

## INFECÇÕES POR VÍRUS DO GRUPO HERPES EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE RENAL

Claudio Sergio PANNUTI (1), Renato Piza de Souza CARVALHO (2), Vicente AMATO NETO (1), Emil SABBAGA (3) e Maria José de Oliveira ÂNGELO (2)

### RESUMO

Estudando prospectivamente 33 pacientes submetidos a transplante renal, através da dosagem de anticorpos em amostras seriadas de soro, observou-se que 22 destes pacientes (66,6%) apresentaram evidência sorológica de infecção pelo citomegalovírus, após a cirurgia. A infecção por este vírus ocorreu mais frequentemente nos pacientes que já possuíam anticorpos fixadores do complemento antes da cirurgia (80%) do que nos que não possuíam estes anticorpos previamente (46,1%). Embora a incidência de anticorpos para o vírus de Epstein-Barr e o vírus do **Herpes simplex** fosse muito elevada no soro destes pacientes, antes do transplante (100% e 87,5%, respectivamente), evidência sorológica de infecção por estes dois vírus foi da ordem de 3% somente.

### INTRODUÇÃO

Os esforços iniciais para conseguir realizar homotransplantes renais em pacientes com insuficiência renal terminal, no início da década de 50, foram frustrados em quase todos os casos pela rejeição imunológica do rim transplantado. A utilização de drogas imunossupressoras, iniciada anos mais tarde, veio modificar substancialmente este panorama, contribuindo para o controle da rejeição e permitindo que muitos se beneficiassem desta medida terapêutica. Entretanto, a imunossupressão também fez com que vários agentes infecciosos, chamados genericamente de agentes oportunistas, passassem a ocasionar doença nos pacientes transplantados, levando-os muitas vezes ao óbito.

Ao lado de bactérias, fungos, protozoários e helmintos, o citomegalovírus (CMV) logo foi caracterizado como um destes agentes oportunistas, incidindo com grande frequência<sup>1,5,6</sup> e

significado clínico variável<sup>14,16,18,20</sup> neste grupo de doentes. Uma revisão do material de autópsia de pacientes com transplante renal, levando em conta o tratamento administrado, comprovou ser a imunossupressão a grande responsável pela elevada incidência de infecção pelo CMV<sup>11</sup>.

Outros vírus do grupo herpes (vírus do **Herpes simplex** (VHS), vírus de Epstein-Barr (VEB) e vírus da **Varicella-zoster**) têm a capacidade de permanecer em estado latente após a infecção primária com reativações sob determinadas condições<sup>7</sup>. Assim é que também passaram a ser estudados nos receptores de transplante renal<sup>12,13,15,19</sup> mas nenhum deles mostrou ter a mesma importância que o citomegalovírus.

Este trabalho consiste em um estudo prospectivo para se avaliar, através da dosagem

Trabalho executado no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil

- (1) Departamento de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina da USP e Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (2) Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (3) Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da F.M.U.S.P.

de anticorpos em amostras seriadas, qual a prevalência de infecções pelo citomegalovírus, pelo vírus do **Herpes simplex**, e pelo vírus de Epstein-Barr em pacientes submetidos a transplante renal.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Pacientes** — foram estudados prospectivamente 33 pacientes submetidos a transplante renal na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da FMUSP, no período de 1972 a 1974. A idade destes, na época da cirurgia, variou de 9 a 54 anos (média de 27,9 anos), sendo 17 do sexo masculino e 16 do feminino. A imunossupressão, em todos os pacientes foi feita com azathioprina e prednisona. A primeira, na dosagem de 2 a 4 mg/kg/dia, era iniciada dois dias antes do enxerto ou no dia da cirurgia. A prednisona foi usada na dose inicial de 1,5 mg/kg/dia, diminuindo-se progressivamente esta dosagem até uma dose basal de manutenção variável de 10 a 20 mg/dia. Em raros pacientes conseguiu-se a suspensão do corticosteroide mantendo-se em todos a azathioprina. Para o tratamento das crises de rejeição a dose de prednisona era aumentada, com rápido retorno ao nível de pré-rejeição ou, então, administrava-se metilprednisolona (3 a 4 g). Em raros pacientes foi associada também heparina e/ou actinomicina D.

**Colheita de amostras de soro e seguimento** — Os pacientes foram acompanhados por período que variou de 26 a 425 dias após o transplante (média de 143,6 dias), tendo sido colhidas de todos eles uma amostra de sangue imediatamente antes da cirurgia e pelo menos duas amostras posteriormente. O número de amostras variou de 3 a 11 (média de 5,8 por paciente), sendo o intervalo entre elas de duas a quatro semanas. Na colheita foram utilizados tubos estéreis, e após a separação do soro, estes eram congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e assim armazenados até sua utilização.

**Reações sorológicas** — Em todas as amostras colhidas foram dosados anticorpos para o citomegalovírus, para o vírus de Epstein-Barr e para o vírus do **Herpes simplex**.

Quanto ao citomegalovírus, utilizou-se a reação de fixação do complemento pela microtécnica, com 50% de hemólise<sup>21</sup>, empregando-se a amostra Ad 169 (Flow laboratories) co-

mo antígeno. Em relação ao vírus de Epstein-Barr foram pesquisados anticorpos anti-cápside viral (anti-EB VCA), pela técnica da imunofluorescência indireta de HENLE & HENLE<sup>8</sup>, usando-se como fonte de antígeno o clone Pe HR1, da linhagem Jijoye, do linfoma de Burkitt. Para o vírus do **Herpes simplex** também foi usada a imunofluorescência indireta, técnica de HENLE & HENLE modificada<sup>4</sup>, servindo como fonte de antígeno e amostra de McIntyre do vírus do **Herpes simplex** tipo I, inoculado em células VERO.

### RESULTADOS

Como pode ser observado na Tabela I, dos 33 pacientes nos soros dos quais foram dosados anticorpos para o citomegalovírus antes do transplante, 20 (60,6%) já tinham anticorpos presentes. Destes 20 pacientes 16 (80%) apresentaram, durante o período de seguimento, evidência sorológica de infecção, definido pelo aumento do título de anticorpos de quatro ou mais vezes em relação à dosagem inicial. Quanto aos 13 pacientes em que estes anticorpos estavam ausentes antes do transplante renal, pôde-se constatar o seu aparecimento em seis, configurando assim infecção primária em 46,1% dos pacientes deste grupo. No total, portanto, 22 dos 33 pacientes estudados (66,6%) apresentaram evidências sorológicas de infec-

TABELA I  
 Infecções por vírus do grupo herpes em pacientes submetidos a transplante renal

	Anticorpos antes da cirurgia	Infecção pós-transplante
Citomegalovírus (CMV)	Presentes: 20 (60,6%)	16 (80,0%)
	Ausentes: 13 (39,4%)	6 (46,1%)
	Total: 33 (100,0%)	22 (66,6%)
Vírus do Epstein-Barr (VEB)	Presentes: 31 (100,0%)	1 (3,2%)
	Ausentes: 0 (0,0%)	0 (0,0%)
	Total: 31 (100,0%)	1 (3,2%)
Vírus do Herpes simplex (VHS)	Presentes: 28 (87,5%)	1 (3,5%)
	Ausentes: 4 (12,5%)	0 (0,0%)
	Total: 32 (100,0%)	1 (3,1%)

ção pelo CMV. Na mesma tabela, observamos que todos os 31 pacientes nos quais se dosou anticorpos anti-EB VCA já apresentavam estes anticorpos presentes antes do transplante. Evidência sorológica de infecção pelo vírus de Epstein-Barr pós-transplante foi observada em apenas um deles (3,2%).

Anticorpos para o vírus do **Herpes simplex**, à semelhança do vírus EB, estavam presentes em quase todos os pacientes antes do transplante renal (28 em 32, ou seja, 87,5%). Destes 28 pacientes, apenas um apresentou evidência sorológica de infecção após o transplante (3,5%). Dos quatro com anticorpos ausentes

antes da cirurgia, nenhum sofreu infecção primária por este vírus.

Como pode ser visto na Tabela II, o tempo decorrido para evidenciar sorologicamente a infecção pelo CMV após o transplante renal foi bem diferente nos pacientes com infecção primária e nos pacientes que já apresentavam anticorpos para o CMV antes do transplante, pois enquanto nas infecções primárias os anticorpos apareceram sempre depois do 1.º mês pós-transplante (5 dos 6 entre 4 e 8 semanas), na maioria dos pacientes que possuíam anticorpos previamente o aumento de título se deu logo nas primeiras quatro semanas após o transplante.

TABELA II

Tempo decorrido para evidenciação sorológica de infecção pelo citomegalovírus após o transplante renal

Época da infecção	Número de pacientes com evidência sorológica de infecção		Total
	Com Ac ausentes antes do transplante	Com Ac presentes antes do transplante	
0 — 4 semanas	0	9	9
4 — 8 semanas	5	5	10
> 8 semanas	1	2	3
Total	6	16	22

Quanto ao VEB, o único paciente que apresentou evidência sorológica de infecção o fez entre o 32.º e o 94.º dia pós-cirurgia e em relação ao VHS esta ocorreu entre 10 e 61 dias após o transplante.

Os títulos iniciais dos anticorpos fixadores do complemento para o CMV, nos pacientes submetidos a transplante renal, podem ser vistos na Tabela III. Nota-se que nove dos 16 casos com anticorpos prévios à cirurgia e que apresentaram evidência sorológica de infecção tinham títulos de 1:4 e 1:8. Podemos notar também que dos 11 pacientes que não apresentaram indicio sorológico de infecção pelo CMV após o transplante, sete não tinham anticorpos

prévios, e os quatro restantes tinham títulos iguais ou superiores a 1:16.

O tempo de acompanhamento dos pacientes transplantados foi sempre superior a 8 semanas, com exceção de seis casos. Destes seis, somente dois foram acompanhados por menos de quatro semanas (25 e 29 dias), devendo-se salientar que ambos tinham anticorpos fixadores do complemento para o CMV ausentes antes da cirurgia. Em relação aos outros quatro, acompanhados por quatro a oito semanas, três já possuíam estes anticorpos previamente. Evidência sorológica de infecção pelo CMV foi constatada em apenas um paciente deste grupo, portador de anticorpos específicos para este vírus ao ser transplantado e que foi acompanhado por 53 dias após a cirurgia.

T A B E L A I I I

Relação entre os títulos de AcFc (\*) para o citomegalovírus antes do transplante e incidência de infecção pós-transplante renal

Título de Ac Fc (*)	Distribuição dos títulos de AcFc (*)		Total
	Nos pacientes com evidência sorológica de infecção pós TR(**)	Nos pacientes sem evidência sorológica de infecção pós TR(**)	
< 1:4	6	7	13
1:4	4	0	4
1:8	5	0	5
1:16	0	1	1
1:32	3	1	4
1:64	3	2	5
≥ 1:128	1	0	1
Total	22	11	33

(\*) Ac Fc — Anticorpos fixadores do complemento  
 (\*\*) TR — Transplante renal

### DISCUSSÃO

Dos três vírus do grupo Herpes analisados, o citomegalovírus foi o que mais frequentemente levou à infecção pós-transplante renal, incidindo no período de observação do presente estudo em 66% dos pacientes. Esta elevada taxa de infecção está de acordo com as verificadas em outros estudos, nos quais variou de 59% a 91%<sup>1,6,13,14,15,18</sup>. Embora o nível de anticorpos fixadores do complemento não pareça sofrer influência da imunossupressão provocada por drogas<sup>6</sup>, devemos salientar que em certos casos, principalmente em pacientes no estágio terminal, a infecção pode ser comprovada através de isolamento de vírus ou posteriormente em autopsias sem que haja subida do título dos anticorpos<sup>6,13</sup>, o que nos leva a supor que a incidência real de infecções pelo CMV poderia ser ainda mais elevada do que aquela que constatamos. A reativação de uma infecção preexistente, sugerida pelo aumento significativo do título de anticorpos fixadores do complemento para o CMV em 80% dos pacientes já possuidores destes anticorpos antes da cirurgia foi mais freqüente do que a infecção primária, que ocorreu em somente 46% dos pacientes. Resultados semelhantes foram observados por outros pesquisadores<sup>6,15,18</sup>. O fato do CMV pertencer a um grupo de vírus

que tem a capacidade de permanecer latente, reativando-se em condições propícias como, por exemplo, em pacientes imunodeprimidos<sup>15</sup> seria a explicação provável desta ocorrência.

Se a reativação de uma infecção latente pela imunossupressão explica perfeitamente a alta taxa de infecção nos pacientes possuidores de anticorpos antes do transplante, a explicação para as infecções primárias que, embora em menor número do que as reativações, também são extremamente freqüentes, já é mais complexa. A constatação de infecções comprovadas pelo CMV em pacientes com Ac FC ausentes e Ac neutralizantes presentes<sup>1</sup> sugere que certo número de infecções tidas como primárias na realidade seriam reativações de infecções preexistentes. A contaminação através de transfusões de sangue administradas durante a cirurgia ou no pós-operatório, ou através de vírus que estavam no próprio rim transplantado<sup>9</sup>, ou ainda por contacto na enfermaria com outros pacientes excretadores de citomegalovírus pela urina e orofaringe são hipóteses que devem ser consideradas já que a imunossupressão torna os pacientes transplantados extremamente susceptíveis a qualquer tipo de agente infeccioso.

A diferença no intervalo de tempo necessário para se constatar evidências sorológicas

de infecção pelo CMV nos pacientes que não tinham anticorpos previamente e naqueles que já tinham sido infectados antes do transplante (na maioria dos casos entre 4 e 8 semanas no primeiro grupo e dentro das primeiras 4 semanas no segundo) parece sugerir a existência de dois mecanismos distintos de infecção.

Em nossa casuística, a maioria dos pacientes com anticorpos prévios para o CMV que mostraram evidência sorológica de infecção após o transplante renal tinha estes anticorpos em títulos baixos (1:4 e 1:8), concordando com as observações de SPENCER<sup>18</sup> e CRAIGHEAD & col.<sup>6</sup> de que, pacientes com títulos altos de anticorpos antes do transplante teriam menor probabilidade de apresentar aumento significativo dos mesmos.

Analisando-se o tempo de acompanhamento dos pacientes podemos concluir que a grande maioria foi seguida por mais de oito semanas, estando portanto dentro do período em que ocorre a maior parte das infecções pelo CMV. Entretanto, dois pacientes foram acompanhados por menos de quatro semanas o que pode ter contribuído para diminuir a taxa de infecção por nós obtida, principalmente porque nenhum dos dois tinham anticorpos prévios (portanto, se infectados, deveríamos esperar que os anticorpos fossem detectados entre 4 e 8 semanas).

A incidência de pacientes com anticorpos para o VHS e VEB antes do transplante (87,5% e 100%, respectivamente) não nos parece excessivamente alta se levarmos em conta os achados de estudos soropidemiológicos realizados anteriormente no Brasil<sup>2,3,17</sup>. Entretanto, as taxas de infecção pelo VHS e VEB pós-transplante renal, constatadas através de dosagem de anticorpos, são muito menores do que as observadas em relação ao CMV. Esta desproporção fica bem evidente quando comparamos as taxas de reativação destes 3 vírus: 3,2% para o VEB, 3,5% para o VHS, e 80% para o CMV. Por outro lado, enquanto o aumento do título de anticorpos para o CMV parece ser condição quase que obrigatória para se conseguir isolar este vírus em pacientes submetidos a transplante renal (com exceção dos casos em estágio final)<sup>6,3</sup>, o mesmo parece não acontecer em relação ao VHS, pois KORS-

GER & col.<sup>12</sup> demonstraram que 9 dos 20 pacientes com infecção comprovada por isolamento deste vírus não apresentaram aumento significativo do título de anticorpos. Além disso, já é bem conhecido o fato de, no mesmo paciente, uma reativação de lesões herpéticas se acompanhar algumas vezes de aumento do título de anticorpos e em outras vezes não<sup>10</sup>. A incidência de infecção comprovada pelo VHS pós-transplante renal, utilizando-se tanto a dosagem de anticorpos como o isolamento de vírus variou em alguns estudos realizados por outros Autores de 24,6 a 54,0%<sup>12,13,15</sup>. A exemplo de KORSAGER & col.<sup>12</sup>, só consideramos como significativo o aumento do título de quatro vezes ou mais em relação ao título de anticorpos anterior ao transplante, já que em 6 dos 32 casos por nós estudados houve aumento significativo do título de anticorpos em duas amostras consecutivas, mas isto ocorreu graças a uma diminuição inicial do título seguida de um aumento que não era quatro vezes maior do que o inicial, pré-transplante. Esta flutuação do título também foi notada em alguns pacientes em relação ao vírus EB (4 casos). Este último agente foi pouco estudado em pacientes submetidos a transplante renal. SPENCER & ANDERSEN<sup>19</sup> analisando 30 pacientes transplantados, encontraram dados semelhantes aos nossos: todos os pacientes menos um já tinham anticorpos antes da cirurgia, e um aumento significativo do título ocorreu em somente 3 dos 30 (10%). As causas do comportamento diverso destes vírus que pertencem ao mesmo grupo e que possuem propriedades biológicas semelhantes ainda não são conhecidas, exigindo estudos mais intensos principalmente em relação aos mecanismos de reativação de infecções latentes.

## S U M M A R Y

### Herpes virus infections among renal transplant recipients

Antibody titrations in serum samples collected before surgery and at different intervals after kidney transplantation showed that of the 33 patients studied, 22 had serological evidence of cytomegalovirus infection after surgery. The CMV infection occurred more frequently in the patients who had complement fixing antibodies prior to the transplantation

(80%) than in those who were serologically negative (46%).

Even though the incidence of antibodies to the Epstein-Barr and Herpes simplex viruses was very high before transplantation (100% and 87.5% respectively), infection rate by each of these two agents was very low (3% only).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSEN, H. K. & SPENCER, E. S. — Cytomegalovirus infection among renal allograft recipients. *Acta Med. Scand.* 188: 7-19, 1969.
2. CANDEIAS, J. A. N. & PEREIRA, M. S. — Pesquisa de anticorpos para o vírus EB em adultos e crianças. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12: 333-338, 1970.
3. CARVALHO, R. P. de S.; EVANS, A. S.; FROST, P.; DALLDORF, G.; CAMARGO, M. E. & JAMRA, M. — EBV infections in Brazil. I. Occurrence in normal persons, in lymphomas and in leukemias. *Int. J. Cancer* 11: 191-201, 1973.
4. CARVALHO, R. P. de S.; JAMRA, M. A.; SOUZA, V. A. U. F. & ANGELO, M. J. de O. — Herpesvírus e leucemias. (Em publicação).
5. CRAIGHEAD, J. E. — Immunologic response to cytomegalovirus infection in renal allograft recipients. *Amer. J. Epidem.* 90: 506-513, 1969.
6. CRAIGHEAD, J. E.; HANSHAW, J. B. & CARPENTER, C. B. — Cytomegalovirus infection after renal allotransplantation. *J. Amer. Med. Ass.* 201: 99-102, 1967.
7. EPSTEIN, M. A. & ACHONG, B. G. — Various forms of Epstein-Barr virus infection in man: established facts and a general concept. *Lancet* ii, 836-839, 1973.
8. HENLE, G. & HENLE, W. — Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma. *J. Bact.* 91: 1248-1256, 1966.
9. HO, M.; SUWANSIRIKUL, S.; DOWLING, J. N.; YOUNGBLOOD, L. A. & ARMSTRONG, J. A. — The transplanted kidney as a source of cytomegalovirus infection. *New Eng. J. Med.* 293: 1109-1112, 1975.
10. JOHNSON, R. T.; OLSON, L. C. & BUESCHER, E. L. — Herpes simplex virus infections of the nervous system: problems in laboratory diagnosis. *Arch. Neurol.* 18: 260-264, 1968.
11. KANICH, R. E. & CRAIGHEAD, J. E. — Cytomegalovirus infection and cytomegalic inclusion disease in renal homotransplant recipients. *Amer. J. Med.* 40: 874-882, 1966.
12. KORSAGER, B.; SPENCER, E. S.; MORDHORST, C.-H. & ANDERSEN, H. K. — Herpesvirus hominis infections in renal transplant recipients. *Scand. J. Infect. Dis.* 7: 11-19, 1975.
13. LOPEZ, C.; SIMMONS, R. L.; MAUER, S. M.; NAJARIAN, J. S.; GOOD, R. A. & GENTRY, S. — Association of renal allograft rejection with virus infections. *Amer. J. Med.* 56: 280-289, 1974.
14. LUBY, J. P.; BURNETT, W.; HULL, A. R.; WARE, A. J.; SHOREY, J. W. & PETERS, P. C. — Relationship between Cytomegalovirus and hepatic function abnormalities in the period after renal transplant. *J. Infect. Dis.* 129: 511-518, 1974.
15. PIEN, F. D.; SMITH, T. F.; ANDERSON, C. F.; WEBEL, M. L. & TASWELL, H. F. — Herpesviruses in renal transplant patients. *Transplantation* 16: 489-495, 1973.
16. RIFKIND, D.; GOODMAN, N. & HILL Jr., R. B. — The clinical significance of cytomegalovirus infection in renal transplant recipients. *Ann. Intern. Med.* 66: 1116-1128, 1967.
17. RODRIGUES, M. C. & CARVALHO, R. P. de S. — Estudo da distribuição etária de anticorpos neutralizantes contra o vírus do herpes simples em São Paulo. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7: 323-326, 1965.
18. SPENCER, E. S. — Clinical aspects of cytomegalovirus infection in kidney-graft recipients. *Scand. J. Infect. Dis.* 6: 315-323, 1974.
19. SPENCER, E. S. & ANDERSEN, H. K. — Antibodies to the Epstein-Barr virus in kidney transplant recipients. *Acta Med. Scand.* 191: 107-110, 1972.
20. SUWANSIRIKUL, S.; RAO, N.; DOWLING, J. N. & HO, M. — Primary and secondary cytomegalovirus infection. Clinical manifestations after renal transplantation. *Arch. Intern. Med.* 137: 1026-1029, 1977.
21. U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE — Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to micro test. *Public Health Monograph no. 74.* Washington, Government Printing Office, 1968.

Recebido para publicação em 17/3/1978.