativação viral e nefropatia por BKV. ⁽¹¹⁾ ^{(12) (13) (14) (15) (16)} O uso de timoglobulina foi menos freqüente em pacientes com positividade para células decoy, não associando-se significativamente com a presença das mesmas, assim como evidenciado por Hirsch e colaboradores. Estes autores, no entanto, observaram células decoy mais frequentemente em pacientes que receberam medicações anti-linfocíticas como tratamento de rejeição, ⁽¹¹⁾ achado também verificado no nosso estudo com uso de OKT3, porém sem significância estatística, possivelmente devido ao pequeno número da amostra. Isto sugere que não apenas a imunossupressão isoladamente seja fator de risco para ocorrência de infecção por vírus BKV.

Estudos demonstram associação de tacrolimo com ocorrência de virúria e nefropatia por BKV. ^{(9) (13) (14)} Micofenolato isoladamente não parece aumentar a prevalência de nefropatia, ⁽¹⁷⁾ no entanto, associado com tacrolimo pode aumentar o risco desta patologia em até 8 vezes. ⁽¹⁶⁾ Não encontramos dados referentes a associações de tacrolimo e micofenolato com a ocorrência de células decoy. Neste estudo, a prevalência de células decoy não esteve associada significativamente com o uso de tacrolimo ou micofenolato. Ampliação da amostra, além de aplicação de delineamento que ofereça maior poder estatístico, podem auxiliar na confirmação destes achados em análises futuras.

Outras infecções virais, como citomegalovírus, hepatite C e B não se associaram a presença de células decoy na urina. As células decoy, no entanto, foram mais freqüentes em pacientes com hepatite B, demonstrando uma tendência a uma associação entre estas variáveis, não significativas provavelmente devido ao

reduzido número de casos de pacientes com esta infecção. A infecção por CMV, diferente do encontrado no presente estudo, parece estar significativamente associada à viremia por BKV conforme sugerem de Toyoda e colaboradores.⁽¹⁸⁾

A prevalência de células decoy entre os pacientes que apresentaram estenose ureteral foi elevada (31,3%), porém não diferiu significativamente dos demais transplantados. Acredita-se na associação de estenose ureteral e infecção por BKV, em função de relatos de casos com ocorrência destes dois fatores.^{(19) (20)} No entanto, outros estudos também com número adequado de pacientes não encontraram associação positiva entre estas duas variáveis.^{(21) (22)}

Neste estudo, células decoy foram mais prevalentes em pacientes com creatinina acima de 1,6mg/dL (18,1% versus 14,3%), porém sem significado estatístico. Associação entre elevação dos níveis de creatinina e presença de células decoy foi evidenciada por outro estudo.⁽⁵⁾

Amplia-se, com este estudo, o espectro de avaliação viral em pacientes transplantados no Hospital São Lucas da PUCRS. Novos estudos são necessários para avaliação dos fatores de risco, implementação dos outros métodos diagnósticos e para pesquisa da nefropatia relacionada ao vírus, entre outros aspectos desta infecção.

Muitas perspectivas existem para futuras pesquisas na linha de poliomavírus. Avaliação da técnica de PCR em tempo real urinário e sangüíneo e correlação com achados de citologia urinária quantitativa, avaliação dos novos pacientes transplantados com exames protocolares para verificar fatores de risco associados a desfechos, permitindo, diagnóstico e tratamento precoce da nefropatia por BKV, além de avaliação retrospectiva de biópsias com diagnóstico de rejeição aguda empregando técnica de imunohistoquímica, para o diagnóstico diferencial com nefropatia por BKV, são algumas das idéias para o futuro próximo.

4.1 Referências bibliográficas

1. Santos RL, Manfrinatto JA, Cia EM, Carvalho RB, Quadros KR, Alves-Filho G, et al. Urine cytology as a screening method for polyoma virus active infection. *Transplant Proc* 2004;36(4):899-901.
2. Alexander RT, Langlois V, Tellier R, Robinson L, Hebert D. The prevalence of BK viremia and urinary viral shedding in a pediatric renal transplant population: a single-center retrospective analysis. *Pediatr Transplant* 2006;10(5):586-92.
3. Drachenberg C, Hirsch HH, Papadimitriou JC, Mozafari P, Wali R, McKinney JD, et al. Cost efficiency in the prospective diagnosis and follow-up of polyomavirus allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2004;36(10):3028-31.
4. Baldanti F, Fogazzi GB, Furione M, Saglimbeni L, Rovida F, Gatti M, et al. Quantification and identification of polyomavirus DNA in blood and urine of renal transplant recipients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006.
5. Geramizadeh B, Roozbeh J, Malek-Hosseini SA, Azarpira N, Ayatollahi M, Salahi H, et al. Urine cytology as a useful screening method for polyoma virus nephropathy in renal transplant patients: a single-center experience. *Transplant Proc* 2006;38(9):2923-5.
6. Randhawa P, Vats A, Shapiro R. Monitoring for polyomavirus BK And JC in urine: comparison of quantitative polymerase chain reaction with urine cytology. *Transplantation* 2005;79(8):984-6.
7. Gupta G, Shapiro R, Thai N, Randhawa PS, Vats A. Low incidence of BK virus nephropathy after simultaneous kidney pancreas transplantation. *Transplantation* 2006;82(3):382-8.
8. Priftakis P, Bogdanovic G, Tyden G, Dalianis T. Polyomaviruria in renal transplant patients is not correlated to the cold ischemia period or to rejection episodes. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):406-7.
9. Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebille V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5(8):1926-33.
10. Ginevri F, De Santis R, Comoli P, Pastorino N, Rossi C, Botti G, et al. Polyomavirus BK infection in pediatric kidney-allograft recipients: a single-center analysis of incidence, risk factors, and novel therapeutic approaches. *Transplantation* 2003;75(8):1266-70.
11. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347(7):488-96.

12. Maiza H, Fontaniere B, Dijoud F, Pouteil-Noble C. Graft dysfunction and polyomavirus infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2002;34(3):809-11.
13. Barri YM, Ahmad I, Ketel BL, Barone GW, Walker PD, Bonsib SM, et al. Polyoma viral infection in renal transplantation: the role of immunosuppressive therapy. *Clin Transplant* 2001;15(4):240-6.
14. Binet I, Nিকেleit V, Hirsch HH, Prince O, Dalquen P, Gudat F, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999;67(6):918-22.
15. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5(3):582-94.
16. Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, Eden G, Schwarz A, Haller H, et al. Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(6):1190-6.
17. Matlosz B, Mroz A, Durlík M, Wesolowska A, Sadowska A, Cieciora T, et al. Polyomavirus BK infection. *Transplant Proc* 2003;35(6):2196-8.
18. Toyoda M, Puliyaanda DP, Amet N, Baden L, Cam V, Radha R, et al. Co-infection of polyomavirus-BK and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005;80(2):198-205.
19. Gardner SD FA, Coleman DV, et al. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971;1:1253-7.
20. Gaston KE, Gabriel DA, Lavelle JP. Rare cause of ureteral obstruction. *Urology* 2005;66(5):1110.
21. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hamze O, Fink JC, Klassen DK, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(8):2145-51.
22. Nিকেleit V, Klimkait T, Binet IF, Dalquen P, Del Zenero V, Thiel G, et al. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000;342(18):1309-15.

5 ANEXO

5.1 Anexo 1 - Considerações sobre a dissertação

O Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde – FAMED / PUCRS não exige um formato específico para a apresentação da tese. Assim, foram empregadas as recomendações do modelo para apresentação de trabalhos acadêmicos, teses e dissertações elaborado pela Biblioteca Central Irmão José Otão, publicado no site da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (<http://www.pucrs.br/biblioteca/guia-trab.htm>), sendo que as referências bibliográficas seguiram as normas do estilo *Vancouver* e as citações indicadas no texto seguiram o sistema de citações em seqüência.