

ELVIANI BASSO MOURA

**AVALIAÇÃO DA PREDISPOSIÇÃO E IMPACTO CLÍNICO DA REPLICAÇÃO DO
VÍRUS BK EM TRANSPLANTADOS RENAIIS**

JOINVILLE

2016

ELVIANI BASSO MOURA

**AVALIAÇÃO DA PREDISPOSIÇÃO E IMPACTO CLÍNICO DA REPLICAÇÃO
DO VÍRUS BK EM TRANSPLANTADOS RENAIIS**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, na Universidade da Região de Joinville. Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França

JOINVILE

2016

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

M929a Moura, Elviani Basso
Avaliação da predisposição e impacto clínico da replicação do vírus BK em transplantedos renais/ Elviani Basso Moura; orientador Dr. Paulo Henrique Condeixa de França– Joinville: UNIVILLE, 2016.

60 f.: il.; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente
– Universidade da Região de Joinville)

1. Rins. – Doenças. 2. Transplante de órgãos. 3. Nefropatia. 4. Vírus BK. I. França, Paulo Henrique Condeixa de (orient.). II. Título.

CDD 616.6107

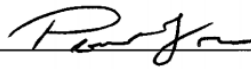
Termo de Aprovação

“Avaliação da Predisposição e Impacto Clínico da Replicação do Vírus BK em , Transplantados Renais”

por

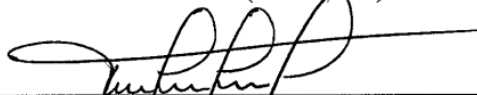
Elviani Basso

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França

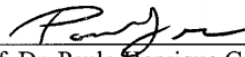
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira

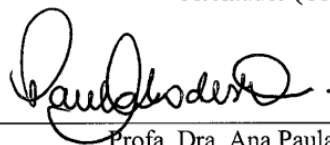
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França

Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Ana Paula Modesto
(PUC/PR)



Prof. Dr. Helbert do Nascimento Lima
(UNIVILLE)

Joinville, 29 de fevereiro de 2016

Joinville, 29 de fevereiro de 2016

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França, pela confiança, dedicação e por ser o maior incentivador na superação dos meus limites.

À equipe do laboratório de Biologia Molecular da Univille em especial a Silvia Petzhold, pela colaboração e dedicação em todas as etapas da dissertação.

A Fundação Pró-rim pelo apoio e liberação para realização deste trabalho, em especial a Dr. Luciane Deboni pelos ensinamentos adquiridos.

Ao meu esposo Luciano, minha família e amigos que estiveram ao meu lado em todos os momentos, incentivando, encorajando-me a realização do meu sonho.

RESUMO

O vírus BK (BKV), pertencente à família Polyomaviridae, desenvolve uma infecção renal subclínica persistente nos indivíduos imunocompetentes. Porém, em indivíduos imunocomprometidos, especialmente os submetidos ao transplante renal sob imunossupressão contínua, a viremia pode chegar a 30- 40% dos pacientes, ocasionando nefropatia e morbimortalidade associadas. A nefropatia associada ao BKV (BKVN) é considerada uma das principais causas de perda do órgão transplantado, tendo como agravante a falta de tratamento específico. Objetivou-se avaliar a predisposição e o impacto clínico da replicação do BKV em transplantados renais em acompanhamento pós- transplante em uma instituição referência em Joinville, sul do Brasil. Dados demográficos, clínicos e laboratoriais, gerados durante a rotina ambulatorial, foram coletados retrospectivamente. A viremia pelo BKV foi investigada via Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. Dos 553 participantes, 7,4% (n = 41) apresentavam replicação do BKV. Destes, 16 (39%) perderam o enxerto renal, identificando-se a nefrite intersticial em 50% dos casos. Dentre as variáveis avaliadas, somente o uso do imunossupressor micofenolato de sódio apresentou associação como fator de risco à replicação do BKV (OR 7,96; IC 95% 2,35-26,98). Quanto ao impacto clínico, observou-se que a probabilidade de sobrevida do enxerto renal nos pacientes BKV positivos foi significativamente menor (24,8% vs. 85,6% em 10 anos). Conclui-se que a definição dos fatores predisponentes continua sendo um desafio relevante à prevenção e controle da atividade do BKV nos transplantados renais, especialmente considerando-se o desenvolvimento de BKVN e o forte impacto sobre a manutenção do enxerto.

Palavras-chave: transplante renal, vírus BK, nefropatia.

ABSTRACT

The BK virus (BKV), which belongs to the *Polyomaviridae* family, develops a persistent subclinical kidney infection in immunocompetent individuals. However, in immunocompromised, particularly those ones under continuous immunosuppression due to kidney transplant, the viraemia may reach up to 30- 40% of patients, causing nephropathy and associated morbidity and mortality. The BKV-associated nephropathy (BKVN) is considered one of the main causes of graft loss, which is aggravated by the lack of specific treatment. This study aimed to evaluate the predisposition and the clinical impact of BKV replication in kidney-transplanted patients in post-transplant follow-up in a referral institution in Joinville, southern Brazil. Demographic, clinical and laboratory data generated during outpatient routine were collected retrospectively. The BKV viraemia was investigated by Real-Time Polymerase Chain Reaction. From 553 participants, 7.4% (n = 41) showed BKV replication. Of these, 16 (39%) lost kidney graft, while interstitial nephritis was identified in 50% of cases. Among the evaluated variables, only the use of the immunosuppressive drug sodium mycophenolate showed association as a risk factor for BKV replication (OR 7,96; IC 95% 2,35-26,98). In relation to the clinical impact, it was observed that the graft survival probability in BKV-positive patients was significantly lower (24,8% vs. 85,6% 10 years) It was concluded that the definition of predisposing factors remains a relevant challenge to the prevention and control of the BKV activity in kidney-transplanted, especially considering the development of BKVN and the strong impact over the graft maintenance.

Keywords: renal transplantation , BK virus, nephropathy

LISTA DE TABELAS

Table 1 – Pre and post-transplant patient characteristics according to negative (-) or positive (+) post-kidney transplantation BKV replication.....	50
Table 2 – BKV replication predictors in kidney transplant patients.....	51
Table 3 – Causes of kidney graft loss and death of kidney transplant patients.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 - Kidney graft survival in BKV -negative or -positive transplant patients.....	53
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BKV - Vírus BK

BKVN - Nefropatia associada ao BKV

CAPES- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CMV - Citomegalovírus

CNCDO - Central Nacional de Captação e Distribuição de Órgãos

CNS - Conselho Nacional de Saúde

CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

CsA - Ciclosporina

DM - Diabetes Mellitus

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DRC - Doença Renal Crônica

ETDA - Ácido etilenodiaminotetracético

EUA - Estados Unidos da América

gEq/mL - Genomas equivalentes/mL

HLA - Antígeno Leucocitário Humano

IRC – Insuficiência Renal Crônica

MMF - Micofenolato de mofetil

MPS - Micofenolato de sódio

OMS - Organização Mundial de Saúde

PMP - Por Milhão da População

PRA - Painel de Reatividade de

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

RFG - Ritmo de Filtração Glomerular

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

SRL - Sirolimo

SUS - Sistema Único de Saúde

TAC - Tacrolimus

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGF - Taxa de Filtração Glomerular

TRS - Terapia Renal Substitutiva

UNIVILLE - Universidade da Região de Joinville

VPN - Valor Preditivo Negativo

VPP - Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3.1.DOEÇA RENAL CRÔNICA	16
3.1.1 Conceito.....	16
3.1.2 Aspectos gerais	16
3.1.3 Impacto econômico e social.....	18
3.2 TERAPIA RENAL SUBSTITUTIVA.....	19
3.2.1 Transplante renal.....	20
3.2.1.1 <i>Imunossupressão</i>	21
3.3 POLIOMAVÍRUS.....	23
3.3.1 Aspectos gerais	23
3.3.2 Imunossupressão e infecção pelo BKV	26
3.3.3 Perda do enxerto renal por reativação do BKV	27
4. METODOLOGIA.....	29
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	29
4.2 POPULAÇÃO ALVO E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	29
4.2.1 Critérios de inclusão	29
4.2.2 Critérios de exclusão	29
4.3 VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	30
4.3.1 Carga viral do BKV	30

4.3.2 Dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais.	30
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
4.5 ASPECTOS ÉTICOS	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

O transplante renal é considerado o melhor método de tratamento para portadores de insuficiência renal crônica, pois possibilita ao paciente uma melhor qualidade de vida. Além disso, o transplante é a alternativa mais custo-efetiva, uma vez que permite a reintegração do paciente às atividades cotidianas e também aumenta sua expectativa de vida (ACURCIO et al., 2013). Estimativas quanto à sobrevida afirmam atingir 95,3% e 91,8% em relação ao paciente transplantado e ao enxerto, respectivamente, ao final do primeiro ano pós-transplante (HARADA et al., 2008).

Mesmo com os inúmeros avanços científicos e tecnológicos visando prolongar a sobrevida do enxerto renal, a nefropatia crônica e a perda do enxerto a longo e curto prazos têm sido atribuídas ao aparecimento de infecções oportunistas, especialmente pelo vírus BK (BKV). A carga de imunossupressão utilizada no pós-transplante é considerada o principal fator de risco para o surgimento da nefropatia associada ao BKV (PINHEIRO et al., 2011).

Os imunossupressores, medicações que agem no sistema imunológico do paciente, essenciais para a redução do processo de rejeição do órgão transplantado, agem de forma inespecífica, comprometendo a capacidade do sistema imune do receptor em reagir não somente contra os aloantígenos (efeito desejado), mas também contra uma série de outros antígenos, produzindo supressão da vigilância imunológica (efeito indesejado) (BARROS et al., 2007). Dessa forma, o uso prolongado de imunossupressores pode acarretar efeitos adversos relevantes aos pacientes, como o aumento da incidência de infecções virais. A reativação do BKV, por exemplo, varia de 1 a 10%, levando a perda do enxerto renal em mais de 80% dos casos (PINHEIRO et al., 2011).

A infecção pelo BKV, pertencente à família *Polyomaviridae*, geralmente se dá na infância e sua transmissão ocorre por via respiratória. Após a infecção primária, o vírus permanece em período de latência, apresentando tropismo pelo trato urinário. Esse período assintomático é frequente na população geral, que apresenta soropositividade próxima a 90%. Usualmente, a reativação dos poliomavírus somente acontece em casos de doenças autoimunes e em transplantados de órgãos sólidos, visto que esses pacientes apresentam condições imunes alteradas (SILVA et al., 2011).

Em transplantados renais, a confirmação da replicação do BKV é cada vez mais comum, manifestando-se clinicamente apenas por meio da alteração da função renal. Logo, a infecção ativa resulta em virúria e viremia, podendo levar à nefropatia e à deteriorização da função do enxerto renal. Segundo Ramos et al. (2012), todos os pacientes diagnosticados com poliomavírus apresentam deterioração variável da função do enxerto, manifestando-se por um aumento da creatinina sérica.

A nefropatia causada pelo BKV é a doença viral mais comum que afeta o parênquima do enxerto renal, apresentando grande morbimortalidade e possibilidade de perda do enxerto. Bassil et al. (2014) apontam que a nefropatia pelo BKV resulta em perda do enxerto ou disfunção permanente em 40% a 60% dos casos. Desta forma, leva o paciente à necessidade de outra terapia renal substitutiva, além de gastos vultuosos à saúde pública e do aumento nas listas de espera de transplante renal do país (BASSIL et al., 2014).

A reativação do BKV não acontece em todo paciente portador do vírus exposto à imunossupressão e os fatores predisponentes, além de não serem inteiramente conhecidos, podem variar entre diferentes serviços. Medeiros et al. (2008) ressaltam que os fatores de risco podem incluir idade avançada, sexo masculino, infecção por citomegalovírus (CMV), Diabetes Mellitus (DM), ausência do alelo HLA-C7 e etnia caucasiana.

Dado o exposto, a pesquisa proposta justificou-se pela necessidade de se traçar os fatores predisponentes à reativação do BKV em pacientes transplantados renais em acompanhamento pós-transplante. Com a execução dessa pesquisa e consecução dos objetivos propostos, almejamos contribuir com a melhora do manejo dos transplantados renais que apresentam replicação do BKV. Desta forma, beneficiaremos não somente os pacientes, mas o sistema de saúde como um todo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os fatores predisponentes à replicação do vírus BK (BKV) e a decorrente evolução clínica em pacientes com insuficiência renal crônica submetidos ao transplante renal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a prevalência de pacientes em acompanhamento ambulatorial no período pós-transplante renal na Fundação Pró-Rim em Joinville/SC apresentando replicação do BKV;
- Traçar os perfis demográfico, clínico e laboratorial dos pacientes submetidos ao transplante renal apresentando replicação do BKV;
- Investigar os fatores predisponentes à replicação do BKV no pós-transplante renal;
- Avaliar o índice de perda do enxerto renal nos transplantados apresentando replicação do BKV.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. DOENÇA RENAL CRÔNICA

3.1.1 Conceito

De acordo com Romão Junior (2004), a Doença Renal Crônica (DRC) é definida pela presença de lesão renal que leva à perda lenta e progressiva da função renal. É uma síndrome causada por diversas doenças que reduzem progressivamente a filtração glomerular e causam lesão e perda irreversível da função dos rins (FERREIRA, 2012). A DRC é multicausal, tratável, controlável, mas incurável, progressiva e tem elevada morbidade e letalidade (BARROS et al., 2007).

As diretrizes da *National Kidney Foundation* (2002) definem a DRC como:

- Lesão renal por um período igual ou superior a três meses, definida por anormalidades estruturais ou funcionais do rim, com ou sem diminuição da filtração glomerular, evidenciada por anormalidades patológicas ou de marcadores de lesão renal, incluindo alterações sanguíneas ou urinárias, ou ainda exames de imagem;
- Taxa de filtração glomerular (TFG) inferior a 60 mL/min/1,73m² por um período igual ou superior a três meses, com ou sem lesão renal.

3.1.2 Aspectos gerais

As principais causas da insuficiência renal crônica são: DM, glomerulonefrite crônica, pielonefrite crônica, nefrosclerose hipertensiva, doença renovascular, rins policísticos, nefrolitíase, malformações congênitas e causas desconhecidas (BARROS et al., 2007).

Os fatores de risco são inúmeros e a DRC atinge um número cada vez maior de indivíduos, em parte devido ao processo de envelhecimento da população e ao aumento de portadores de hipertensão e DM, principais morbidades associadas ao desenvolvimento da disfunção dos rins (SILVA et al., 2008). Para realização do

diagnóstico das doenças renais, a estimativa da TFG é a prova laboratorial mais utilizada na avaliação da função renal. Para tanto, o teste realizado com maior frequência no laboratório clínico é a dosagem da creatinina sérica (PEREIRA et al., 2006).

A DRC é dividida em seis estágios funcionais baseados no grau de função renal do paciente, independentemente do diagnóstico etiológico (ROMÃO JUNIOR, 2004):

a) função renal normal sem lesão renal – inclui as pessoas dos grupos de risco para o desenvolvimento da doença, mas que ainda não desenvolveram a lesão renal;

b) fase de lesão com função renal normal – fases iniciais de lesão renal com filtração glomerular preservada;

c) fase de insuficiência renal funcional ou leve – início da perda de função dos rins. Os níveis de uréia e creatinina plasmáticos ainda são normais e não há sinais ou sintomas clínicos importantes de insuficiência renal;

d) fase de insuficiência renal laboratorial ou moderada – o paciente mantém-se clinicamente bem. A avaliação laboratorial já mostra níveis elevados de uréia e creatinina plasmáticos;

e) fase de insuficiência renal clínica ou severa – paciente com sinais e sintomas de disfunção renal. Apresenta sinais e sintomas acentuados de uremia (anemia, hipertensão arterial, edema, fraqueza, mal estar, sintomas digestivos);

f) fase terminal de insuficiência renal crônica – os rins já perderam o controle do meio interno. O paciente é intensamente sintomático. As suas opções terapêuticas são a diálise peritoneal ou hemodiálise e o transplante renal.

De acordo com as diretrizes do estadiamento da DRC propostas pelo KDOQI e atualizada pelo *National Collaborating Center for Chronic conditioni (2012)* é dividida em 5 estágios (INKER., et al 2014):

a) estágio 1: lesão renal com função glomerular normal ou aumentada (TFG > 90) e presença de albuminúria elevada (> 30 mg/24 h);

b) estágio 2: lesão renal com função glomerular levemente diminuída (TFG entre 60-89) e presença de albuminúria elevada (> 30 mg/24 h);

c) estágio 3a: lesão renal com função glomerular moderadamente diminuída (TFG entre 45-59) com presença ou ausência de albuminúria elevada (> 30 mg/24

h);

d) estágio 3b: lesão renal com função glomerular moderadamente diminuída (TFG entre 30-44) com presença ou ausência de albuminúria elevada (> 30 mg/24

h);

e) estágio 4: lesão renal com função glomerular severamente diminuída (TFG entre 15-29) com presença ou ausência de albuminúria elevada (> 30 mg/24

h);

f) estágio 5: Insuficiência renal crônica estando ou não em terapia renal substitutiva (TFG < 15) com presença ou ausência de albuminúria elevada (> 30 mg/24 h);

3.1.3 Impacto econômico e social

A Insuficiência Renal Crônica (IRC) em fase dialítica tem recebido atenção global como problema de saúde pública. A prevalência de pacientes em tratamento da doença no Brasil aumentou 150% em uma década, tendo passado de 24 mil em 1994 para 60 mil em 2004 (SZUSTER et al., 2009). Estimativas mais recentes da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN, 2013) indicam que as taxas de pacientes em hemodiálise vêm aumentando gradualmente ao longo dos anos, passando de 54.523 no ano 2003 para 100.397 em 2013, um aumento de 84,14%.

A taxa de prevalência de tratamento dialítico em 2012 foi de 503 pacientes por milhão da população (pmp) (CAVALVANTE et al., 2013) e o número estimado de pacientes que iniciaram tratamento em 2012 no Brasil foi de 34.366, correspondendo a uma taxa de incidência de 177 pacientes pmp, (SESSO et al., 2014).

A DRC, considerada a grande epidemia deste milênio, tem prevalência média de 11% nos países desenvolvidos. Infelizmente, no Brasil ainda não se dispõe de dados definitivos sobre a prevalência da DRC. Contudo, um estudo realizado em amostra de 24.248 indivíduos adultos utilizando o critério de DRC baseado em duas determinações da TFG inferior a 60 mL/min/1,73 m² e em um intervalo mínimo de três meses, mostrou que 2,3% dos avaliados apresentavam TFG menor 45 mL/min/1,73 m². Extrapolando para a população adulta brasileira, significa dizer que cerca de 3 milhões de brasileiros apresentam 1/3 ou menos de função renal residual (BASTOS et al., 2014).

O aumento do número de pacientes com DRC reflete diretamente no aumento de gastos com o tratamento. Siviero (2014) destaca que as modalidades de Terapia Renal Substitutiva (TRS) são classificadas na categoria de alta complexidade do Sistema Único de Saúde (SUS), envolvendo alta tecnologia e alto custo.

3.2 TERAPIA RENAL SUBSTITUTIVA

À medida que ocorre progressão da DRC, as consequências metabólicas do estado urêmico começam a manifestar-se, comprometendo praticamente todos os sistemas do organismo: cardiovascular, gastrointestinal, hematopoiético, imune, nervoso e endócrino (BARROS et al., 2007). O curso da DRC se caracteriza pela ocorrência de várias complicações (anemia, alterações do cálcio e fósforo, acidose metabólica, hipovitaminose D, entre outras) e comorbidades (doenças cardiovasculares, dislipidemia, diabetes) (PIRMOHAMED, 2010).

Evidenciando os agravos progressivos da DRC, a indicação para o início do tratamento em uma das modalidades de Terapia Renal Substitutiva (TRS), como Hemodiálise, Diálise Peritoneal ou Transplante Renal, acaba se tornando obrigatória. A decisão sobre qual modalidade escolher leva em consideração o desejo e a situação clínica em que o paciente se encontra. (BARROS et al; 2007).

A maioria dos pacientes com DRC é submetida à terapia renal substitutiva por meio de hemodiálise. No Brasil, 89,6% dos pacientes dialíticos fazem tratamento por meio dessa modalidade terapêutica (NEVES JUNIOR et al., 2011). Em julho de 2012, segundo Sesso et al. (2014), 91,6% dos pacientes em diálise crônica faziam tratamento por hemodiálise e 8,4% por diálise peritoneal, sendo que, desta, a diálise peritoneal automatizada era a modalidade predominante.

A hemodiálise consiste em um tratamento semanal, três dias na semana, com duração de quatro horas, no qual o paciente é instalado em uma máquina de diálise através de um acesso vascular (cateter ou fístula arteriovenosa). Dessa forma, ocorre a filtração do sangue pelo método de depuração extracorpórea por meio de um filtro especial que utiliza uma membrana semipermeável artificial (BARROS et al., 2007).

Outro método de terapia, porém não muito utilizado, é a diálise peritoneal, na

qual o paciente realiza seu tratamento em casa, diariamente, no período da noite, com aproximadamente dez horas de duração. Inicialmente, o paciente recebe o implante de um cateter peritoneal na região do abdômen e a filtração ocorre através da infusão da solução de diálise na cavidade peritoneal, que age como membrana semipermeável para depuração de toxinas urêmicas e drenagem de líquidos (BARROS et al., 2007).

De acordo com dados da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), em 2012 ocorreram 5.385 transplantes renais no Brasil, sendo 1.488 doadores vivos e 3.897 falecidos.

3.2.1 Transplante renal

O transplante renal consiste na cirurgia de implante de um rim de doador vivo ou falecido geralmente na fossa ilíaca (direita ou esquerda), através de uma incisão extraperitoneal, sendo a reconstrução do trato urinário realizada com o implante do ureter do enxerto na bexiga, chamada de ureteroneocistostomia, e as anastomoses arterial e venosa são realizadas na artéria e veia ilíacas externas, respectivamente (GARCIA et al., 2013). Para que a cirurgia de transplante renal aconteça são necessárias avaliações clínica, cirúrgica e psicossocial do paciente, além da realização de exames e verificação da compatibilidade com o possível doador em relação aos antígenos leucocitários humanos (HLA) (CUNHA et al., 2007).

Os transplantes renais são realizados com doadores vivos ou cadáveres, obedecendo à legislação específica brasileira para a regulamentação da disponibilização de órgãos para transplantes, qualquer que seja o tipo de doador (MANFRO et al., 2003). Para o transplante com doador falecido acontecer, o paciente deve ser inserido na Central Nacional de Captação e Distribuição de Órgãos (CNCDO), dessa forma concorrendo ao transplante segundo lista de espera do seu estado. Atualmente, o Brasil possui o maior sistema público de transplantes do mundo, subsidiando 95% desse tratamento, incluindo procedimento cirúrgico, medicação e acompanhamento necessários ao pós-transplante (MEDINA-PESTANA et al., 2004).

Para o transplante com doador vivo, o paciente necessita de doador compatível, de preferência de parentesco consanguíneo até quarto grau. As

vantagens de se dispor de um doador vivo são relacionadas à melhor sobrevida do paciente e do enxerto. Estudos mostram que as taxas de sobrevida do enxerto após um ano com doadores de primeiro grau são de 5 a 7% maiores que em doadores cadáveres (GARCIA et al., 2013).

O Brasil possui uma das maiores lista de espera para transplantes renais do mundo, com aumento crescente do tempo de espera (MACHADO et al., 2012), chegando há 34.000 pacientes na lista de espera (MEDIANA-PESTANA et al., 2004). Aproximadamente 150 centros transplantadores realizam em torno de 3.000 transplantes de rim por ano no país, número ainda insuficiente, atendendo apenas cerca de 10% dos indivíduos com IRC, em lista de espera (GARCIA et al., 2013). No atual contexto, constata-se que a oferta de órgãos é insuficiente para suprir a demanda de milhares de pacientes que aguardam na fila por um transplante de rim (MACHADO et al., 2012).

O transplante é a alternativa mais custo-efetiva para a DRC, uma vez que permite a reintegração do paciente às atividades cotidianas e melhora tanto a expectativa quanto à qualidade de vida (ACURCIO et al., 2013). Segundo o Registro Brasileiro de Transplantes de 2011 da ABTO, a sobrevida de um ano do paciente transplantado com doador vivo é de 97% e com doador falecido de 91% (ABTO, 2011). Além disso, Cherchiglia (2010) afirma que o transplante renal apresenta menores custos financeiros para o sistema de saúde em relação às demais TRS.

3.2.1.1 Imunossupressão

O sucesso do transplante renal depende da qualidade do cuidado ministrado ao paciente e da busca contínua de melhores práticas de cuidados de prevenção, principalmente quanto às infecções e aos sinais e sintomas de rejeição (CORREA, 2013). As medicações imunossupressoras, utilizadas para o tratamento pós-transplante, são essenciais para a manutenção do órgão transplantado. O objetivo do uso dessas medicações está em impedir a rejeição do aloenxerto (GARCIA et al., 2013).

De acordo com Garcia et al. (2012), nos anos de desenvolvimento da imunossupressão, entre 1965 e 1980, a sobrevida do enxerto aumentou de menos de 50% em um ano, para, pelo menos, 60% após o primeiro transplante renal de um

doador cadavérico, com base na imunossupressão com azatioprina e prednisona. A introdução da ciclosporina, na metade dos anos 1980, foi um grande avanço, levando a taxas de sobrevida acima de 90% e 80%, para o paciente e enxerto, respectivamente.

Nos últimos 20 anos, a melhor compreensão dos benefícios das drogas imunossupressivas combinadas, bem como a quimioprofilaxia de infecções oportunistas, contribuíram para uma melhora progressiva nos resultados clínicos. Receptores de transplantes renais de doadores cadavéricos e aqueles de doadores vivos dispõem, na atualidade, de estimativa de sobrevida de um ano, do paciente e do transplante, de aproximadamente 95% e 90%, respectivamente (GARCIA et al., 2012).

Esses bons resultados relacionados à rejeição, entretanto, não ocorrem sem que haja efeitos colaterais danosos aos pacientes. Além das toxicidades associadas, essas drogas e agentes biológicos agem de forma inespecífica, comprometendo a capacidade do sistema imune do receptor em reagir não somente contra os aloantígenos (efeito desejado), mas também contra uma série de outros antígenos estranhos, produzindo supressão da vigilância imunológica (efeito indesejado) (BARROS et al., 2007).

A imunossupressão e sua modulação apresentam relação direta com a incidência e a severidade dos eventos infecciosos, sendo maior durante as fases iniciais do transplante, quando o risco de rejeição é também maior. Aproximadamente 80% de todos os receptores de transplante renal apresentam alguma complicação infecciosa durante o primeiro ano de acompanhamento após o transplante, o que tem relação direta com o esquema de imunossupressão empregado (SOUSA et al., 2010).

As complicações na fase tardia também podem afetar consideravelmente os pacientes transplantados. Dentre elas, destacam-se hipertensão arterial, dislipidemia, catarata, distúrbio de crescimento e obesidade. Outras complicações podem surgir com menor frequência como DM, poliglobulia, trombose venosa profunda, depressão medular e hiperparatireodismo (GARCIA et al., 2013).

De acordo com a ABTO (2012), as principais causas de perda do enxerto entre receptores de rim são de origem imunológica (48%), o que está associado diretamente à rejeição aguda no pós-transplante, sendo as infecções virais a

principal causa de óbitos (50%).

Em um estudo de Sousa et al. (2010), sobre as complicações infecciosas no primeiro após o transplante renal realizado em São Paulo, os pacientes apresentaram 1.882 episódios infecciosos segundo a seguinte distribuição: 588 (31,3%) infecções do trato urinário, 225 (12%) infecções por citomegalovírus, 194 (10,3%) infecções da incisão cirúrgica, 172 (9,1%) infecções herpéticas, 99 (5,2%) infecções pulmonares, 81 (4,3%) infecções da corrente sanguínea e 523 (27,8%) infecções em outras localizações anatômicas.

3.3 POLIOMAVÍRUS

3.3.1 Aspectos gerais

Os poliomavírus pertencem à família *Polyomaviridae*, constituída por 16 espécies virais e oito espécies infectam diferentes mamíferos, a família inclui três membros: vírus JC (JCV); *Simian Virus 40* (SV40) e BKV (RANZI, 2012). São vírus com estrutura molecular muito semelhante, medindo aproximadamente 40 nm de diâmetro e possuem genoma circular de 5,1 kb composto de DNA de fita dupla (PASQUALOTO et al., 2004).

Os poliomavírus BKV e JCV foram coincidentemente isolados em 1971: BKV em urina de um paciente transplantado renal, cujas iniciais do nome eram B e K, e JCV do tecido cerebral de um paciente com linfoma de Hodking. Porém, somente em 1995 foi descrito o primeiro caso de nefrite associada aos poliomavírus (SILVA et al., 2013).

A infecção primária pelo BKV geralmente acontece na infância, variando desde casos assintomáticos até sintomas sugestivos de um simples resfriado. A transmissão ocorre principalmente por via oral, sendo também possível adquirir por transfusões sanguíneas, transplantes ou mesmo por via transplacentária. Após a infecção primária, em indivíduos imunocompetentes, o vírus entra em um período de latência, dispendo tropismo pelo trato urinário (PADOVA, 2004).

A prevalência da infecção pelo BKV é alta e aproximadamente 90% da população adulta é soropositiva. Na maioria dos indivíduos imunocompetentes não ocasiona consequências patológicas, porém em indivíduos imunocomprometidos

causa doença primária, com a reativação de um estado subclínico persistente para uma infecção lítica, resultando em virúria e viremia, potencialmente podendo conduzir à doença severa ou fatal (JIANG et al., 2009).

Quando o vírus latente é reativado ocorre uma infecção ascendente de célula-célula e sem um controle apropriado a infecção lítica prossegue, ou seja, cada acontecimento subsequente resulta na lise da célula hospedeira para a liberação do produto infeccioso, caracterizando o efeito citopática da replicação do BKV. Nesse momento surgem as inclusões virais nucleares e perinucleares nas células dos túbulos. A lise destas células infectadas resulta em infiltração viral no lúmen dos túbulos e na urina. A subsequente necrose das células tubulares e a desnudação da membrana basal e a destruição da parede dos capilares tubulares resulta em uma disseminação vascular do vírus (BOHL et al., 2007).

Todos os pacientes transplantados renais diagnosticados com viremia pelo poliomavírus apresentam deterioração variável da função do enxerto, manifestando-se por um aumento da creatinina sérica (RAMOS et al., 2012).

Medeiros et al. (2008) ressaltam que os fatores de risco para a reativação do BKV podem incluir aspectos do doador, receptor, do enxerto renal e o tipo de imunossupressão utilizada. São mencionados como fatores de risco inerentes ao doador: infecção por CMV, ausência do alelo HLA-C7 e doador falecido. Os fatores associados com o receptor incluem: idade avançada, sexo masculino, infecção por CMV, DM, BKV soronegativo, ausência de HLA-C7 e etnia caucasiana. Em relação aos fatores relacionados ao enxerto tem-se o tempo de isquemia fria e a função tardia do próprio enxerto.

As atuais estratégias de triagem do BKV baseiam-se em dois princípios básicos de investigação: 1) virúria seguida de viremia; 2) apenas viremia. Apesar de suas variações metodológicas, as duas estratégias mostraram-se igualmente eficazes na detecção de infecção por BKV, permitindo intervenção em tempo hábil (Bohl et al., 2007). O início de cada evento é variável: virúria geralmente é relatada a partir de 5 semanas após o transplante, seguida de viremia após outras 4-5 semanas, que por sua vez precede a BKVN em 8-12 semanas (Varella et al., 2015).

Em geral, os métodos baseados em virúria desempenham um papel de peso na triagem para BKVN (alto valor preditivo negativo (VPN)), apesar de seu fraco desempenho na indicação de doença renal ou doenças do trato urinário (baixo valor

preditivo positivo (VPP)), uma vez que menos da metade dos pacientes com virúria evolui para o estágio de viremia (Drachenberg et al., 2006).

Três métodos estão disponíveis para a triagem de virúria por BKV: citopatologia de urina (“células Decoy”), detecção/quantificação de DNA viral e Haufen urinário por microscopia eletrônica (Hirsch et al., 2013).

A citologia urinária visa detectar a presença de células Decoy, que são células epiteliais urinárias com corpos de inclusão viral intranuclear. Essas células podem ser vistas em microscópio ótico quando a urina está corada pelo método de Papanicolau (SILVA et al., 2013). Além disso, o VPN das células Decoy aproxima-se de 100%. Por outro lado, o VPP da investigação da presença de células Decoy para prever BKVN varia entre apenas 25% e 30%. Os resultados de citologia são mais suscetíveis a atrasos no processamento e envio das amostras, além de exigirem a presença de um citologista qualificado, o que resulta em um método com alto custo-benefício (Hirsch et al., 2013).

Com custo elevado, os métodos empregando microscopia eletrônica são baseados na detecção de partículas virais ou “Haufen,” definidas como agregados intimamente agrupados, com um mínimo de seis poliomavírus e arquitetura tridimensional característica. Os VPP e VPN de Haufen para BKVN são muito elevados, chegando a > 90%, podendo servir de meio não invasivo para diagnosticar BKVN pela urina (Singh et al., 2009).

A viremia ou virúria, por sua vez, é verificada por meio da quantificação do DNA do BKV por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os testes baseados em PCR para detecção/quantificação de DNA viral na urina ou sangue figuram entre os métodos de escolha nas atuais diretrizes. A vantagem é o alto VPN para BKVN. No entanto, fatores como o baixo VPP para BKVN, o custo da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR), a falta de padronização e a flutuação natural das cargas de BKV na urina podem representar desvantagens consideráveis (Hirsch et al., 2013). A PCR baseia-se na utilização de oligonucleotídeos complementares a determinadas regiões do DNA usados para amplificar parte do genoma do poliomavírus (SILVA et al., 2013). Através deste exame laboratorial é possível estimar a carga viral de cada paciente, títulos maiores que 10 cópias / mL são considerados positivos para viremia do BKV.

A viremia costuma ser demonstrada por PCR em todos os pacientes com

diagnóstico de nefropatia por BKV. Verifica-se presença consistente do BKV por PCR nas amostras sanguíneas à altura do diagnóstico de nefropatia e a presença de viremia pode predizer o desenvolvimento desta (HIRSCH et al., 2002).

A viremia pelo BKV, portanto, é universalmente considerada como o parâmetro mais importante para prever BKVN, atingindo um VPP $\geq 90\%$ e uma sensibilidade de 93% em cargas persistentemente elevadas de DNA de BKV ($> 10^4$ cópias /ml) (Hirsch et al., 2013), tornando-se o método de escolha em muitos centros de diagnóstico, além de ser recomendado pelo “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO, 2009).

Considerada o padrão ouro para o diagnóstico do BKV, apesar de constituir um procedimento invasivo, a biópsia renal pode detectar mudanças citopáticas como resultado de injúria ou de lise das células epiteliais tubulares renais causada pela replicação viral. A expressão genética do vírus também pode ser investigada por meio de técnicas histopatológicas e imunohistoquímicas (JIANG et al., 2009). Porém, Drachenberg (2001) ressalta que biópsias seriadas em doentes individuais indicam que os estágios precoces da nefropatia por BKV caracterizam-se por lesões focais, confinadas essencialmente à medula e sem infiltrados inflamatórios, que poderão não ser identificados nas biópsias.

3.3.2 Imunossupressão e infecção pelo BKV

O impacto do BKV está claramente associado à introdução de novas e mais potentes drogas imunossupressoras, usadas com sucesso para a prevenção e tratamento de rejeição aguda de transplantes (JIANG et al., 2009). Ramos et al (2012) afirmam que o desaparecimento do poliomavírus não foi confirmado em nenhum paciente no qual a imunossupressão não foi reduzida. Portanto, uma supressão imunológica inadequada pode resultar em rejeição, enquanto uma supressão excessiva pode resultar em nefropatia. Ambos as condições podem resultar em disfunção do enxerto, em nefrite tubulointersticial ou fibrose (BOHL et al., 2007).

A terapêutica da nefrite por BKV assenta-se na redução da imunossupressão. Embora permita a diminuição da carga viral, pode aumentar o risco de rejeição aguda do enxerto (ALMEIDA et al., 2006).

De acordo com Montagner et al. (2007), o imunossupressor tacrolimus é um potente inibidor da calcineurina, utilizado como profilaxia à rejeição aguda grave, porém tem sido fortemente associado ao desenvolvimento de nefropatia por poliomavírus, figurando no esquema imunossupressor de até 70% dos casos. É reconhecido que a incidência de nefropatia pelo BKV é significativamente maior em pacientes que receberam tacrolimus do que naqueles recebendo ciclosporina (BASSIL et al., 2014).

A dupla imunossupressão à base de tacrolimus e micofenolato de sódio tem sido considerada o fator de risco mais importante para a infecção pelo BKV. No entanto, esta tem sido relatada com qualquer esquema tríplice de drogas e, talvez, a carga total de drogas imunossupressoras seja o fator de risco mais importante (BASSIL et al., 2014).

Estudos apontam para uma menor incidência de nefropatia por BKV, assim como uma melhor evolução da doença, com a conversão para uso de Sirolimo (SRL), atingindo uma redução de cerca de 50% da carga viral após a modificação, associada à melhoria e/ou estabilização da função renal, não tendo sido observados episódios de rejeição aguda (ALMEIDA et al., 2006).

O mais importante passo para o controle do BKV parece ser a redução de terapia de imunossupressão. Alguns estudos defendem que receptores de transplante renal devem ser rastreados e aqueles que apresentarem risco de desenvolver a replicação do BKV, definidos por níveis elevados de viremia devem ter a imunossupressão reduzida preventivamente (SILVA et al., 2013).

3.3.3 Perda do enxerto renal por reativação do BKV

Em um estudo com 609 submetidos a transplante de rim, nos anos de 2007-2011, 130 pacientes (21,7%) desenvolveram viremia para o BKV durante o primeiro ano após o transplante e a função do enxerto em um ano foi significativamente pior na alta viremia persistente, chegando à incidência de 50% de nefropatia associada ao BKV na alta viremia e 34% na alta viremia persistente (ELFADAWY et al., 2014). Em outro estudo realizado por Ramos et al. (2012) com 67 pacientes diagnosticados com BKV, a percentagem global de perda de enxerto foi considerada pequena - 16,4% - quando comparada a outros relatos que indicaram até 80%. É provável,

contudo, que a perda do enxerto nos pacientes observados se tornaria mais importante com um acompanhamento mais longo. (RAMOS et al., 2012).

A prevalência de nefropatia associada ao BKV atinge 2-8% dos transplantados renais (HIRSCH et al., 2002). Dados de Hirsch et al. (2006) reforçam que a nefropatia afeta cerca de 8% dos transplantados renais, provocando a rejeição do rim em 10-80%. De acordo com Bassil et al. (2014), a nefropatia pelo BKV se manifesta como um aumento gradual e assintomático nos níveis de creatinina sérica e resulta em perda do enxerto ou disfunção permanente em 40% a 60% dos casos.

Para impedir a evolução do BKV algumas tentativas de tratamento foram apresentadas, para ALMEIDA et al. (2006), a associação de terapêutica com Cidofovir e gamaglobulina e a redução da imunossupressão poderá ser um esquema promissor no tratamento desta infecção, contrariando a perda inexorável do enxerto renal.

Segundo BURGOS et al. (2010), em relação à terapia antiviral com cidofovir, leflunomida, quinolonas e imunoglobulina IV, todas têm sido usadas empiricamente dificultando a mensuração da sua eficácia mesmo porque foram administradas em combinação com a redução dos imunossupressores. Esses relatos seguem também com falta de estudos prospectivos randomizados controlados para evidenciar a eficácia desses resultados.

Em vista disso após o diagnóstico da nefropatia pelo BKV, cerca de metade dos pacientes evoluem para perda progressiva da função do enxerto renal em dois anos, com necessidade de retorno à terapia renal substitutiva (HIRSCH et al., 2005).

4. METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, retrospectivo e não intervencionista baseado na coleta, análise e correlação de dados clínicos e laboratoriais gerados durante a rotina ambulatorial pregressa de pacientes submetidos ao transplante renal.

4.2 POPULAÇÃO ALVO E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Pacientes em acompanhamento pós-transplante no ambulatório de transplante renal da Fundação Pró-Rim, localizado na cidade de Joinville/SC.

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo todos os pacientes transplantados renais que realizaram exame laboratorial para verificação da carga viral do BKV entre outubro de 2013 a outubro de 2014, sem restrição de sexo, idade, doença de base, grupo sanguíneo, contagem de Painel de Reatividade de Anticorpos (PRA), tipo de transplante renal (doador vivo ou doador falecido) e esquema de imunossupressão utilizada.

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos que, embora tenham realizado a investigação da reativação do BKV, apresentem dados clínicos e/ou laboratoriais incompletos nos períodos pré e pós-transplante, impedindo a consecução dos objetivos propostos, assim como aqueles que tenham abandonado o seguimento ambulatorial ou seguem em acompanhamento pós-transplante em outra instituição.

4.3 VARIÁVEIS DO ESTUDO

4.3.1 Carga viral do BKV

A carga viral do BKV foi determinada durante a rotina progressiva de acompanhamento ambulatorial pós-transplante, conforme a rotina do serviço na Fundação Pró-Rim, por meio da coleta (punção venosa) de 5 mL de sangue periférico em frasco contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante. Os resultados encontram-se disponíveis na própria fundação e foram obtidos por meio de consulta autorizada ao prontuário eletrônico, conforme rotina padronizada do ambulatório.

A carga viral é estabelecida empregando-se a técnica qPCR. Essa reação combina a PCR convencional com um mecanismo de detecção e quantificação por fluorescência, o que permite que as etapas de amplificação, detecção e quantificação de DNA alvo sejam realizadas conjuntamente, agilizando a obtenção de resultados, diminuindo o risco de contaminação das amostras e fornecendo maior precisão ao resultado. O DNA viral foi extraído com emprego do kit Biopur Mini Spin Plus 250 (Biometrix, Curitiba, Brasil) e a viremia pelo BKV foi investigada com utilização do kit BKV Q-PCR Alert (Nanogen Advanced Diagnostics, Torino, Itália), dispondo limite inferior de detecção igual a 10 genomas equivalentes/mL.

4.3.2 Dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais.

Os dados necessários foram obtidos por meio de consulta aos prontuários médicos, localizados no ambulatório de pós-transplante renal da Fundação Pró-Rim. As informações contidas nos prontuários somente foram acessadas após obtenção da anuência do responsável pela instituição.

Para facilitar a elaboração do banco de dados e a análise das informações extraídas, as variáveis do estudo foram divididas em:

- Dados epidemiológicos: sexo e idade;
- Dados clínicos: doença de base, esquema de imunossupressão, tipo de doador - vivo ou falecido - e número de transfusões;

- Dados laboratoriais: contagem do Painel de Reatividade de Anticorpos - PRA, tipo sanguíneo, creatinina sérica na alta hospitalar e função renal pós-transplante.

As informações coletadas foram inseridas em banco de dados construído especificamente para os fins da pesquisa utilizando-se o programa *Microsoft Excel* 2010. Erros de consistência e de omissão cometidos durante a digitação foram detectados via conferência subsequente. Os dados captados e todas as informações compiladas em arquivo digital foram utilizados exclusivamente para a elaboração de produção científica e mantidos em sigilo por cinco anos após o término da pesquisa.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes estatísticos foram desenvolvidos empregando-se o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 17.0. As diferenças entre proporções observadas nas análises da tabela 1 foram testadas quanto à significância por meio do teste qui-quadrado com correção de Yates, teste exato de Fisher ou Teste T, quando apropriados. Os valores de P iguais ou inferiores a 0,05 foram considerados significativos, considerando-se um intervalo de confiança de 95%. A análise multivariada de preditores de risco da tabela 2 foi realizada com regressão logística binominal, com um intervalo de confiança de 95%. As análises descritivas da tabela 3 foram realizadas sem a utilização de teste estatístico. A análise de sobrevida contida na figura 1 foi realizada conforme curva de Kaplan-Meier e a comparação das curvas foi realizada conforme o teste de Log-rank ponderado.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), conforme diretrizes estabelecidas na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e complementares (Parecer 830.565).

Nenhum procedimento realizado exclusivamente para os fins da pesquisa trouxe qualquer impacto aos pacientes no período de condução do estudo, não

influenciando a conduta clínica. Não são previstos benefícios diretos aos pacientes incluídos na pesquisa.

O banco de dados necessário à pesquisa, contendo informações como sexo, idade, procedência, diagnóstico inicial, grupo sanguíneo, tipo de terapia renal substitutiva utilizada anteriormente ao transplante, tempo de diálise até o transplante, contagem de PRA, tipo de transplante renal (doador vivo ou doador falecido), indução, esquema de imunossupressão utilizada e carga viral do BKV, entre outros, foi criado e utilizado exclusivamente para a elaboração da produção científica e permanecerá sob responsabilidade dos pesquisadores nas instituições proponente (UNIVILLE) e coparticipante (Fundação Pró-Rim) por cinco anos após a conclusão da pesquisa, em locais de acesso controlado. Ao término deste período, todos os registros eletrônicos e impressos serão apropriadamente destruídos, garantindo-se a continuidade do anonimato dos pacientes associados aos dados analisadas no presente estudo.

Toda publicação ou divulgação associada à pesquisa foram realizadas sem a identificação dos pacientes. A identidade de cada indivíduo foi mantida em absoluto sigilo, pois os pesquisadores apenas farão uso, após autorização expressa, de dados estatísticos anonimizados mantidos pelo setor de transplante renal da Fundação Pró- Rim.

Considerando o exposto acima e o compromisso com a não utilização de dados que possam identificar os pacientes cujos dados laboratoriais, clínicos e epidemiológicos foram analisados, foi solicitado à dispensa de proposição e utilização de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Todos os preceitos éticos e os requisitos dispostos na Resolução CNS 466/2012 e complementares, que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, foram estritamente observados pelos pesquisadores.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE, este capítulo será apresentado na forma de artigo científico encaminhado para publicação no periódico “Journal of Clinical Virology”.

Evaluation of the predisposition and clinical impact of BK virus replication in kidney transplant patients

ABSTRACT

Background: The BK virus (BKV) produces a subclinical kidney infection in immunocompetent individuals. However, viremia may occur in kidney transplant patients with ongoing immunosuppression. BKV-associated nephropathy (BKVN) has no specific treatment and is a leading cause of organ transplant loss.

Objectives: We evaluated the predisposition and the clinical impact of BKV replication in kidney transplant patients during post-transplant monitoring in a reference institution in Brazil.

Study design: Demographic, clinical and laboratory data generated during routine outpatient follow-up were retrospectively collected. BK viremia was investigated using real-time polymerase chain reaction.

Results: Of the 553 participants, 7.4% (n = 41) presented BKV replication. Of these, 16 (39%) lost their kidney graft and interstitial nephritis was identified on kidney biopsy in 50% of the cases. Among the evaluated variables, only the use of the immunosuppressant mycophenolate sodium was identified as a risk factor for viremia (OR 7.96; 95% CI 2.35 to 26.98). The graft survival estimate in BKV-positive patients was significantly reduced (24.8% vs. 85.6%) after 10 years of transplantation.

Conclusions: We concluded that defining predisposing factors remains an important challenge for the prevention and control of BKV activity following kidney transplantation, especially considering the development of BKVN and its strong effect on graft maintenance.

Keywords: Renal transplantation, BK virus, viremia, nephropathy.

1. Background

Kidney transplantation is considered to be the best method of treatment for patients with chronic kidney failure. Transplantation provides the patients with a better quality of life and full reintegration into daily activities in addition to increasing their life expectancy and representing the most cost effective option [1,2]. Despite the numerous scientific and technological advances aimed at prolonging kidney graft survival, the recurrence of chronic nephropathy and both long and short term graft loss have been attributed to the development of opportunistic infections, especially BK virus (BKV) infection [3].

Infection with BKV, which belongs to the *Polyomaviridae* family, usually occurs in childhood. After primary infection, the virus remains latent and presents tropism for the urinary tract [4]. Typically, reactivation of the polyomavirus only occurs in cases of autoimmune disease and in immunocompromised individuals, such as those infected with the human immunodeficiency virus (HIV) and solid organ transplant patients because these conditions involve altered immune systems [5]. Although infection is generally asymptomatic, active infection may result in viremia and viruria [4].

BKV-associated nephropathy (BKVN) is associated with high morbidity and mortality and is the most common viral disease that affects the kidney graft parenchyma. BKVN may cause graft dysfunction, premature failure and loss [6]. It has a prevalence of 1 to 10% and leads to permanent graft dysfunction or loss in 40% to 60% of cases [7,8]. All kidney transplant recipients with BKV replication have variable deteriorating graft function, which is manifested as an increase in serum creatinine [9].

The risk factors for BKV reactivation are not completely understood but may include factors related to the donor, recipient, kidney graft and type of immunosuppression used [10,11]. Among other variables, a weakened immune status, advanced age, male gender, Caucasian ethnicity and diabetes have been proposed as risk factors for BKV manifestation [12]. Furthermore, the immunosuppression load administered after transplantation has been reported to be the primary risk factor for BKVN development [13].

2. Objectives

BKVN is a growing problem in the kidney transplant recipient population [14]. There is no specific treatment for BKVN, and evolution to graft loss requires that the patient returns to the kidney replacement therapy program, which raises the associated costs. These are the main reasons that this phenomenon has been studied in transplant centers worldwide [15,16]. The aim of the study was to investigate the prevalence of and the predisposing factors for BKV replication after kidney transplantation and the ensuing clinical outcome.

3. Study design

3.1 Study type and target population

This study was a cross-sectional observational study based on the collection, analysis and correlation of the retrospective demographic, clinical and laboratory data generated during routine clinical visits from patients undergoing kidney

transplantation. The study was approved by the University of Region of Joinville Research Ethics Committee (reference no. 830,565).

The study included kidney transplant patients undergoing post-transplant monitoring at the Pró-Rim Foundation who were investigated for BK viremia during the period between October 2013 (which corresponds to the beginning of regular screening for BK viremia in the institution) and October 2014. Pró-Rim Foundation is an outpatient clinic located in Joinville, Santa Catarina, southern Brazil, which coordinated over 1,400 transplantations since its foundation in 1978, reaching a mean annual number of 85 in the last five years.

3.2 Investigation of viremia

Five mL of peripheral blood was collected from each patient in a bottle containing the anticoagulant ethylenediaminetetraacetic acid. Viral DNA was extracted using the Biopur Mini Spin Plus 250 kit (Biometrix, Curitiba, Brazil). BK viremia was investigated using the real-time polymerase chain reaction technique with the BKV Q-PCR Alert kit (Nanogen Advanced Diagnostics, Torino, Italy), which has a detection limit of 10 genome equivalents/mL.

3.3 Demographic, clinical and laboratory data

The necessary data were obtained by consulting the medical records. Study variables were divided into demographic (age and gender), clinical (underlying disease, immunosuppression regimen, type of substitutive kidney therapy prior to transplant, donor type (alive or dead) and number of transfusions) and laboratory

data (antibody reactivity panel count [ARP], blood type, serum creatinine level and post-transplant kidney function). Based on locally established practice, a serum creatinine level greater than 2.5 mg/dL at discharge was considered a poor prognosis of kidney function. Similarly, the kidney graft was considered to be functioning in the immediate post-transplant period when urine output and a reduction in the serum creatinine level were observed.

3.4 Statistical analysis

Statistical tests were performed using SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software version 17.0. The differences between the proportions shown in Table 1 were tested for significance using the Chi-square test with Yates correction, Fisher's exact test or T-test when appropriate. *P* values equal to or less than 0.05 were deemed significant based on a 95% confidence interval.

Multivariate analysis of the risk predictors shown in Table 2 was performed with binomial logistical regression with a 95% confidence interval. The descriptive analyses shown in Table 3 were performed without the use of statistical analysis. The survival analysis shown in Figure 1 was performed using the Kaplan-Meier curve, and the comparison of curves was performed using the weighted log-rank test.

4. Results

A total of 702 patients were under outpatient monitoring during the study period. The

established inclusion criteria led to the enrollment of 553 (78.8%) kidney transplant recipients, including 359 men (41.4 ± 13.2 years old) and 194 women (41.3 ± 13.3 years old). Forty-one (7.4%) patients tested positive for post-transplantation BKV replication. The mean age in this group was 42.5 ± 11.0 years old, with males (73.2%) and blood type A (48.8%) being prevalent. The mean time between dates of transplantation and post-transplant blood collection for viremia investigation did not differ for BKV positive (158.7 ± 251.3 weeks) and negative (245.2 ± 241 weeks) replication groups. Table 1 shows the distribution of BK viremia cases according to the demographic, clinical and laboratory characteristics.

Most patients received graft from deceased donors (69.3%) and had an ARP between 0 and 50% (92.4%). Immediate post-transplantation kidney function and the 2.5 mg/dL serum creatinine threshold at discharge did not differ between the BKV-negative and BKV-positive patient groups. The immunosuppressant mycophenolate sodium (MPS) was significantly more represented among patients with post-transplantation BKV replication (85.4%). Only one patient (2.2%) among those with exclusively cyclosporine-based (CsA) or azathioprine-based ($n = 46$) immunosuppression had post-transplantation BK viremia, whereas this positivity reached 7.9% ($n = 40$) in patients administered other immunosuppressants ($n = 507$). Table 2 shows the distribution of patients according to post-transplant BKV replication and the demographic, clinical and laboratory data proposed in some studies as BKVN predictors in kidney transplant patients.

The only evaluated risk predictor in the multivariate analysis showing an association with BK viremia was the use of MPS (OR 7.96; 95% IC 2.35 to 26.98). The other variables studied were not significant with regard to risk, including the male gender, deceased donor, immediate post-transplant kidney function and the use of the

immunosuppressant tacrolimus (TAC).

Table 3 contains the causes associated with kidney graft loss and patient death. Of the 44 (8%) graft losses in the study sample, 16 (39%) occurred in patients with active BKV and eight (50%) of these patients had post-transplant interstitial nephritis evidenced in biopsy. Seven (17%) patients in the group with BK viremia died, whereas the mortality rate in the non-viremia group was 2.1%.

The accumulated kidney graft survival probabilities in patients negative and positive for viremia were compared to investigate the effect of BKV on the kidney graft. In the absence of BKV replication, kidney graft survival at 10 years was 85.6%, whereas among viremia-positive patients the survival at 10 years was 24.8%. Therefore, kidney transplant recipients with BKV replication were associated with poorer graft survival ($P<0.001$), as shown in Figure 1.

5. Discussion

Post-transplant BKVN is a major cause of graft dysfunction and loss [15,16]. Kidney graft loss is attributed to the toxic effects of the virus, which causes desquamation of the epithelial cells in the urine and induces an inflammatory response that infiltrates the tubular interstices, thereby causing the development of fibrosis and tubular atrophy [8]. In the present study, we demonstrated the profound effect of BK viremia on graft survival in immunosuppressed kidney transplant patients.

According to the 2014 Brazilian Transplantation Registry data from the Brazilian Organ Transplant Association, the survival of kidney grafts from living and deceased donors was 88% and 75%, respectively, after 4 years [17]. In our study, the overall survival of kidney transplant patients after 10 years of follow-up was 77.6%. A

significant reduction (approximately 6 years) was observed in kidney graft survival among viremia-positive patients, which confirms the serious consequences of BKVN evolution.

The prevalence of BKV replication in kidney transplants varies widely between institutions from different areas. In a study conducted in Leeds, UK, between 2006 and 2009, 12 (10.7%) of 112 kidney transplant patients were diagnosed as BKV positive [18]. In Strasbourg, France, 48 (20%) of 240 kidney transplant patients showed BKV replication [19]. The prevalence of active BKV infection in a study in Guangzhou City, China, with 229 kidney recipients was 3.1% [11]. In a study of 609 patients undergoing kidney transplantation in Ohio, United States of America (USA), between 2007 and 2011, 130 (21.7%) patients developed BK viremia [21]. In turn, Schachtner et al. [20] studied 862 kidney transplant patients in Berlin, Germany, between 2004 and 2012 and confirmed that 11.9% of the cases were BKV-positive. In the present study, the prevalence of positive viral replication, which is considered a marker for the occurrence of BKVN, was 7.4%. To the best of our knowledge, this is the first report on the prevalence of post-kidney transplant BKV replication in Brazil.

Uncertainty regarding the risk factors predisposing a patient to viral replication is an aggravating factor for the occurrence of BKVN [11]. Medeiros et al. [10] proposed cytomegalovirus (CMV) co-infection, the absence of the HLA-C7 allele and the donor being deceased as risk factors inherent to the donor. Factors associated with the recipient included advanced age, male gender, CMV infection, diabetes mellitus (DM), BKV seronegativity, the absence of HLA-C7 and Caucasian ethnicity. Factors directly related to the graft included a long cold ischemia time and delayed kidney function of the graft itself. In the population served in Joinville, kidney transplant

patients with BK viremia were predominantly male, but there was no significant difference when compared to the group without viral replication. Likewise, the advanced age (over 60 years) mentioned in some studies as a possible risk factor showed no significance in the present study.

In a study by Huang et al. [11], the association with BKV replication was lower in patients who received their kidneys from a living donor than in those who received a deceased donor graft. This same study also noted that kidneys transplanted from deceased donors using TAC tended to have an increased risk of BKV infection development. In the present study, most of the kidney transplant patients with BK viremia received grafts from deceased donors (n = 32; 78%).

Risk factors for active BKV infection in the era of therapeutic drug monitoring have also not been fully identified [22]. In some studies, the use of TAC associated with mycophenolate mofetil (MMF) was alleged to represent a high risk factor for BKV infection activation [23,24]. In another study, the incidence of BKVN was lower in subjects who received CsA and MMF than in those who did not receive this immunosuppression [11]. In the present study, a strong risk association was observed between MPS-based treatment and active BKV infection, which corroborated the results observed by Borni-Duval et al. [19] and Schachtner et al. [20] in which viremia-positive patients using higher doses of mycophenolate were at increased risk of progression to BKVN.

According to Montagner et al. [25], the immunosuppressant TAC, which is a potent calcineurin inhibitor used as prophylaxis for severe acute rejection, was strongly associated with the development of BKVN and was present in the immunosuppressant regimen of up to 70% of cases. It has been recognized that the incidence of BKVN is significantly higher in patients who received TAC than in those

who received CsA [7]. In our study, a lower rate of individuals with viremia was observed among patients using CsA-based or azathioprine-based immunosuppressants. Furthermore, in contrast to previous reports, our analysis found no risk association between TAC and the occurrence of BKV replication.

Double immunosuppression based on TAC and MPS has been proposed as the most important risk factor for active BKV infection. However, this combination has been reported in any triple therapy drug regimen. Therefore, the total load of immunosuppressive drugs may be the most important risk factor [7]. Although the incidence of viremia is higher in heart transplant recipients than recipients of other organs (with the exception of kidney recipients), BKV replication appears to be a complication that predominantly affects kidney transplant recipients; therefore, the immunosuppression intensity may not be solely responsible [16,26].

Several authors have investigated BK viremia and the progression of nephropathy. Hirsch et al. [27] reported that graft loss reached 10% to 80% of BK-positive viremia cases. After the BKVN diagnosis, approximately half of the patients developed progressive loss of kidney graft function within two years and needed to return to kidney replacement therapy. In a more recent study, the authors noted that BKV replication had emerged as a major complication (1-10% of cases) in kidney transplants and was responsible for graft loss in 30-80% of cases [6]. Schachtner et al. [20] reported that 24 (2.8%) out of 103 BKV-positive patients who received a transplantation between 2004 and 2012 progressed to nephropathy, 14 died (13.6%), 12 returned to dialysis (11.6%) and 24 (12.5%) progressed to graft loss. Elfadawy et al. [21] stated that the graft function of BK viremia-positive patients one year after the confirmation of viremia was significantly worse, resulting in the development of BKVN in 50% of the patients. A similar study in Washington, USA,

found that graft failure was high among patients with BK viremia, reaching 80% of cases [28]. In our study, the overall rate of graft loss reached 8% (n = 44) of cases. However, 16 (39%) of 41 patients with BK viremia progressed to the loss of the kidney graft and 7 (17.1%) to death; these rates were significantly higher than those observed for BKV-negative transplant patients.

It is important to note that other factors in addition to the studied variables (i.e., the immunosuppressant dose) may have affected the occurrence of post-transplant viral replication. Moreover, the best methodological design to determine risk factors would have been the establishment of a prospective cohort study. Nevertheless, the present study sought to outline the risk factors for BKV replication and their post-transplant effect in one of the institutions performing high number of kidney transplants in Brazil. Therefore, this study constitutes unprecedented research in Latin America.

As demonstrated in the present study, kidney transplant patients are predisposed to BKV replication (particularly patients using post-transplant MPS), with a consequent reduction in kidney graft survival. Due to the absence of a specific antiviral treatment [29], the early diagnosis of BKV replication allows improving clinical and laboratory care of affected patients and makes it possible to reverse the negative effect of a modifiable factor, such as the immunosuppression regimen indicated for each case. Based on our results, we suggest that an early and periodic evaluation of viremia may contribute to the management of the anti-rejection prophylactic immunosuppression and of the evolution of BKVN, because kidney function is reversible during the early stages of lesion progression [30].

Funding

This work was supported by the Research Fund from the University of Region of Joinville (FAP/UNIVILLE).

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest to declare.

Ethical approval

This study was approved by the University of Region of Joinville Research Ethics Committee (reference no. 830,565).

Acknowledgements

The authors thank the patients and medical staff at Pró-Rim Foundation and the Brazilian Federal Agency for the Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for providing a scholarship to researcher EBM. We also thank Dr. Helbert do Nascimento Lima for helpful comments and discussion.

References

- [1] J. Alvares, C.C. Cesar, F. de A. Acurcio, E.I. Andrade, M.L. Cherchiglia, Quality of life of patients in renal replacement therapy in Brazil: comparison of treatment modalities, *Qual. Life Res.* 21 (2011) 983-991.
- [2] K.M. Harada, E.L. Mandia-Sampaio, T.V. de Sandes-Freitas, CR. Felipe, S.I. Park, P.G. Pinheiro-Machado, R. Garcia, H. Tedesco-Silva Jr, J.O. Medina-Pestana, Risk factors associated with graft loss and patient survival after kidney transplantation, *Transplant. Proc.* 41 (2009) 3667-3670.
- [3] A. Egli, S. Binggeli, S. Bodaghi, A. Dumoulin, G.A. Funk, N. Khanna, D. Leuenberger, R.

- Gosert, H.H. Hirsch, Cytomegalovirus and polyomavirus BK posttransplant, *Nephrol. Dial. Transplant.* 22(Suppl 8) (2007) 72-82.
- [4] H.T. Silva Jr, C.R. Felipe, M. Abbud-Filho, V. Garcia, J.O. Medina-Pestana, The emerging role of Brazil in clinical trial conduct for transplantation, *Am. J. Transplant.* 11 (2011) 1368-1375.
- [5] W. Manitpisitkul, C. Drachenberg, E. Ramos, R. Munivenkatappa, B. Philosophe, D. Klassen, A. HaririanA, Maintenance immunosuppressive agents as risk factors for BK virus nephropathy: a case-control study, *Transplantation* 88 (2009) 83-88.
- [6] H.H. Hirsch, P. Randhawa and AST Infectious Diseases Community of Practice, BK polyomavirus in solid organ transplantation, *Am. J. Transplant.* 13(Suppl 4) (2013) 179-188.
- [7] N. Bassil, L. Rostaing, C. Mengelle, S. Kallab, L. Esposito, J. Guitard, I. Cardeau-Desangles, H. Weclawiak, J. Izopet, N. Kamar, Prospective monitoring of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, BK virus, and JC virus infections on belatacept therapy after a kidney transplant, *Exp. Clin. Transplant.* 12 (2014) 212-219.
- [8] M. Dekeyser, H. François, S. Beaudreuil, A. Durrbach, Polyomavirus-specific cellular immunity: from BK-virus-specific cellular immunity to BK-virus-associated nephropathy? *Front. Immunol.* 6 (2015) 1-7.
- [9] E. Ramos, C.B. Drachenberg, J.C. Papadimitriou, O. Hamze, J.C. Fink, D.K. Klassen, R.C. Drachenberg, A. Wiland, R. Wali, C.B. Cangro, E. Schweitzer, S.T. Bartlett, M.R. Weir, Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients, *J. Am. Soc. Nephrol.* 13 (2002) 2145-2151.
- [10] M. Medeiros, J. Alberú, G.R. Garcia, E. Fonte, L. Velasquez, Polyoma virus in transplant recipients, *Nefrologia* 28 (2008) 203-211.
- [11] G. Huang, L. Zhang, X. Liang, J. Qiu, R. Deng, J. Li, G. Cheng, Y. Dong, L. Chen, Risk factors for BK virus infection and BK virus-associated nephropathy under the impact of intensive monitoring and pre-emptive immunosuppression reduction, *Transplant. Proc.* 46 (2014) 3448-3454.

- [12] A.C. Zalona, R.B. Varella, C.M. Takiya, R.T. Goncalves, M.G. Zalis, G. Santoro-Lopes, Qualitative seminested PCR assay as an alternative to urine cytology for BK polyomavirus screening after renal transplantation, *Intervirology* 56 (2013) 249-252.
- [13] R. Boothpur, D.C. Brennan, Human polyoma viruses and disease with emphasis on clinical BK and JC, *J. Clin. Virol.* 47 (2010) 306-312.
- [14] I.C.G. Silva, L.N. Rotta, J.A.T Polani, Decoy cells: an aid in the diagnosis of polyomavirus infection, *NewsLab* 118 (2013) 88-98.
- [15] M. Siguier, P. Sellier, J.F. Bergmann. BK-virus infections: a literature review, *Med. Mal. Infect.* 42 (2012) 181-187.
- [16] C. Mbianda, A. El-Meanawy, A. Sorokin, Mechanisms of BK virus infection of renal cells and therapeutic implications, *J. Clin. Virol.* 71 (2015) 59-62.
- [17] Brazilian Association of Organ Transplantation (ABTO). Brazilian Transplantation Registry (2007 - 2014). Available at: http://www.abto.org.br/abtov03_ingles/Upload/file/BrazilianTransplantationRegistry/rbt-ingles-2014.pdf. Accessed: 2016 March 27th.
- [18] B.K. Saundh, R. Baker, M. Harris, M.P. Welberry Smith, A. Cherukuri, A. Hale, Early BK polyomavirus (BKV) reactivation in donor kidney is a risk factor for development of BKV-associated nephropathy, *J. Infect. Dis.* 207 (2013) 137-141.
- [19] C. Borni-Duval, S. Caillard, J. Olagne P. Perrin, L. Braun-Parvez, F. Heibel, B. Moulin, Risk factors for BK virus infection in the era of therapeutic drug monitoring, *Transplantation* 95 (2013) 1498-1505.
- [10] T. Schachtner, N. Babel, P. Reinke, Different risk factor profiles distinguish early- onset from late-onset BKV-replication, *Transpl. Int.* 28 (2015) 1081-1091.
- [21] N. Elfadawy, S.M. Flechner, J.D. Schold T.R. Srinivas, E. Poggio, R. Fatica, R. Avery, S.B. Mossad, Transient versus persistent BK viremia and long-term outcomes after kidney and kidney-pancreas transplantation, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 9 (2014) 553-561.
- [27] H.H. Hirsch, D.C. Brennan, C.B. Drachemberg F. Ginevri, J. Gordon, A.P. Limave, M.J.,

Mihatsch, V. Nickeleit, E. Ramos, P. Randhawa, R. Shapiro, J. Steiger, M. Suthanthiran, J. Trofe, Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations, *Transplantation* 79 (2005) 1277-1286.

[22] M.K. Sahoo, S.K. Tan, S.F. Chen B. Kapusinszky, K.R. Concepcion, L. Kielson, K. Mallempati, H.M. Farina, M. Fernández-Viña, D. Tyan, P.C. Grimm, M.W. Anderson, W. Concepcion, B.A. Pinsky, Limited variation in BK virus T-cell epitopes revealed by Next-Generation Sequencing, *J. Clin. Microbiol.* 10 (2015) 3226-3233.

[23] D.C. Brennan, I. Agha, D.L. Bohl, M.A. Schnitzler, K.L. Hardinger, M. Lockwood, S. Torrence, R. Schuessler, T. Roby, M. Gaudreault-Keener, G.A. Storch, Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction, *Am. J. Transplant.* 5 (2005) 582-594.

[24] M. Koukoulaki, E. Grispou, D. Pistolas K. Balaska, T. Apostolou, M. Anagnostopoulou, A. Tseleni-Kotsovili, V. Hadjiconstantinou, O. Paniara, G. Saroglou, N. Legakis, S. Drakopoulos, Prospective monitoring of BK virus replication in renal transplant recipients, *Transpl. Infect. Dis.* 11 (2009) 1-10.

[25] J.M. Montagner, T.F. Michelon, R.B. Schroeder B.T. Fontanelle, A.T.D. Oliveira, J.G. Silveira, M.S. Graudenz, C.O.P. Alexandre, J. Neumann, Polyomavirus – an emergent pathogen in transplant recipients, *Einstein* 5 (2007) 184-189.

[26] V. Viswesh, S.E. Yost, B. Kaplan, The prevalence and implications of BK virus replication in non-renal solid organ transplant recipients: a systematic review, *Transplant. Rev. (Orlando)* 29 (2015) 175-180.

[28] G.P. Balba, B. Javaid, J.G. Timpone Jr, BK polyomavirus infection in the renal transplant recipient, *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 27 (2013) 271-283.

[29] M. Lebreton, L. Esposito, C. Mengelle, A. Del Bello, A. Delarche, G. Dörr, D. Milongo, O. Marion, J. Izopet, N. Kamar, A 3-month course of ciprofloxacin does not prevent BK virus replication in heavily immunosuppressed kidney-transplant patients, *J. Clin. Virol* (2016) *in press*.

[30] B. Vasudev, S. Hariharan, S.A. Hussain, Y.R. Zhu, B.A. Bresnahan, E.P. Cohen, BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients, *Kidney Int.* 68 (2005) 1834-1839.

Table 1

Pre and post-transplant patient characteristics according to negative (-) or positive (+) post-kidney transplantation BKV replication.

	BKV (-) (n = 512)	BKV (+) (n = 41)	P value
Age (years) [n (%)]			
Mean ± SD	42.1 ± 13.6	42.5 ± 1.0	0.82 *
Range	9 – 73	20 – 76	-
Gender [n (%)]			
Female	183 (35.7)	11 (26.8)	0.25 †
Male	329 (64.3)	30 (73.2)	
Blood Type [n (%)]			
A	199 (38.9)	20 (48.8)	0.21 †
B	46 (9.0)	1 (2.4)	0.24 ‡
AB	18 (3.5)	2 (4.9)	0.65 ‡
O	249 (48.6)	18 (43.9)	0.56 †
Number of Transfusions [n (%)]			
Mean ± SD	1.7 (3.1)	1.8 (2.2)	0.91 *
Range	0 – 27	0 – 10	-
Donor type [n (%)]			
Living	161 (31.4)	9 (22.0)	0.20 †
Deceased	351 (68.6)	32 (78.0)	
ARP [n (%)]			
0 - 50%	476 (93.0)	35 (85.4)	0.07 ‡
> 50%	36 (7.0)	6 (14.6)	
Post-transplant kidney function [n (%)]			
Not functioning	272 (53.1)	21 (51.2)	0.81 †
Functioning	240 (46.9)	20 (48.8)	
Serum creatinine at discharge (mg/dL) [n (%)]			
≤ 2.5	492 (96.1)	37 (90.2)	0.09 ‡
> 2.5	20 (3.9)	4 (9.8)	
Immunosuppression type [n (%)]			
TAC	314 (61.3)	32 (78.0)	0.03 †
MPS	271 (52.9)	35 (85.4)	< 0.01 †

Statistical tests: * T test; † Chi-square; ‡ Fisher's exact. SD: standard deviation; ARP: antibody reactivity panel; TAC: tacrolimus; MPS: mycophenolate sodium.

Table 2

BKV replication predictors in kidney transplant patients.

	Group	n (%)	Odds Ratio (CI 95%)	P Value
Male gender	BKV (-)	329 (64.3)	-	0.24
	BKV (+)	30 (73.2)	1.77 (0.79-3.85)	
Deceased donor	BKV (-)	351 (68.6)	-	0.14
	BKV (+)	32 (78.0)	2.47 (0.73-8.31)	
Immediate post-transplant kidney function	BKV (-)	240 (46.9)	-	0.24
	BKV (+)	20 (48.8)	1.54 (0.74-3.22)	
TAC immunosuppression	BKV (-)	314 (61.3)	-	0.53
	BKV (+)	32 (78.0)	0.71 (0.24-2.05)	
MPS immunosuppression	BKV (-)	271 (52.9)	-	< 0.01
	BKV (+)	35 (85.4)	7.96 (2.35-26.98)	

TAC: tacrolimus; MPS: mycophenolate sodium.

Table 3.

Causes of kidney graft loss and death of kidney transplant patients.

	BKV (-)	BKV (+)	Total
Graft loss [n; (%)]			
Interstitial nephritis	0 (0.0)	8 (50.0)	8 (18.2)
Infection	5 (17.9)	1 (6.3)	6 (13.6)
Humoral vascular rejection	4 (14.3)	1 (6.3)	5 (11.4)
Renal vein thrombosis	3 (10.7)	1 (6.3)	4 (9.1)
Chronic rejection	4 (14.3)	0 (0.0)	4 (9.1)
Acute cellular rejection	2 (7.1)	0 (0.0)	2 (4.5)
Other causes	10 (35.7)	5 (31.3)	15 (34.1)
Total	28 (100.0)	16 (100.0)	44 (100.0)
Death [n; (%)]			
Cardiovascular disease	2 (18.2)	2 (28.6)	4 (22.2)
Other causes	9 (81.8)	5 (71.4)	14 (77.8)
Total	11 (100.0)	7 (100.0)	18 (100.0)

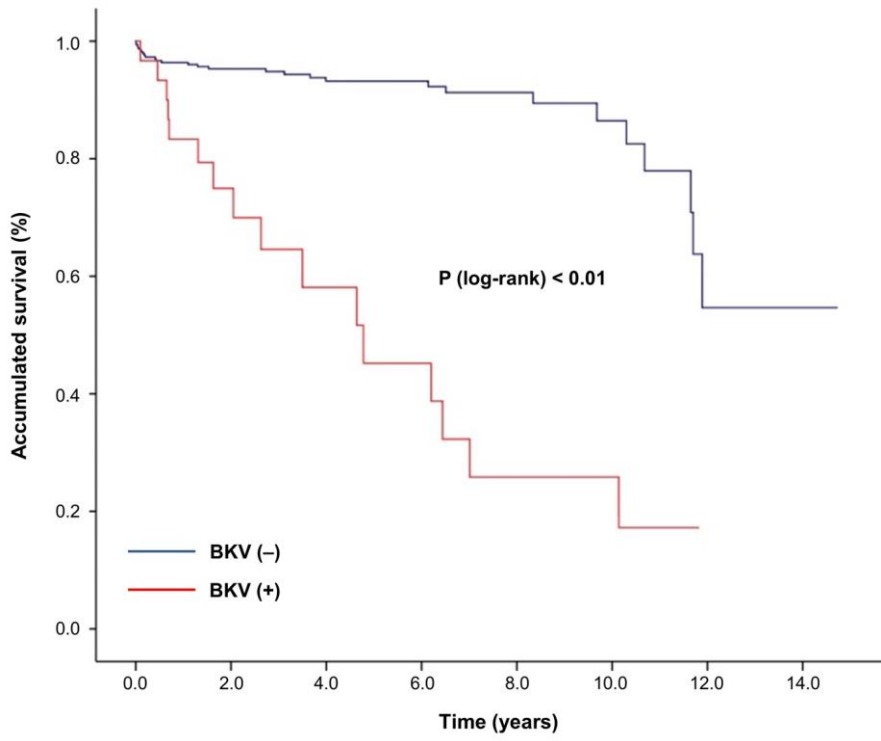


Figure 1. Kidney graft survival in BKV-negative or -positive transplant patients.

Dear Dr. Elviani Moura,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Journal of Clinical Virology

Corresponding Author: Paulo Franca

Co-Authors: Elviani B Moura, MSc; Silvia V Petzhold; Augusto R Amaral; Luciane M Deboni, MSc;

Title: Evaluation of the predisposition and clinical impact of BK virus replication in kidney transplant patients

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at ph.franca@univille.br; phfranca@terra.com.br; do not follow the link below.

An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.

We would like to invite you to link your ORCID ID to this submission. If the submission is accepted, your ORCID ID will be linked to the final published article and transferred to CrossRef. Your ORCID account will also be updated.

To do this, visit our dedicated page in EES. There you can link to an existing ORCID ID or register for one and link the submission to it:

<http://ees.elsevier.com/jcv/l.asp?i=101927&l=35A0C7ET>

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our help page: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923

Like other Publishers, Elsevier supports ORCID - an open, non-profit, community based effort - and has adapted its submission system to enable authors and co-authors to connect their submissions to their unique ORCID IDs.

Thank you,

Journal of Clinical Virology

6 CONCLUSÃO

No presente estudo investigaram-se os fatores de risco associados à replicação do BKV no pós-transplante renal e o decorrente impacto clínico em pacientes atendidos no ambulatório de uma instituição de referência para a Insuficiência Renal Crônica em Joinville/SC. Nossas principais conclusões obtidas no estudo foram:

- Dentre os 553 transplantados renais avaliados, 41 (7,4%) apresentavam replicação viral positiva no pós-transplante.
- Os pacientes dispendo viremia pelo BKV no pós-transplante apresentavam $42,5 \pm 11,0$ anos, sendo a maioria (73,2%) do sexo masculino. Cerca de metade (48,8%) apresentavam o tipo sanguíneo A, 9,8% eram diagnosticados com DM II, 78% receberam enxerto de DF e 15,4% apresentavam PRA acima de 50%. MPS e TAC eram utilizados por 85,4% e 78% dos transplantados BKV positivos, respectivamente.
- Dentre os parâmetros analisados com potencial de associação, o único fator atuante como preditor de risco à viremia pelo BKV no pós-transplante foi o imunossupressor MPS (OR 7,96; IC 95% 2,35-26,98), sugerindo que, na instituição estudada, tais pacientes em uso de MPS necessitem de uma vigilância apropriada em vista da probabilidade de desenvolvimento de BKVN.
- A taxa de perda do enxerto renal dos pacientes com replicação do BKV atingiu 39% dos casos e a mortalidade observada foi de 17,1%. Nefrite intersticial esteve presente em 50% (8/16) dos transplantados BKV positivos.
- A sobrevida do enxerto renal em 10 anos nos pacientes sem replicação do BKV foi de 85,6%, enquanto entre os pacientes positivos para a viremia observou-se sobrevida de 24,8%. Esta redução significativa na sobrevida do enxerto não somente alerta como também confirma as consequências irreversíveis causadas pela infecção ativa pelo BKV.

REFERÊNCIAS

ACURCIO, F. A.; SATURINO, L. T. M.; SILVA, A. L.; OLIVEIRA, G. L. A.; ANDRADE, E. I. G.; CHERCHIGLIA, M. L.; CECCATO, M. G. B. Análise de custo-efetividade dos imunossupressores utilizados no tratamento de manutenção do transplante renal em pacientes adultos no Brasil. **Caderno Saúde Pública**, v. 29, supl. 1, p. 92-109, 2013.

Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro / dezembro - 2011 – Brasil [Internet]. 2011.

Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO). Dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro / dezembro - 2012 – Brasil [Internet]. 2012.

ALMEIDA, M.; MARTINS, L. S.; DIAS, L.; SILVESTRE, F.; PEDROSO, S.; PEREIRA, P.; OLIVEIRA, V.; HENRIQUES, A. C.; SARMENTO, A. M.; CABRITA, A. Infecção por Poliomavírus: tratamento com Cidofovir e Imunoglobulina Inespecífica, um esquema promissor? **Revista Portuguesa de Nefrologia e Hipertensão**, v. 20, n.1, p. 51-60, 2006.

BARROS, E.; MANFRO, C. R.; THOMÉ, S. F.; GONÇALVES, F. L. **Nefrologia: rotinas, diagnósticos e tratamento**, Porto Alegre: Artmed, 3. ed, 2007.

BASSIL, N.; ROSTAING, L.; MENGELLE, C.; KALLAB, S.; ESPOSITO, L.; GUITARD, J.; CARDEAU-DESANGLES, I.; WECLAWIAK, H.; IZOPET, J.; KAMAR, N. Prospective monitoring of cytomegalovirus, epstein-barr virus, BK virus, and JC virus infections on belatacept therapy after a kidney transplant. **Experimental and Clinical Transplantation**, v. 12, n. 3, p. 212-219, 2014.

BASTOS, M. G. Interação medicamentosa na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 1, p. 8-9, 2014.

BOHL, D. L.; BRENNAN, D. C. BK virus nephropathy and kidney transplantation. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. v. 2, p. S: 36-46, 2007.

BURGOS, D., JIRONDA, C., MARTÍN, M., GONZÁLEZ-MOLINA, M., HERNÁNDEZ, D. Nefropatía asociada a infección por poliomavirus BK. **Nefrología (Madrid)**, vol. 30, n.6, p. 613-617, 2010.

CAVALCANTE, M. C. V.; LAMY, Z. C.; FILHO, F. L.; FRANÇA, A. K. T. C.; SANTOS, A. M.; THOMAZ, E. B. A. F.; SILVA, A. A. M.; FILHO, N. S. Fatores associados à qualidade de vida de adultos em hemodiálise em uma cidade do nordeste do Brasil. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. São Paulo, v. 35, n. 2, 2013.

CHERCHIGLIA, M. L.; MACHADO, E. L.; SZUSTER, D. A. C.; ANDRADE, E. I. G.; ACURCIO, F. A.; CAIAFFA, W. T.; SESSO, R.; JUNIRO A. A. G.; QUEIROZ, O. V.; GOMES, I. C. Perfil epidemiológico dos pacientes em terapia renal substitutiva no Brasil, 2000-2004. **Revista de Saúde Pública**. v. 44, n. 4, p. 639-649, 2010.

CORREA, A. P. A.; BRAHM, M. M. T.; TEIXEIRA, C. C.; FERREIRA, S. A. L.; MANFRO, R. C.; LUCENA, A. F.; ECHER, I. C. Complicações durante a internação de receptores de transplante renal. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 34, n. 3, 2013.

CUNHA, C. B.; PONCE DE LEÓN, A. C.; SCHRAMM, J. M. A.; CARVALHO, M. S.; SOUZA JÚNIOR P. R. B.; CHAIN, R. Tempo até o transplante e sobrevida em pacientes com insuficiência renal crônica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 1998-2002. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 805-13, 2007.

DRACHENBERG, R. C.; DRACHENBERG, C. B.; PAPADIMITRIOU, J. C.; et al. Morphological spectrum of polyoma disease in renal allografts. Diagnosis accuracy of urine cytology. **American Journal of Transplantation**, v. 1, p. 373-381, 2001.

DRACHENBERG, C. B.; PAPADIMITRIOU, J. C.; RAMOS E. Histologic versus molecular diagnosis of BK polyomavirus-associated nephropathy: a shifting paradigm? **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 1, p. 374-9, 2006.

ELFADAWY, N., FLECHNER, S. M., SCHOLD, J. D., SRINIVAS, T. R., POGGIO, E., FATICA, R., & MOSSAD, S. B. Transient versus Persistent BK Viremia and Long-Term Outcomes after Kidney and Kidney–Pancreas Transplantation. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 9, n. 3, p. 553-561, 2014.

KDIGO. KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES (KDIGO) TRANSPLANT WORK GROUP. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. **American Journal of Transplantation**, v 9, p. 51-155, 2009.

FERREIRA, L. A. S. Diagnósticos e cuidados de enfermagem implantados na prática clínica em pacientes submetidos ao transplante renal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; **Escola de Enfermagem**, v. 3, p. 7-9, 2012.

GARCIA, G. G.; HARDEN, P.; CHAPMAN, J. O Papel Global do Transplante renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 34, n. 1, p. 01-07, 2012.

GARCIA, D. C.; PEREIRA, D. J.; ZAGO, K. M.; GARCIA, D.V. **Manual de doação e transplantes**, v. 6, 1ªed, p. 89-220, 2013.

HARADA, K. M.; SAMPAIO, E. L. M.; FREITAS, T. V. S.; FELIPE, C. R.; PARK, S. I.; MACHADO, P. G. P.; GARCIA, R.; JÚNIOR, H. T. S.; MEDINA-PESTANA, J. O. Fatores de risco associados à perda do enxerto e óbito após o transplante renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 30, n.3, p. 213-20, 2008.

HIRSCH, H. H. Polyomavirus nephropathy: A (re)emerging complication in renal transplantation. **American Journal of Transplantation**. v. 2, p. 25-30, 2006.

HIRSCH, H. H.; BRENNAN, D. C.; DRACHEMBERG, C. B.; GINEVRI, F.; GORDON, J.; LIMAYE, A. P.; MIHATSCH, M. J.; NICKELEIT, V.; RAMOS, E.; RANDHAWA,

P.; SHAPIRO, R.; STEIGER, J.; SUTHANTHIRAN, M.; TROFE, J. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. **Transplantation**, v. 79, n. 10, p. 1270-86, 2005.

HIRSCH, H. H.; KNOWLES, W.; DICKENMANN, M.; PASSWEG, J.; KLIMKAIT, T.; MIHATSCHI, M. J.; STEIGER, J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal- transplant recipients. **The New England Journal of Medicine**. v. 96, p . 347:488, 2002.

HIRSCH, H. H.; RANDHAWA, P. AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation. **American Journal of Transplantation**, v. 13, p. 179:188, 2013.

INKER, L. A.; ASTOR, B. C.; FOX, C.H.; ISAKOVA, T.; LASH, J. P.; PERALTA, C. A. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. **American Journal of Kidney Diseases**, v 63, p 35-713, 2014.

JIANG, M.; ABEND, J. R.; JOHNSON, S. F.; IMPERIALE, M. J. The role of polyomaviruses in human disease. **Virology**. v. 384, n. 2, p. 266-273, 2009.

MACHADO, E. L.; GOMES, I. C.; ACURCIO, F. A.; CÉSAR, C. C.; ALMEIDA, M. C. M.; CHERCHIGLIA, M. L. Fatores Associados ao ritmo de Espera e Acesso ao Transplante renal em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Caderno Saúde Pública**, v. 28, n. 12, 2012.

MANFRO, C. R.; CARVALHAL, G. F. Transplante renal. **Revista Associação Médica do Rio Grande do Sul (AMRIGS)**, v. 47, n. 1, p. 14-9, 2003.

MEDEIROS, M.; ALBERÚ, J.; GARCIA, G. R.; FONTE, E.; VELASQUEZ, L. Poliomavírus no transplante renal. **Nefrologia**. v. 28, n. 2, p. 203-211, 2008.

MEDINA-PESTANA. J. O.; VAZ, M. L. S.; PARK, S. I.; GARCIA, V. D.; ABBUD-FILHO, M.; CAMPOS, H. H.; Organ transplantation in Brazil in the year 2002. **Transplantation Proceedings**. v. 36, n.4, p. 799-801, 2004.

MONTAGNER, J. M.; MICHELON, T. F; SCHROEDER, R. B.; FONTANELLE, B. T.; OLIVEIRA, A. T. D.; SILVIERA, J. G.; GRAUDENZ, M. S.; ALEXANDRE, C. O. P.; NEUMANN, J. Poliomavírus – um patógeno emergente para receptores de transplantes. **Einstein**. v. 5, n. 2, p. 184-189, 2007.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **American Journal of Kidney Diseases**. v. 39, p. 51-266, 2002.

NEVES JUNIOR, M. A.; MELO, R. C.; ALMEIDA, C. C.; FERNANDES, A. R.; PETNYS, A.; IWASAKI, M .L. S.; RABONI, E. Avaliação da perviedade precoce das fistulas arteriovenosas para hemodiálise. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 10, n. 2, p. 105-9, 2011.

PADOVA, C. D. Stopping a medical research Project for financial reasons. **Nephrology Dialysis Transplantation**. v. 19, p. 1015-1023, 2004.

PASQUALOTO, A. C.; MATTOS, A. J. Z.; ROCHA, M. M. Progressive multifocal leukoencephalopathy confirmed by PCR for JC vírus in L Case report. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. v. 62, n. 2 , p. 550-554, 2004.

PEREIRA, A. B.; NISHIDA, S. K.; MASTROIANNI KIRSZTAJN, G. Como avaliar o ritmo de filtração glomerular. **Jornal Brasileiro Nefrologia**. v. 28, n. 2, p. 15-58, 2006.

PINHEIRO, C.; MENEZES, F. Guia de Conduta em Nefropatia por poliomavírus em Transplante Renal, **Grupo de Infecção em Transplante da UNIFESP**. v. 1, p. 2-4, 2011.

PIRMOHAMED, M. Drug-drug interactions and adverse drug reactions: separating the wheat from the chaff. **Wiener klinische Wochenschrift** . v. 122, p. 62-64, 2010.

RANZI, A. D.; PROLLA, J. C.; KEITEL, E.; BRACKMANN, R.; KIST, R. DOS SANTOS, G. T.; BICA, C. G. The Role of Urine Cytology for 'Decoy Cells' as a Screening Tool in Renal Transplant Recipients. **Acta Cytologica**. v 56, 543-547, 2012.

RAMOS, E.; DRACHENBERG, C. B.; PAPADIMITRIOU, J. C.; HAMZE, O.; FINK, C. F; KLASSEN, K. D.; DRACHENBERG, C. R.; WILAND, A.; WALI, R.; CANGRO, B. C.; SCHWEITZER, E.; BARTLETT, T. S.; and WEIR, R. M. Curso clínico da nefropatia do poliomavírus em 67 pacientes transplantados renais. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. v. 13, n. 8, p. 2145-2151, 2012.

ROMÃO JÚNIOR, J. E. Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 26, n.3, supl.1, p.1-3, 2004.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOME, F. S.; LUGON, J. R.; WATANABE, Y.; SANTOS, D. R. Relatório do Censo Brasileiro de Dialise Crônica 2012. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 1, p. 48-53, 2014.

SESSO, R. C.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; WATANABE, Y.; SANTOS, D. R.; et al. Report of the Brazilian Chronic Dialysis Census 2012. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 36, n.1, p. 48-53, 2014.

SILVA, G. D. Avaliação dos gastos realizados pelo Ministério da Saúde com medicamentos de alto custo utilizados no tratamento da DRC por pacientes do SUS no Estado de Minas Gerais - 2000 a 2004. Programa de Pós Graduação em Saúde Pública. **Universidade Federal de Minas Gerais**. Dissertação, 2008.

SILVA, H. T.; FELIPE C. R.; ABBUD-FILHO M.; GARCIA, V.; MEDINA-PESTANA, J. O. The emerging role of Brazil in clinical trial conduct for transplantation. **American Journal of Transplantation**. v. 11, n. 7, p. 75-1368, 2011.

SILVA, I. C. G.; ROTTA, L. N.; POLANI, J. A. T. Células Decoy: um auxílio no

Diagnóstico da Infecção por Poliomavírus, **Revista Edição 118**, v. 1, p. 1-13, 2013.

SIVIERO, P. C. L.; MACHADO, C. J.; CHERCHIGLIA, M. L. Insuficiência renal crônica no Brasil segundo enfoque de causas múltiplas de morte. **Caderno de Saúde Coletiva**, v. 22, n. 1, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA - SBN. Censo Geral 2013. Disponível em: http://www.sbn.org.br/pdf/censo_2013_publico.pdf.

SOUSA, S. R.; GALANTE, N. Z.; BARBOSA, D. A.; PESTANA, J. O. M. Incidência e fatores de risco para complicações infecciosas no primeiro ano após o transplante renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v.32, n.1, p.77-84, 2010.

SZUSTER, D. A. C.; SILVA, G. M. S.; ANDRADE, E. I. G.; ACÚRCIO, F. A.; CAIAFFA, W. T.; GOMES I. C.; MACHADO, E. L.; ALVES, J.; JUNIOR, A. G.; QUEIROZ, O. V.; SILVA, G. D.; CARVALHO, D. M.; CASTRO, M. H. A.; SILVA, H. M. M.; CHERCHIGLIA, M. L. Potencialidades do uso de bancos de dados para informação em saúde: o caso das Terapias Renais Substitutivas (TRS) - morbidade e mortalidade dos pacientes em TRS. **Revista Medicina de Minas Gerais**. v. 19, n. 4, p. 308-16, 2009.

SINGH, H. K.; ANDREONI, K. A.; MADDEN, V.; TRUE, K.; DETWILER, R.; WECK, K.; et al. Presence of urinary Haufen accurately predicts polyomavirus nephropathy. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. v, 20, p. 416-27, 2009.

VARELLA, R. B.; ALMEIDA, J. R.; LOPES, P. F.; MATOS, J. P. S.; MENEZES, P.; LUGON, J. R. BK poliomavírus em receptores do transplante renal: rastreamento, monitoramento viral e manuseio clínico. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v, 36, p. 529-534, 2014.

AUTORIZAÇÃO

Nome do autor: *Oliviani Band Fideles*

RG: *6.882.453*

Título da Dissertação: *Avaliação da Predisposição e impacto clínico da replicação do Vírus BK em Transplantados Renais.*

Autorizo a Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, através da Biblioteca Universitária, disponibilizar cópias da dissertação de minha autoria.

Joinville, *20* de *04* de 2016.

Oliviani Band Fideles
Mestrado(a)