

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina –DIP

INFECÇÃO POR HERPESVIRUS HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES
DE TRANSPLANTE HEPÁTICO. UM ESTUDO PILOTO

ALICIA GELL LABAÑINO

Rio de Janeiro
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



INFECÇÃO POR HERPESVIRUS HUMANOS 6 E 7 EM
RECEPTORES DE TRANSPLANTE HEPÁTICO. UM ESTUDO
PILOTO

ALICIA GELL LABAÑINO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes

Rio de Janeiro
Agosto /2008

Labañino, Alícia Gell

Infecção por herpesvirus humanos 6 e 7 em receptores de transplante hepático. Um estudo piloto / Alícia Gell Labañino. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2008.

xi, 71 f. : il. ; 31 cm.

Orientador: Guilherme Santoro Lopes

Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2008.

Referências Bibliográficas: f. 53-60

1. herpesvírus humano 6. 2. herpesvírus humano 7. 3. transplante de fígado. 4. incidência. 5. Doenças Infecciosas e Parasitárias – Tese. I. Lopes, Guilherme Santoro. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias. III. Título.

INFECÇÃO POR HERPESVIRUS HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE HEPÁTICO. UM ESTUDO PILOTO

Alicia Gell Labañino

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Aprovada por:

Presidente, Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Rio de Janeiro
Agosto/2008

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes por contribuir com seu talento para o avanço da Ciência.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me guiados em todos os passos da minha vida. A ele todas as honras e glórias por as vitórias obtidas: as que já passaram e as que estão por vir.

A meus pais, que durante minha infância prepararam o caminho, me orientaram, seus conselhos sopram sempre em meus ouvidos, e post-mortem sinto sua presença atrás de mim, seja para empurrar se eu fraquejar, seja para segurar se eu cair.

A meus filhos de quem muitas vezes tive que abdicar de suas companhias para me dedicar a meu trabalho

A meu orientador Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes, **“um professor sempre presente, exemplo para todos os alunos”** me passando segurança com profissionalismo.

A Sra. Wilma Magalhães Alves a querida **“tia Wilma”** que permanece a nosso lado, em todos os momentos durante o período pós-graduação, sempre com o mesmo sorriso e o mesmo carinho.

Ao Prof. Dr. Mariano Zalis participante também deste projeto por seu trabalho no laboratório de Biologia molecular pela persistência em obter os resultados com sua equipe de trabalho, A bióloga Sra. Ana Carla Guilherme que com tanta seriedade e dedicação nos entregou os resultados do PCR, assim também a aluna Ana Carolina Zalona.

A Sra Maria de Fátima Melo que cada semana nos abria a porta do laboratório de imunoensaio recebendo as amostras e facilitando os resultados cada semana durante o período de seguimento de nossos pacientes.

Ao Serviço de Transplante Hepático em especial a Dra Samanta e ao Dr. Vilson por poder acompanhar aos pacientes durante o período de seguimento nas consultas pós-transplante. Assim também às enfermeiras do posto 9F que me auxiliaram nas visitas aos pacientes internados.

Ao pessoal do arquivo que tão amavelmente me proporcionaram os prontuários sempre que necessitei.

Longo foi o caminho durante todo o tempo de realização deste projeto, hoje olho para trás e reconheço que apesar das fases de espera, este momento vitorioso dos primeiros resultados vale como recompensa e impulso para continuar o mesmo. Não teria conseguido sem vocês. **MUITO OBRIGADA!**

RESUMO

INFECÇÃO POR HERPESVIRUS HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE HEPÁTICO. UM ESTUDO PILOTO

Alícia Gell Labañino

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Objetivo. O objetivo primário foi descrever a incidência de detecção do DNA de herpesvírus humanos 6 (HHV-6) e 7 (HHV-7) nas primeiras 12 semanas de pós-operatório de transplante hepático (TH). Métodos: Estudo de coorte prospectivo. Realizou-se a pesquisa de DNA destes vírus mediante o emprego de reação em cadeia da polimerase “em ninho” (*nested-PCR*) em amostras de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) e plasma. Resultados. Foram incluídos vinte pacientes. As incidências acumuladas de detecção de HHV-6 em CMSP e plasma foram, respectivamente, 90% e 65%. Para HHV-7, as incidências observadas foram 39% (CMSP) e 15% (plasma). Nas amostras de CMSP, houve detecção dos genomas destes vírus ao longo de todo o estudo, enquanto, em plasma, os resultados positivos se concentraram entre a terceira e a sétima semanas, fato compatível com a maior especificidade da pesquisa em plasma para indicar infecção ativa. Excetuando-se a redução significativa da contagem de linfócitos CD8+ em indivíduos com HHV-6 em CMSP ($p=0,03$), não verificamos qualquer outra associação entre a ocorrência de manifestações clínicas e laboratoriais e a detecção destes vírus. Houve aumento não significativo da frequência de rejeição nos pacientes positivos para HHV-6 em plasma (33%) em comparação com os demais (13%, $p=0,6$). Conclusão: Conclui-se ser frequente ocorrência de infecção ativa por HHV-6 e HHV-7 após TH. A tendência ao aumento da frequência de rejeição associada à infecção por HHV-6 é compatível com a literatura e justifica a realização de estudos com maior amostragem para definir o impacto desta infecção sobre o prognóstico após TH.

Palavras-chave: herpesvírus humano 6, herpesvírus humano 7, transplante de fígado, incidência, coorte

Rio de Janeiro
Setembro/2008

ABSTRACT

INFECTION WITH HUMAN HERPESVIRUS 6 AND 7 AMONG LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS. RESULTS OF A PILOT STUDY

Alícia Gell Labañino

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Objective. The main objective of this study was to determine the incidence of detection of DNA from Human Herpesvirus 6 (HHV-6) and 7 (HHV-7) within the first 12 weeks after liver transplantation (LT). **Methods:** Prospective cohort study. Nested-polymerase chain reaction (PCR) was used to detect the genome of HHV-6 and HHV-7 in samples of peripheral mononuclear blood cells (PBMC) and plasma. **Results.** Twenty patients were included in the study. The cumulative incidence of HHV-6 detection in PBMC and plasma was, respectively, 90% and 65%. With regards to HHV-7, the observed incidences were 39% (PBMC) and 15% (plasma). HHV-6 and HHV-7 were detected in PBMC throughout all the study. Most plasma samples that were positive for HHV-6 or HHV-7 were concentrated between the third and the seventh postoperative week. This finding is in keeping with the higher specificity of nested-PCR in plasma samples for the diagnosis of active infection. Except for a significant reduction in CD8+ lymphocyte counts in cases with positive HHV-6 in PBMC ($p=0.03$), there was no significant association between the detection of HHV-6 or HHV-7 genome and the occurrence of clinical or laboratorial manifestations of viral disease. There was a non-significant increase in the frequency of rejection among patients with a positive result for HHV-6 in plasma samples (33%) compared with the other patients (13%, $p=0.6$). **Conclusion:** Active infection with HHV-6 and HHV-7 occurred frequently in this cohort. The observed trend for a higher frequency of rejection associated with HHV-6 infection warrants further studies with larger samples to clarify the impact of this infection on the outcome of LT.

Key-words: Human Herpesvirus 6, Human Herpesvirus 7, liver transplantation, incidence, cohort study

Rio de Janeiro

Setembro/2008

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
LISTA DE ILUSTRAÇÕES, DE QUADROS E DE TABELAS	X
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 Infecções em receptores de transplantes de órgãos sólidos	5
2.2 Os herpesvirus humanos 6 e 7	6
2.2.1 Infecção Primária.....	8
2.2.2 Etapa de latência.....	9
2.2.3 Reativação da infecção em pacientes imunodeprimidos.....	10
2.3 Infecções por HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplantes.....	11
2.3.1 Epidemiologia	11
2.3.2 Efeitos clínicos diretos.....	12
2.3.2.1 Síndrome febril associada aos beta-herpesvirus	12
2.3.2.2 Hepatites.....	13
2.3.2.3 Mielosupressão	14
2.3.2.4 Pneumonia	14
2.3.2.5 Encefalite	15
2.3.3 Efeitos clínicos indiretos	15
3 OBJETIVOS	19
3.1 Principal.....	19
3.2 Secundários.....	19
4 MÉTODOS	20
4.1 Descrição do local do estudo	20
4.2 Desenho do estudo.....	20
4.2.1 Estudo prospectivo de corte.....	20
4.2.1.1 População estudada.....	20
4.3 Coleta de dados	21
4.3.1 Definição de termos.....	22
4.3.1.1 Infecção por HHV-6 e HHV-7.....	22
4.3.1.2 Doença associada ao HHV-6 ou ao HHV-7.....	22
4.3.1.3 Citomegalovirus	22
4.4 Procedimentos laboratoriais.....	23
4.5 Análise Estatística	26
4.6 Aspectos éticos.....	26
5 RESULTADOS	27
5.1 Dados Gerais.....	27

5.2	Resultados da Pesquisa de DNA de Herpesvirus 6 e 7 nas amostras coletadas.....	28
5.3	Relação entre o a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e a Ocorrência de Manifestações de Doença e Complicações Clínicas.	33
5.4	Relação entre a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e os Resultados de Outros Parâmetros Laboratoriais	37
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÕES	51
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	53
	ANEXOS.....	61

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CMSP	Células Mononucleares em sangue periférico
CMV	Citomegalovirus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DIP	Doenças infecciosas e parasitárias
VEB	Vírus de Epstein Barr
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HHV-6	Herpesvírus humano 6
HHV-7	Herpesvírus humano 7
HSV	Vírus herpes simples
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho.
IC	Intervalo de confiança
IIQ	Intervalo Interquartil
LCR	Líquido cefalorraquideo
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
TMO	Transplante de Medula Óssea
SNC	Sistema nervoso central

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, DE QUADROS E DE TABELAS

Figura 1	Distribuição do percentual de amostras com PCR positivo para HHV-6 em células mononucleares de sangue periférico.....	29
Figura 2	Distribuição do percentual de amostras com PCR positivo para HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico.....	30
Figura 3	Distribuição temporal de amostras de plasma com PCR positivo para HHV-6.	31
Figura 4	Distribuição temporal das amostras de plasma positivas para HHV-7	32
Quadro 1	Informações sobre as seqüências virais para detecção de Herpesvirus Humano 6.....	25
Quadro 2	Informações sobre as seqüências virais para detecção de Herpesvirus Humano 7.....	25
Tabela 1	Associação entre a detecção de DNA viral de HHV-6 e HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) ou de plasma e a ocorrência de febre de origem indeterminada ou de erupção cutânea	34
Tabela 2	Associação entre a detecção de DNA viral de HHV-6 e HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) ou de plasma e a ocorrência de rejeição nos primeiros seis meses após transplante hepático	36
Tabela 3	Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-6 em amostras de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático.....	38

Tabela 4	Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-6 em amostras de plasma entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático.....	39
Tabela 5	Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-7 em amostras de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático.....	40

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A evolução da terapia imunossupressora, notadamente a partir da introdução da ciclosporina no início da década de 80, ao lado do desenvolvimento das técnicas cirúrgicas, impulsionaram a realização dos transplantes de órgãos sólidos, que assim tornaram-se modalidades terapêuticas com efetividade definitivamente estabelecida para o prolongamento da sobrevivência e melhora de qualidade de vida de pacientes afetados por falência orgânica terminal. Todavia, apesar dos avanços, as complicações infecciosas permanecem entre as principais causas de morbidade e mortalidade em receptores de transplante de órgãos. É importante assinalar que, para algumas das complicações infecciosas, o impacto negativo sobre o prognóstico dos receptores de transplantes de órgãos não se restringe aos efeitos diretos impostos pelo processo infeccioso. Efeitos indiretos, como a elevação do risco de outras infecções e de rejeição ao enxerto, parecem resultar da imunomodulação causada por ação de determinados agentes infecciosos. Tais efeitos indiretos encontram-se documentados no caso da infecção por citomegalovírus (Smith *et al.*, 2001), mas tem sido propostos para outros agentes, como os vírus das hepatites B e C, o vírus de Epstein- Barr (EBV) e os herpesvirus humanos 6 e 7 (HHV-6 e HHV-7) (Emery, 2001).

Os vírus HHV-6 e HHV-7 foram descobertos no final dos anos 80 (Salahuddin *et al.*, 1986; Frenkel *et al.*, 1990), sendo classificados no subgrupo dos beta-herpesvírus em função do grau de homologia genômica com o citomegalovírus.

Ambos são linfotrópicos, infectando preferencialmente linfócitos CD4+ (Lusso *et al.*, 1988; Black e Pellett, 1999). Outras características comuns a ambos os

vírus são a elevada soroprevalência em adultos, abrangendo 90 a 95% dos indivíduos, o fato de a maior parte das infecções serem adquiridas nos primeiros anos de vida ((Clark *et al.*, 1993; Kimberlin, 1998) e a relação causal com o desenvolvimento de exantema súbito, doença febril comum em crianças (Yamanishi *et al.*, 1988; Tanaka *et al.*, 1994), sendo neste caso, o HHV-6 o principal agente etiológico. Da mesma forma que o observado com as infecções por outros herpesvírus, o HHV-6 e o HHV-7 permanecem latentes no hospedeiro após a resolução do quadro de infecção primária. Nos receptores de transplantes de órgãos sólidos, a incidência de reativação dessas infecções é elevada, variando entre 30% e 50% (Osman *et al.*, 1996; Tong *et al.*, 2000; Emery, 2001; Mendez *et al.*, 2001; Humar *et al.*, 2002a).

O papel patológico destes vírus em indivíduos imunossuprimidos ainda vem sendo estabelecido. Há, até o momento, maior informação relacionada a infecção pelo HHV-6 em receptores de transplante de medula óssea, nos quais tem sido associado à depressão medular, com retardo da pega do enxerto, e à ocorrência de encefalite, pneumonia e hepatite (Carrigan e Knox, 1999). Nos transplantes de órgãos sólidos, os dados disponíveis até o momento sugerem que seja baixa a incidência de manifestações associadas a estas infecções, em que pese a alta frequência de reativação da infecção latente. Descrevem-se a ocorrência de hepatite, pneumonia, encefalite, além de uma síndrome viral caracterizada por febre que pode ser acompanhada por neutropenia e plaquetopenia. As descrições de tais manifestações clínicas originam-se, em sua maioria, de séries de receptores de transplantes hepáticos (Osman *et al.*, 1996; Carrigan e Knox, 1999; Rogers *et al.*, 2000; Singh e Paterson, 2000; Emery, 2001; Mendez *et al.*, 2001; Razonable *et al.*, 2003). Outros possíveis efeitos indiretos destas infecções decorrem da interação

destes vírus com outros agentes infecciosos. Há uma aparente associação entre a reativação da infecção pelo HHV-6 e a ocorrência de citomegalovirose nos receptores de transplantes hepático (DesJardin *et al.*, 2001; Mendez *et al.*, 2001). Semelhante relação entre a reativação da infecção pelo HHV-7 e o subsequente surgimento de citomegalovirose foi descrita nos receptores de transplante renal (Osman *et al.*, 1996; Tong *et al.*, 2000). Outra possível interação entre agentes infecciosos têm sido apontada no caso da coinfeção entre o HHV-6 e o vírus da hepatite C.

Alguns autores sugerem que a recidiva da hepatite C em receptores de transplante hepático seja significativamente mais grave nos indivíduos que apresentavam infecção ativa pelo HHV-6 (Humar *et al.*, 2002a; Singh *et al.*, 2002). Finalmente, um estudo realizado em receptores de transplante hepático sugere que a ocorrência de doença fúngica invasiva aumenta após a ocorrência de viremia pelo HHV-6 (Rogers *et al.*, 2000).

Em suma, os dados disponíveis na literatura, até o momento, sugerem a existência de importantes efeitos indiretos desde infecções virais e permitem supor que as mesmas podem afetar significativamente a sobrevida do enxerto e do receptor de transplante de órgãos.

Apesar da crescente importância que vem sendo dada a este tópico, há poucos dados a este respeito em nosso meio. Fatores locais como, por exemplo, o protocolo de imunossupressão utilizado, e o emprego ou não de algum tipo de profilaxia antiviral podem, teoricamente, influir na incidência destas infecções e, por conseguinte, no impacto que as mesmas teriam sobre o risco de ocorrência de rejeição ou de infecções oportunistas. Assim, não está claro se podemos generalizar os resultados obtidos em outras populações. Desta forma pareceu-nos justificada a

realização de um estudo prospectivo a fim de estabelecer a incidência de infecção ativa por HHV-6 e HHV-7 e sua possível associação com a ocorrência de manifestações clínicas de doença e de rejeição celular aguda nos primeiros meses após a realização de transplante hepático. Este estudo seria um passo inicial na prospecção deste tópico e permitiria analisar a indicação de realização de pesquisas complementares a fim de se estabelecer a custo-efetividade de medidas de controle de tais infecções em receptores de transplantes hepáticos em nosso meio.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Infecções em receptores de transplantes de órgãos sólidos

O crescente sucesso na realização dos transplantes de órgãos determina um importante acréscimo no contingente de pacientes submetidos a imunossupressão e por tanto, suscetíveis ao desenvolvimento de infecções graves. De fato a infecção persiste como um dos maiores problemas para pacientes transplantados, sendo uma das principais causas de mortalidade (Hadley *et al.*, 1995).

A incidência de infecções após o transplante de órgãos sólidos depende de vários fatores como o tipo de órgão transplantado, o grau de imunossupressão, a necessidade de se aumentar a terapia imunossupressora e a ocorrência de complicações cirúrgicas (Snydman, 2001). A melhora das técnicas cirúrgicas, a introdução de quimioprofilaxias, a melhora da imunossupressão e a melhor capacidade diagnóstica têm mudado a epidemiologia das infecções após o transplante.

A incidência de infecção por HHV-6 e HHV-7 tem sido relatada em 14% a 82% dos receptores de transplante hepático (Razonable e Paya, 2002). Esta ampla variabilidade das incidências destas infecções resulta de diferentes fatores, diferenças no regime da imunossupressão usado pelos pacientes e nos métodos empregados nos diferentes estudos para a detecção viral (PCR, cultura do vírus, sorologia).

A reativação do HHV-6 e do HHV-7 ocorre, em geral, de 2 a 8 semanas

depois do transplante de fígado. Fatores que tem sido associados com a reativação do HHV-6 após transplante hepático são a rejeição aguda e o tratamento com altas doses recebidas de esteróides. Os fatores associados com a reativação HHV-7 são menos definidos.

2.2 Os herpesvirus humanos 6 e 7

O herpesvírus humano 6 (HHV-6) foi isolado pela primeira vez em 1986 a partir de linfócitos procedentes de 6 pacientes com enfermidades linfoproliferativas, dois deles com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). (Razonable e Paya, 2002). Já o herpesvirus humano 7 (HHV-7) foi identificado em 1990 em linfócitos T CD4 de um adulto sadio (Frenkel *et al.*, 1990; Benito *et al.*, 2003). Mais recentemente, Tanaka e cols. (1994) isolaram, em crianças com exantema súbito, o HHV-7. Ambos os vírus pertencem ao gênero *Rociovirus* e, junto com o gênero citomegalovirus, se incluem na subfamília *Beta-herpesviridae*, dentro da família *Herpesviridae*.

O HHV-6 e o HHV-7 estão estreitamente relacionados, compartilhando uma grande homologia e similitude genômica e também proximamente relacionados com citomegalovírus (Benito *et al.*, 2003). Atualmente estão disponíveis as seqüências genômicas de ambos (Razonable e Paya, 2002). Os vírus HHV-6 e HHV-7, como os restantes herpesvirus, contêm uma dupla cadeia de DNA com uma nucleocapsídeo icosaédrico rodeada por um envoltório rico em lípidos e glucoproteínas. O vírion do HHV-6 mede 120-200 nm e seu genoma tem aproximadamente 161-167 pares de kilobases (Benito *et al.*, 2003). O HHV-7 possui genoma mais curto, com 145 pares de kilobases, porém com uma configuração similar (Frenkel *et al.*, 1990; Dockrell e

Paya, 2001). O HHV-6 foi denominado inicialmente vírus linfótrópico das células B humanas; porque pensava-se que tinha um tropismo especial pelos linfócitos B (Caserta *et al.*, 2001). Posteriormente passou a ser considerado um vírus linfotrópico de células T, já que a principal célula hospedeira é o linfócito CD-4+, ainda que na realidade infecte um amplo espectro de células como os linfócitos B, as células *natural killer* (NK), monócitos, macrófagos, células dendríticas, megacariócitos, astrócitos, células da neurógliia, fibroblastos e células epiteliais. O CD-46, presente na superfície de todas as células nucleadas, constitui um componente essencial do receptor de membrana para o HHV-6, o que é consistente com o amplo tropismo célula do vírus (Benito *et al.*, 2003). Conhece-se muito menos sobre o tropismo celular do HHV-7 que parece estar restringido fundamentalmente aos linfócitos T CD4+. Este vírus utiliza o CD4 como receptor celular para infectar as células T. (Lusso *et al.*, 1994).

Conhecem-se duas variantes do HHV-6 (A e B) com grande homologia genética, que oscila entre 95 e 99% nos genes mais conservados, localizados no centro de genoma e é de aproximadamente 75% nas zonas mais divergentes. As duas variantes diferem em seu tropismo celular *in vitro*, na sua reatividade com anticorpos monoclonais e no comprimento dos fragmentos de restrição no estudo de polimorfismo (Campadelli-Fiume *et al.*, 1999). Além disso, apresentam diferenças quanto às suas associações com determinados quadros clínicos e quanto às suas freqüência de isolamento em diferentes tecidos (Frenkel *et al.*, 1990).

Podem-se considerar três etapas na história natural de infecção por HHV-6. A primeira está representada pela infecção primária, que ocorre, geralmente, nos primeiros anos de vida. A segunda etapa, de latência, é observada, após a resolução da infecção primária, em crianças e adultos saudáveis. A terceira, infreqüente,

tem lugar caracteristicamente em pessoas imunodeprimidas, quando a replicação viral latente se reativa. Menos conhecida é historia da infecção pelo HHV-7, porém em muitos aspectos parece superponível à do HHV-6 (Campadelli-Fiume *et al.*, 1999; Benito *et al.*, 2003).

2.2.1 Infecção Primária

A infecção primária por HHV-6 ocorre geralmente nos primeiros dois anos de vida (Zerr *et al.*, 2005b). Em 1988, demonstrou-se que infecção primária por HHV-6 causa exantema súbito, também chamado *roseola infantum* ou sexta enfermidade (Yamanishi *et al.*, 1988). É uma doença leve, geralmente autolimitada, que causa febre durante alguns dias e aparição simultânea ou posterior de um exantema maculopapuloso que se resolve de maneira espontânea.

Todavia na maioria das vezes a primo-infecção se associa com um quadro febril inespecífico. O exantema característico do *roseola infantum* só se observa em 20% das crianças com infecção primária pelo HHV-6. A duração média da enfermidade é de 6 dias (Benito *et al.*, 2003). Outras manifestações que podem estar associadas são: otite, irritabilidade, sintomas respiratórios e gastrointestinais. As complicações da infecção são infrequentes e incluem: invasão do sistema nervoso central, com convulsões, síndrome hematofagocítica e hepatite fulminante (Tanaka *et al.*, 1994). No adulto, é assintomática ou cursa com uma leve enfermidade febril, porém, em ocasiões é responsável por quadros clássicos de mononucleose infecciosa que podem chegar a ser graves, com lesões cutâneas diferentes das do exantema súbito. A infecção primária pelo HHV-7 também se produz nos primeiros anos de vida, embora um pouco mais tardiamente em relação

ao HHV-6, e também pode ser causa parte dos casos de exantema súbito. (Yoshikawa *et al.*, 1993; Torigoe *et al.*, 1996; Suga *et al.*, 1997). De modo semelhante ao comentado anteriormente em relação ao HHV-6, são descritas complicações neurológicas durante a infecção primária.

Clark e cols. estudaram a prevalência do anticorpo do HHV-7 em 213 crianças entre 2 meses e 10 anos de idade e em 29 adultos comparando-a com a prevalência de anticorpos para outros herpesvirus. Os autores observaram prevalência de 93% de anticorpos para HHV-7, 70% para HHV-6 e 51% para EBV, confirmando a hipótese de ser muito freqüente a infecção natural do HHV-7 em crianças e adultos. (Clark *et al.*, 1993)

2.2.2 Etapa de latência

Esta etapa segue-se, em crianças e adultos saudáveis, à primo-infecção. Nesta etapa, o HHV-6 estabelece uma infecção latente, provavelmente entre os monócitos, facilmente detectável mediante amplificação do DNA viral em células mononucleares (Caserta *et al.*, 2001). Ocasionalmente, ocorrem períodos prolongados de replicação ativa nas células epiteliais das glândulas salivares que resulta na eliminação do vírus na saliva, fato implicado no mecanismo de transmissão. Além disso, há persistência em vários outros tecidos, posto que se identifica o vírus ou seqüências genômicas do mesmo em numerosos órgãos e tecidos (cérebro, pele, baço, pulmão, coração, rins, glândulas suprarrenais, esôfago duodeno, colon, fígado e células tronco de medula óssea) (Caserta *et al.*, 2001; Benito *et al.*, 2003).

No tecido cerebral normal, demonstrou-se mediante a reação em cadeia da polimerase (PCR) a presença de HHV-6 em aproximadamente 30-40% amostras

(Chan *et al.*, 1999). O HHV-6 parece ter um elevado neurotropismo, como demonstrado por sua identificação líquido cefalorraquideo (LCR) durante e após a primo-infecção (no caso da variante B), assim como por sua implicação como causa de encefalite tanto em receptores de transplantes como em pessoas imunocompetentes. Estas observações sugerem que o HHV-6 pode ficar latente no cérebro humano, sem produzir doença mas com um potencial de neurovirulência. Neste contexto, nos últimos anos tem-se aventado uma possível relação entre infecção ativa pelo HHV-6 e a ocorrência de esclerose múltipla, embora esta hipótese siga sendo controvertida. (Benito *et al.*, 2003).

Com relação ao HHV-7, sabe-se que os linfócitos e as células epiteliais das glândulas salivares constituem os principais sítios de latência, também são identificados antígenos do vírus em outras células e tecidos, (pulmão, pele, glândulas mamárias, fígado, rins, amígdalas, e apêndice).

2.2.3 Reativação da infecção em pacientes imunodeprimidos

Os receptores de transplantes de medula óssea (TMO) e de órgãos sólidos constituem o principal grupo de pessoas em risco para a reativação destas infecções. Outro grupo de pacientes em risco são aqueles com infecção por HIV. Estes pacientes apresentam, com frequência, reativação do HHV-6, sobretudo quando infectados pela variante A. (Caserta *et al.*, 2001). Tem-se descrito casos de enfermidade associada ao HHV-6 neste grupo, incluindo pneumonite e encefalite. Embora se haja investigado a possibilidade de que o HHV-6 atue como co-fator na progressão de infecção pelo HIV-1, não existe na atualidade resultados conclusivo neste sentido. (Suligo *et al.*, 2003; Lusso *et al.*, 2007)

2.3 Infecções por HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplantes

2.3.1 Epidemiologia

A incidência acumulada de infecção ativa pelo HHV-6 oscila entre 28 e 75% (média de 48%) em receptores de transplantes de órgãos sólidos estudados nos primeiros três meses de pós-operatório (Griffiths *et al.*, 1999; Dockrell e Paya, 2001; Razonable e Paya, 2002). Só um dos estudos longitudinais, conduzido em um grupo de transplantado cardíacos não mostrou replicação do HHV-6 no período pós-transplante. (Moschetti *et al.*, 1998). A ampla variabilidade de incidência publicada depende ao menos em parte em parte das características da população estudada, dos distintos regimes imunossupressores utilizados, dos métodos empregados para diagnosticar a infecção (PCR, antigenemia, cultura viral, sorologia), do tempo de seguimento e da frequência do rastreamento. Para a infecção pelo HHV-7, a incidência oscila entre 53-57% em transplantados de medula óssea 0-46% em transplantados renais (Ljungman e Singh, 2006; Smith e McDonald, 2006; Thomasini *et al.*, 2007). Em 2001, Ihira e cols. estudaram a possível infecção por HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplante hepático (Ihira *et al.*, 2001). Estes autores utilizaram amostras obtidas seriadamente do plasma de 40 pacientes transplantados de fígado, utilizando os métodos de imunofluorescência e de reação em cadeia de polimerase (PCR), tendo observado que em 26% dos casos foi possível detectar o DNA de HHV-6, enquanto 14% apresentaram em algum momento PCR positivo para HHV-7.

As infecções pelo HHV-6 e HHV-7 apresentam tipicamente seu pico de incidência dentro das 4 primeiras semanas tendendo, a anteceder a infecção pelo

CMV. Um estudo realizado em receptores de transplante hepático (Griffiths *et al.*, 1999), utilizando PCR para o diagnóstico de diferentes beta-herpesvirus, mostrou que o tempo médio até a primeira amostra positiva foi de 20 dias para o HHV-6, 26 dias para o HHV-7 e 36 dias para o CMV. Estas infecções parecem decorrer em sua maioria de reativação da infecção latente, dado o elevado nível de soropositividade pré-transplante. A maioria das infecções parece cursar de forma assintomática. (Ljungman, 2002). Todavia diferentes síndromes têm sido associadas a estas infecções tais como febre, manifestações neurológicas, cutâneas, hematológicas, hepáticas, gastrointestinais e pulmonares (Ljungman e Singh, 2006). Acredita-se, por outro lado, que mais importantes que as possíveis manifestações clínicas diretas das infecções por estes vírus sejam seus efeitos indiretos. Estes podem resultar da ativação de fenômenos imunológicos ou da transativação de outros herpesvirus, como o CMV, e se traduzem fundamentalmente por uma maior frequência de enfermidade por CMV, possivelmente com manifestações mais graves desta, na associação com outras infecções oportunistas e com a rejeição ao órgão transplantado (Griffiths *et al.*, 1999; Ljungman, 2002; Ljungman e Singh, 2006).

2.3.2 Efeitos clínicos diretos

A maior parte dos estudos realizados enfocaram a infecção pelo HHV-6 Razão pela qual a maioria das síndromes que se discutem apresenta maior evidência de associação com este vírus que com o HHV-7.

2.3.2.1 *Síndrome febril associada aos beta-herpesvirus*

O HHV-6 pode causar uma síndrome febril inespecífica acompanhada ou

não de exantema. Em um estudo realizado em receptores de transplante hepático, o HHV-6 foi a causa mais freqüente de síndrome febril de etiologia viral (Chang *et al.*, 1998). A febre associada com HHV-6 tem sido descrita como muito elevada. ((Yoshikawa *et al.*, 2002). Na maioria dos casos a síndrome febril se associa com citopenias, fundamentalmente a leucopenia. A aparição de exantema é descrita mais frequentemente em receptores de TMO, durante o primeiro mês pós-transplante em pacientes com viremia por HHV-6 (59%) que em receptores sem viremia (20%). Em um estudo prospectivo de 200 receptores de transplante hepático, nos 2 pacientes (1%) com enfermidade clínica diretamente atribuível á infecção pelo HHV-6, na ausência de outros patógenos, as manifestações observadas foram febre, leucopenia e trombocitopenia (Humar *et al.*, 2002a). Em alguns casos, esta síndrome febril inespecífica tem sido erroneamente atribuída a infecção pelo CMV.

2.3.2.2 Hepatites

As hepatites por HHV-6 são relatadas com mais freqüência nos receptores de transplante hepático. Em um estudo de 139 transplantados hepáticos em que se diagnosticou a infecção por HHV-6 mediante sorologia e antigenemia para HHV-6 demonstrou-se a presença de antígeno específico de HHV-6 nas biopsias hepáticas de 19 pacientes (14%), associada a alterações de enzimas hepáticas, (sobretudo nos níveis de alanina-aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamyl-transferase) e um infiltrado linfocitário de leve a moderado na histopatología. Um terço dos casos com infecção isolada por HHV-6 foi seguido de rejeição crônica do enxerto hepático. (Lautenschlager *et al.*, 2000)

Também são descritos casos de hepatite em receptores de TMO (Hentrich *et*

al., 2005) Da mesma forma embora haja menor volume de observações, tem sido sugerida um possível associação da infecção pelo HHV-7 com hepatites em receptores de transplantes de fígado. (Griffiths *et al.*, 1999).

2.3.2.3 Mielosupressão

É relatada com mais frequência em receptores de TMO, tem-se observado uma associação entre a mielosupressão idiopática prolongada em receptores e transplante alogênico de medula óssea e infecção por HHV-6. No estudo de Knox e colaboradores observou-se frequência significativamente maior de mielosupressão idiopática em pacientes nos quais se detectou a presença de HHV-6 em aspirados de medula óssea (Carrigan e Knox, 1994)

Estudos em vivo indicam que a infecção de medula óssea pelo HHV-6 é seguida de supressão da diferenciação dos progenitores hematopoiéticos (Benito *et al.*, 2003). Tem-se sugerido que a infecção pela variante A do HHV-6 poderia dar lugar a uma supressão medular mais grave. (Rossi *et al.*, 2001). Os efeitos supressores de medula óssea também são descritos em receptores de transplantes de órgãos sólidos, tanto hepáticos como renais (Singh *et al.*, 1997)

2.3.2.4 Pneumonia

Os primeiros casos de pneumonia intersticial por HHV-6 foram descritos em receptores de TMO (Carrigan *et al.*, 1991; Cone *et al.*, 1993). Embora o HHV-6 tenha sido encontrado em amostras de lavado broncoalveolar de receptores de transplante de pulmão, sua relevância em tal situação ainda não está esclarecida (Ross *et al.*, 2001; Jacobs *et al.*, 2003).

2.3.2.5 Encefalite

É uma complicação relacionada com a propensão do HHV-6 a produzir neuroinvasão. A maioria dos casos são relatados em receptores de TMO e são causados pela variante B (Ljungman e Singh, 2006); Entre os receptores de transplantes de órgãos sólidos, este acometimento já foi descrito em indivíduos que receberam enxerto de fígado (Paterson *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 2000) e de pulmão (Bollen *et al.*, 2001). Os sintomas e sinais clínicos mais freqüentes incluem alterações do nível de consciência, oscilando desde a confusão ao coma, convulsões, cefaléia e febre. (Singh e Paterson, 2000).

A análise do LCR revela, em geral pleocitose de predomínio linfocitário, porém esta pode estar ausente. (Ljungman e Singh, 2006) Observa-se ainda elevação das proteínas e presença do DNA do HHV-6. A ressonância nuclear magnética pode mostrar lesões assimétricas que não captam o contraste. A tomografia computadorizada é normal na maioria dos casos (Singh e Paterson, 2000). Também já se descreveram casos de encefalite que se há relacionado com HHV-7. (Chan *et al.*, 1999; Benito *et al.*, 2003).

2.3.3 Efeitos clínicos indiretos

Estudos prospectivos observacionais sugerem que o maior impacto da reativação destes vírus se relacione com seus efeitos indiretos (Razonable e Paya, 2002). Estes efeitos indiretos parecem relacionar-se com as propriedades imunomoduladoras destes vírus. Porém não é fácil estabelecer-se qual a medida do efeito imunomodulador que desempenham este vírus, dado o contexto de imunossupressão associada aos fármacos usados no período pós-transplante e de

freqüente coinfeção pelo CMV, outro vírus imunomodulador. Sugere-se que o grau de imunossupressão farmacológica que poderia conduzir a reativação viral, ver-se-ia incrementado pelas propriedades imunomoduladoras dos vírus reativados. (CMV, HHV-6, HHV-7).

Interações e co-infecções com outros herpesvirus.

Varias investigações em receptores de transplante hepáticos, têm mostrado que a infecção pelo HHV-6 e o grau de replicação deste vírus se associam com uma maior incidência de enfermidade por CMV, com tendência a maior gravidade da mesma (Tong *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Humar *et al.*, 2002a; Razonable *et al.*, 2003). Em alguns destes estudos, sugere-se a existência de efeito semelhante em associação com a infecção por HHV-7. (Dockrell e Paya, 2001). Um estudo recente demonstrou, mediante a utilização de antigenemia, a elevada freqüência de infecções concorrentes pelos três beta-hipervirus em transplantados hepáticos (Lautenschlager *et al.*, 2002a). Este fato provê suporte para a possível existência de interação entre eles e a possibilidade de que os sintomas clínicos, classicamente associados com a infecção por CMV, o estejam também com o HHV-6 ou HHV-7. De forma similar, nos receptores de transplante renal, tem-se descrito que a coinfeção por citomegalovirus com HHV-6 ou HHV-7 incrementa o risco de desenvolvimento de enfermidade por citomegalovirus. (Osman *et al.*, 1996). Porém bem não se conhecem bem os mecanismos de interação entre estes vírus.

A infecção pelo HHV-6 parece predispor o receptor de transplante, a super-infecções por outros vírus (Benito *et al.*, 2003). Assim tem-se descrito coinfeções pelo vírus respiratório sincitial, adenovirus, além do citomegalovirus já mencionado acima, em pacientes com pneumonite por HHV-6. Adicionalmente tem-se sugerido uma relação entre viremia por HHV-6 e uma maior propensão ao desenvolvimento

de fibrose hepática em receptores de transplante hepático com recidiva de hepatite C crônica (Humar *et al.*, 2002b), porém a importância e consistência destas associações permanece por ser definida em novos estudos.

Rejeição e disfunção do enxerto.

Investigações recentes tem implicado a infecção por HHV-6 na rejeição aguda do enxerto hepático. Humar e cols. (2002a), observaram que a carga viral plasmática do HHV-6 foi o único fator independentemente associado com a rejeição aguda ao enxerto, demonstrada mediante biópsia realizada depois do primeiro mês de transplante hepático. Uma associação similar entre rejeição de enxerto hepático e infecção por HHV-6 ou CMV, porém não com infecção ativa por HHV-7, foi demonstrado em outro trabalho (Griffiths *et al.*, 1999). Por outro lado há evidências de uma relação direta entre infecção ativa pelo HHV-6 e disfunção do enxerto hepático não mediada por rejeição. (Lautenschlager *et al.*, 2002a). Também se tem sugerido que a infecção pelo HHV-7 poderia originar hepatite. (Kidd *et al.*, 2000).

No contexto do transplante renal, tem-se relato de uma associação entre infecção pelo HHV-7 e um maior número de episódios de rejeição, Kidd e cols. realizaram um estudo prospectivo em 52 receptores de transplante renal no qual observou-se a ocorrência de infecção de infecção ativa pelo CMV em 58% dos pacientes, pelo HHV-7 em 46%, e pelo HHV-6 em 23%. A análise clínico-patológica revelou associação entre a infecção pelo HHV-7 e um maior risco de rejeição aguda e de desenvolvimento de doença pelo CMV (Kidd *et al.*, 2000).

As infecções pelo HHV-6 e pelo HHV-7 têm sido relacionadas com falha ou retardo do implante em receptores de transplante de células progenitoras hematológicas. (Ljungman e Singh, 2006; Smith e McDonald, 2006) Embora os estudos não sejam concordantes a este respeito (Humar *et al.*, 2002a). Há também

dados que sugerem uma incidência de doença do enxerto contra o hospedeiro nestes pacientes. (Appleton *et al.*, 1995).

Aumento de outras infecções oportunistas.

Rogers e cols. (2000) analisaram amostras de 90 receptores de transplante de fígado, realizando cultura para HHV-6 na segunda, terceira, quarta e sexta semanas pós-transplante, tendo observado incidência acumulada de 39% de infecção pelo HHV-6. Neste estudo, a infecção pelo HHV-6 foi um preditor de infecção fúngica invasiva. Humar e cols. (2002a) estudaram 200 receptores de transplante de fígado, tendo observado que a infecção pelo HHV-6 e sua carga viral eram fatores de risco significativos para o desenvolvimento e infecções oportunistas ademais de enfermidade pelo CMV, que incluem enfermidades linfoproliferativas pelo VEB, herpes zoster multimetamérico ou disseminado, infecção pneumocócica invasiva, micobacterioses e infecções fúngicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Principal

Determinar a frequência de detecção de DNA de HHV-6 e 7 em receptores de transplante hepático nos primeiros três meses de pós-operatório, em CMSP e plasma.

3.2 Secundários

Descrever a frequência de diferentes manifestações clínicas e laboratoriais potencialmente associadas à reativação destas infecções virais nos receptores de hepático.

Verificar a existência de possível associação entre a ocorrência de infecção por um dos beta-herpesvírus a serem estudados e o surgimento de rejeição celular aguda.

4 MÉTODOS

4.1 Descrição do local do estudo

O Hospital Universitário Clementino Fraga Filho é o maior entre unidades Hospitalares de Universidade Federal do Rio de Janeiro. Desde 1998 conta com um programa de transplante de fígado. Desde então já foram realizadas mais de 300 transplantes hepáticos nessa instituição.

4.2 Desenho do estudo

4.2.1 Estudo prospectivo de corte.

4.2.1.1 *População estudada*

Amostra de conveniência para qual foram elegíveis todos os pacientes submetidos transplante hepático no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Foram excluídos do estudo os pacientes seguidos por menos de 3 semanas após o transplante.

Cada paciente foi seguido até completar seis meses de pós-operatório. Nos casos em que entre 30^o a 180^o dia de seguimento ocorreu transferência para seguimento em outro centro, a data final de seguimento foi definida pela data a última vista médica neste centro.

4.3 Coleta de dados

De cada paciente incluído no estudo, foram coletados prospectivamente os seguintes dados:

- Nome e prontuário
- Sexo
- Data de nascimento
- Data de transplante
- Uso crônico de medicação imunossupressora no pré-operatório
- Drogas empregadas nos esquemas imunossupressores após o transplante.
- Ocorrência de episódios de rejeição e o esquema imunossupressor utilizado para seu tratamento.
- A ocorrência de outras complicações infecciosas de origem bacteriana, fungica, e viral (especificamente citomegalovirose com a data e o critério utilizado para o seu diagnóstico).
- Resultados de exames laboratoriais rotineiros como dosagem de hemoglobina, a contagem leucocitária, a contagem de plaquetas, dosagem de transaminases, fosfatase alcalina e gama-glutamil transpeptidase e da antigenemia para citomegalovirus (realizado apenas nos casos com suspeita clínica de doença associada a este vírus).
- Resultados das contagens de linfócitos CD4+ e CD8+, realizadas nas sexta e décima semanas de pós-operatório.

- Resultado dos testes de reação em cadeia de polimerase (PCR) para a detecção deste vírus em amostras de sangue total e plasma, data coleta das amostras de sangue para estes testes.
- A ocorrência das manifestações clínicas potencialmente relacionadas a infecção pelo HHV-6 e HHV-7 (ver definição de termos mais adiante)
- Data e estado vital no momento da última avaliação.

4.3.1 Definição de termos

4.3.1.1 *Infecção por HHV-6 e HHV-7.*

Detecção de DNA de um dos vírus por técnica de PCR durante o seguimento associado ou não a presença de manifestações clínicas compatíveis com estas infecções virais.

4.3.1.2 *Doença associada ao HHV-6 ou ao HHV-7.*

Foi definida pela presença de manifestações clínicas potencialmente relacionadas as infecções por este vírus como febre, erupção cutânea leucopenia, plaquetopenia, hepatite, pneumonia, encefalopatia, na ausência de outra condição causal aparente, associada a detecção de DNA de um dos dois vírus com o teste de PCR realizado em espécimes de líquor ou sangue.

4.3.1.3 *Citomegalovirus*

Definida pela presença de manifestações clínicas compatíveis com

diagnósticos de citomegalovirose associada à positividade de pesquisa do antígeno pp65 em leucócitos do sangue periférico ou à identificação de inclusão celulares características em fragmentos de biópsia.

Infecções associadas aos cuidados de saúde. Foram definidas de acordo com os critérios propostos pelos Center for Disease Control and Prevention (Garner *et al.*, 1988).

4.4 Procedimentos laboratoriais

Além dos exames laboratoriais rotineiramente realizados no seguimento dos receptores de transplantes hepáticos, foram coletadas amostras de sangue para a pesquisa do DNA do HHV-6 e do HHV-7 com a utilização de técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). As coletas de sangue para a pesquisa da infecção ativa pelo HHV-6 e HHV-7 foram realizadas nos primeiros três dias de pós-operatório e, a partir de então, semanalmente até que se completem 12 semanas de seguimento.

Extração do DNA viral- O material genético do HHV-6 e HHV-7 foi extraído através de kit de extração (Quiagen) para material líquido (plasma), suspensão celular (Buffy coat ou monócitos). Após obtenção do material purificado, foram realizadas as ampliações dos fragmentos desejados para cada tipo viral.

Reação de Cadeia da Polimerase- Para a identificação do DNA viral foi utilizada a técnica de “PCR em ninho” que envolve 2 reações de PCR consecutivas. (Kempf *et al.*, 2001). As sequências virais amplificadas foram as seguintes: um fragmento de DNA com 138 pares de bases da região genômica U31 da cepa Z29 de HHV-6 (Aubin *et al.*, 1991; Kempf *et al.*, 1995) e um fragmento de DNA com 186

pares de bases da região U10 que codifica fosfoproteína estrutural de HHV-7. (Berneman *et al.*, 1992; Kempf *et al.*, 1997). Para a detecção do HHV-6, utilizamos na primeira etapa o par de iniciadores (HHV-6/3U -5' TCT GTT CCA GAG AAA GGG TGT 3' e HHV6/4L - 5' CGA TCA CAA TTT CAA TCT TTA TTT 3'). Na segunda reação de PCR, utilizamos iniciadores mais internos (HHV-6/5U - 5' GCG AAG GGC TGA TTA GGA T 3' e HHV-6/6L - 5' CAC GAT CTC AAA TCT TTT CCT AT). Para a detecção do HHV-7, utilizamos na primeira reação o par (HV-7 5' TAT CCC AGC TGT TTT CAT ATA GTA AC 3' e HV-8 5' GCC TTG CGG TAG CAC TAG ATT TTT TG 3') e para a segunda reação os iniciadores (HV-10 - 5' CAG AAA TGA TAG ACA GAT GTT GG 3' e HV-11 - 5' TAG ATT TTT TGA AAA AGA TTT AAT AAC 3') . Em todas as reações, o material (5 µl) a ser testado foi adicionado em um 'master mix' contendo 20 mM Tris-HCl, 50 nM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 1mM DTT, 0.5 mg/ml, 0.2 mM dNTPs, 0.5 unit of Taq polimerase e 50 pmol de cada iniciador. A reação deu-se em um volume final de 50 µl. Todas as amplificações foram feitas com 1 ciclo a 95°C, por 5 minutos, 30 ciclos a 95°C por 1 minuto, 57°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto seguidos de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. O material amplificado visualizado e analisado em géis de eletroforese de agarose a 2% corado por brometo de etídeo e por géis de acrilamida a 6% corados pela prata. (Quadro 1 e 2)

4.5 Análise Estatística

Os resultados de variáveis categóricas são descritos pelos valores absolutos e percentuais. Os resultados de variáveis numéricas pela sua mediana e intervalo interquartil (IIQ). A distribuição de freqüência de variáveis categóricas utilizou os testes de qui-quadrado ou exato de Fisher, enquanto a comparação da distribuição de variáveis numéricas foi feita como emprego do teste de Mann-Whitney. A análise foi realizada com o programa SPSS para Windows, v. 12 (SPSS Inc). Todos os valores de p são bicaudais.

4.6 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa de Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (protocolo 102/03 foram incluídos no estudo apenas os pacientes que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foi garantida a preservação da confidencialidade dos dados de cada paciente.

5 RESULTADOS

5.1 Dados Gerais

Durante o período do estudo foram recrutados 25 pacientes. Foram excluídos dois pacientes em que a ocorrência de óbito precoce determinou período de seguimento menor que 3 semanas, 1 paciente por não adesão e em 2 casos houve perda acidental das amostras.

Entre os 20 pacientes incluídos no estudo, predominou o sexo masculino (12 pacientes, 60%), fato que refletiu a predominância do sexo masculino na coorte de receptores de transplante hepático desta instituição. A idade mediana foi de 53 anos (IIQ: 49 – 55 anos). A idade mínima entre os pacientes incluídos foi de 31 anos.

Como esperado, a principal doença de base que levou ao transplante entre os pacientes estudado foi a cirrose por hepatite C crônica, que esteve presente em 12 casos (60%), um deles em associação com hepatopatia alcoólica. Entre os outros 8 pacientes as indicações para transplantes hepático foram: amiloidose familiar (5 casos, 25%), hepatite B crônica (2 casos, um deles em associação com hepatopatia alcoólica), e cirrose criptogênica (1 caso).

Ao todo, foram coletadas no período de 12 semanas seguintes ao transplante hepático, 171 amostras de sangue, com mediana de 9 por paciente (IIQ: 7-11).

Ao final do período de 6 meses de seguimento clínico todos os pacientes estavam vivos.

5.2 Resultados da Pesquisa de DNA de Herpesvirus 6 e 7 nas amostras coletadas

Entre as 171 amostras analisadas (anexo 3) quanto a presença de DNA viral em células mononucleares do sangue periférico (CMSP), 91 (53%) foram positivas para o DNA do HHV-6 e 39 (23%) foram positivas para DNA do HHV-7. O número mediano de amostras positivas por paciente foi de 5 (variação de 0 a 9) no caso do HHV-6 e de 1,5 (variação de 0 a 7) no caso do HHV-7. A mediana do percentual de amostras positivas foi de 56% (variação de 35% a 83%) em relação ao HHV-6 e de 17% (variação de zero a 49%) no caso do HHV-7.

A análise da distribuição temporal das amostras de CMSP positivas para HHV-6 (Figura 1) mostrou proporção elevada de amostras positivas ao longo de todo o período de estudo, sem a definição de um período de maior prevalência. Quanto à distribuição temporal das amostras de CMSP positivas para HHV-7 (Figura 2), observou-se um pico de prevalência entre a segunda e a terceira semana e uma tendência a nova elevação da prevalência entre a nona e a décima-segunda semanas.

A pesquisa de DNA do HHV-6 em plasma foi subsequente realizada em 81 das 91 amostras que haviam revelado positividade em CMSP. Devido a problemas com a estocagem houve perda de 10 amostras de plasma. Dezoito (22%) das amostras testadas revelaram a presença do DNA do HHV-6. A distribuição temporal destas amostras é apresentada na figura 3. A maior prevalência de detecção do HHV-6 no plasma deu-se entre a quarta e a sétima semanas.

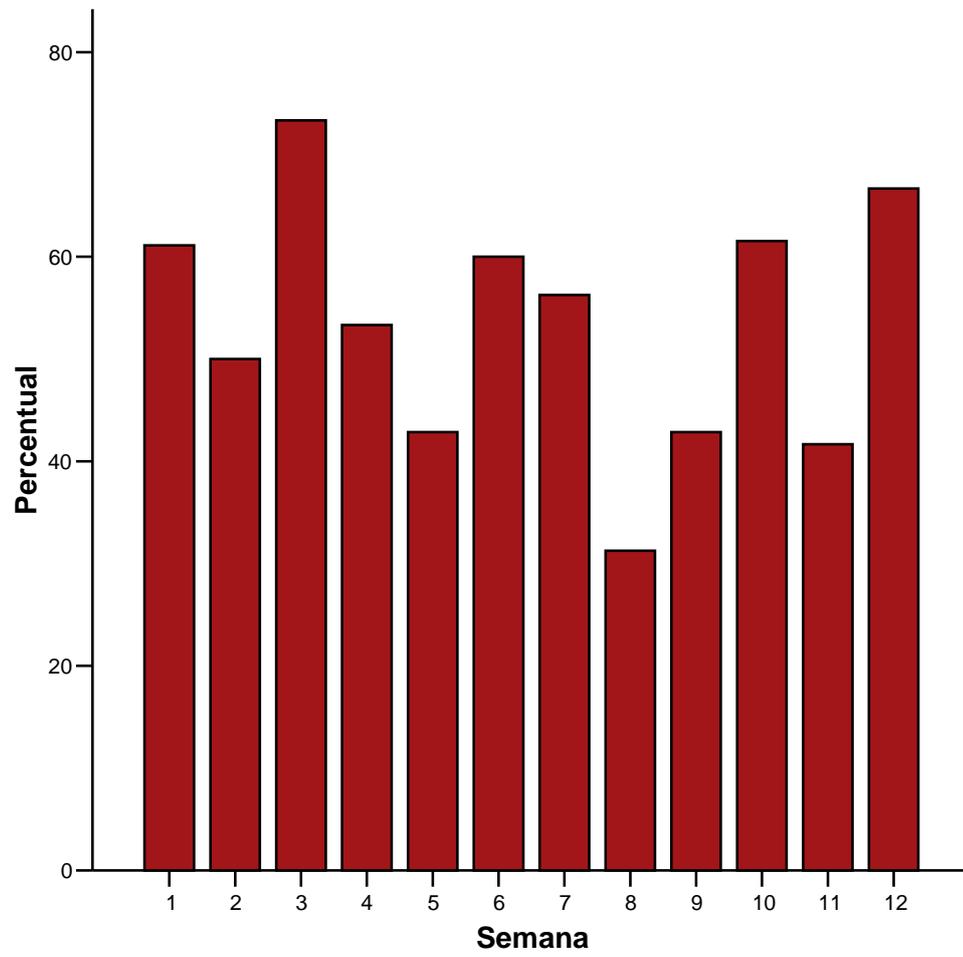


Figura 1 Distribuição do percentual de amostras com PCR positivo para HHV-6 em células mononucleares de sangue periférico.

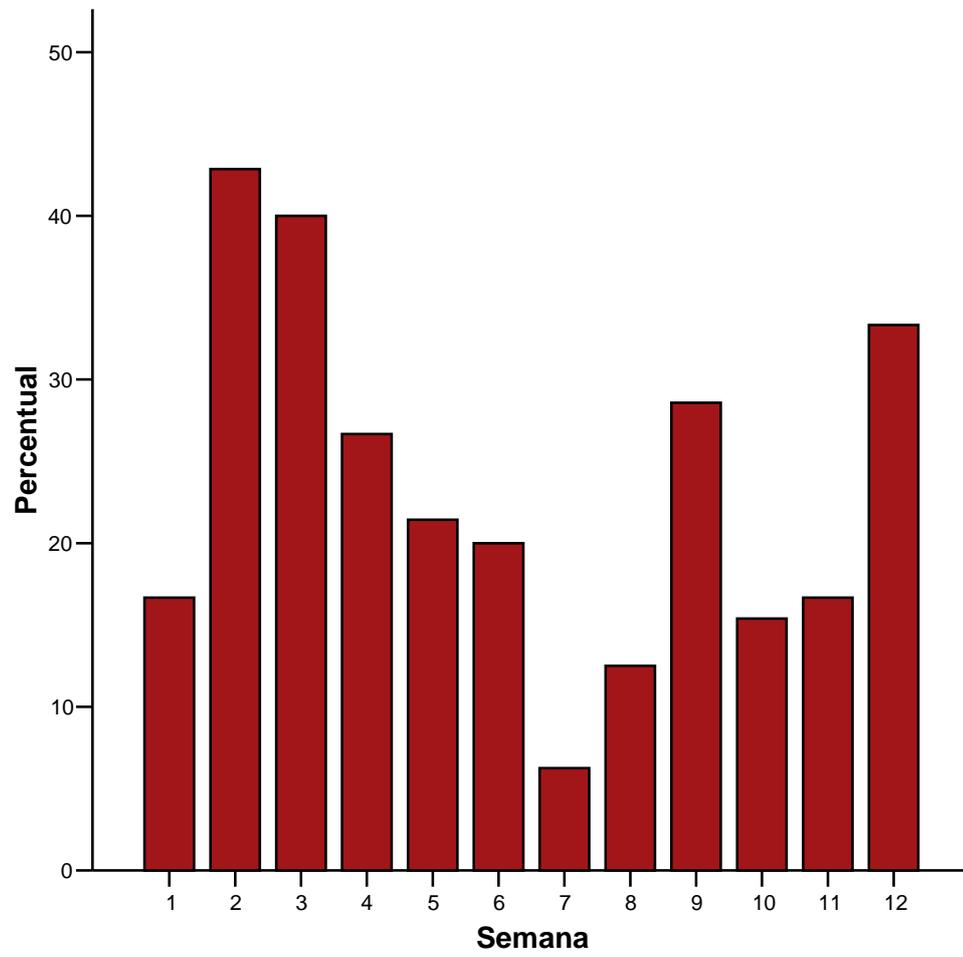


Figura 2 Distribuição do percentual de amostras com PCR positivo para HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico.

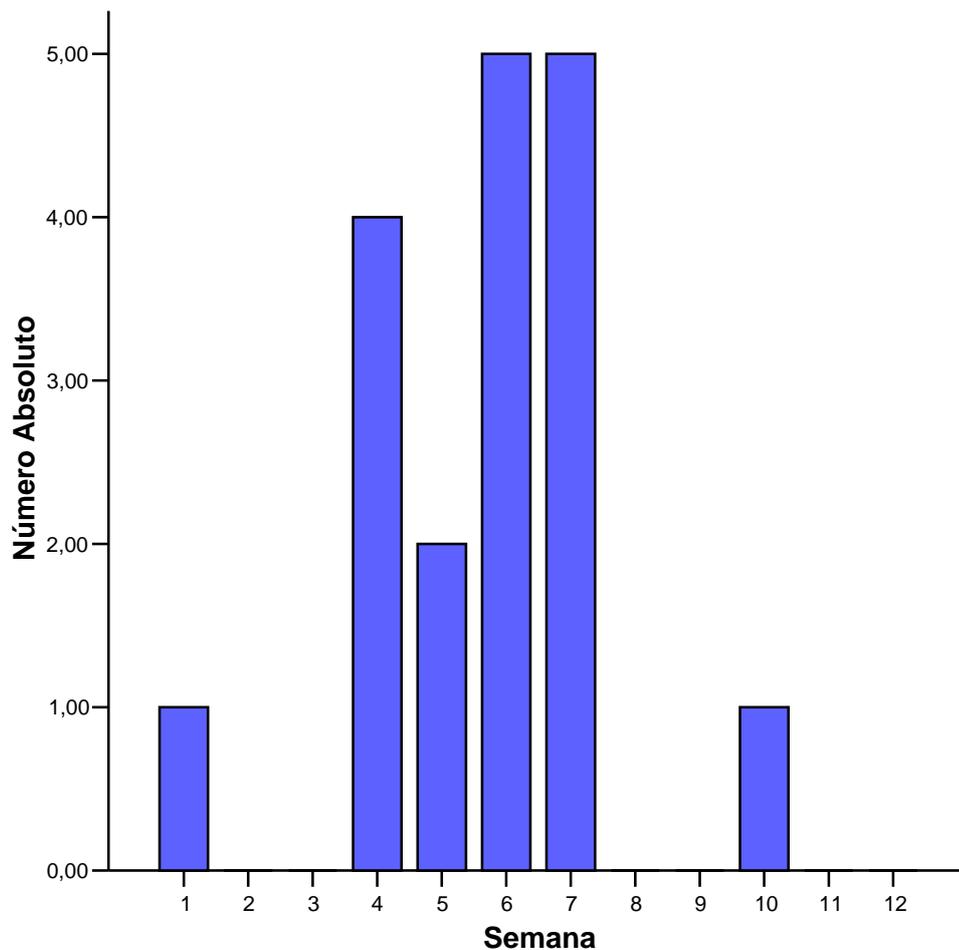


Figura 3 Distribuição temporal de amostras de plasma com PCR positivo para HHV-6.

A pesquisa de DNA do HHV-7 em plasma foi realizada em 37 das 39 amostras nas quais se havia detectado a presença do vírus em CMSP. Mais uma vez, devido a problemas com a estocagem, foram perdidas 2 amostras de plasma. Em três (8%) entre estas 37 amostras detectou-se a presença do HHV-7. A figura 4 ilustra a distribuição das amostras positivas de acordo com a semana do estudo. As três amostras positivas foram coletadas na terceira e quarta semanas.

Em 18 (90%) dentre os 20 pacientes incluídos, detectou-se a presença do DNA do HHV-6 em células mononucleares do sangue periférico (CMSP) em ao menos 1 das amostras de sangue coletadas durante o estudo. Todavia, o número de pacientes que apresentou PCR para HHV-6 positiva tanto em CSMP quanto em

plasma foi de 13 (65%).

Quanto ao HHV-7, detectou-se o DNA viral em CSMP em 13 (65%) dos vinte pacientes estudados. Em apenas 3 (15%), houve detecção do DNA viral tanto em CSMP quanto em plasma. Todos os três pacientes com detecção de HHV-7 em plasma também haviam apresentado PCR positivo no plasma pra HHV-6.

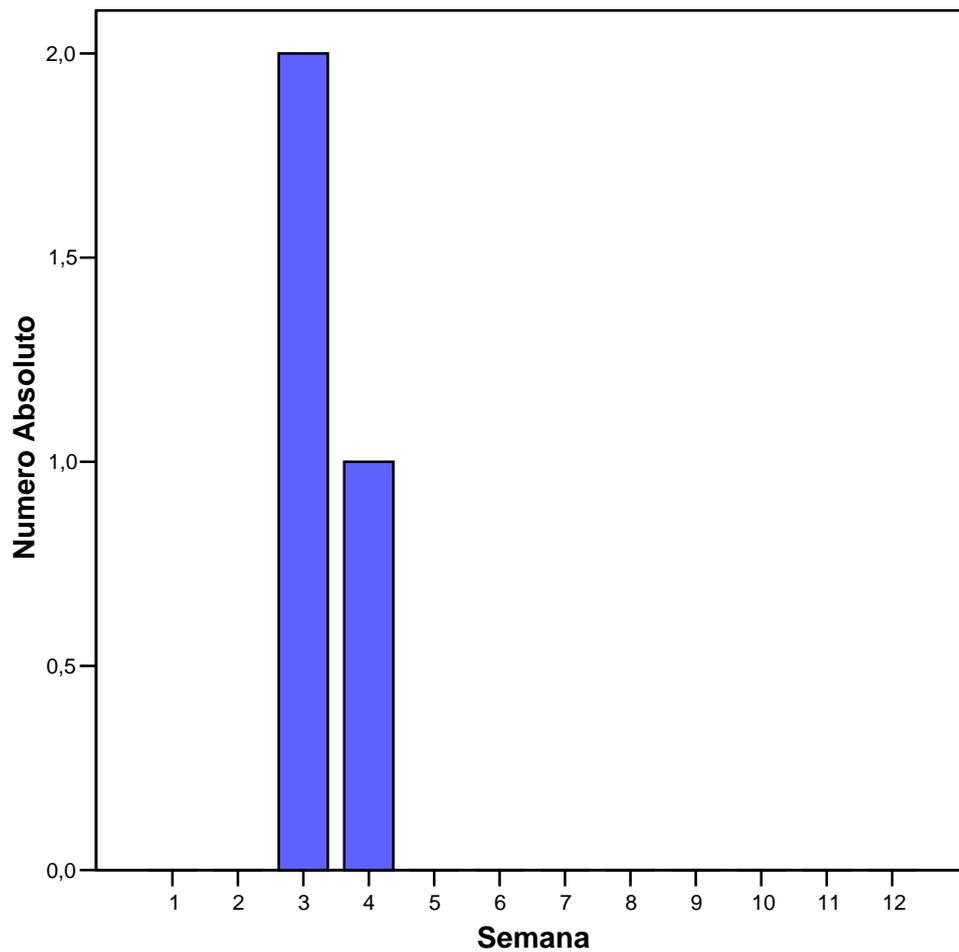


Figura 4 Distribuição temporal das amostras de plasma positivas para HHV-7

5.3 Relação entre o a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e a Ocorrência de Manifestações de Doença e Complicações Clínicas.

Analisou-se a associação entre a ocorrência de manifestações clínicas extra-hepáticas potencialmente relacionadas às infecções virais estudadas, tais como febre, erupção cutânea, pneumonia e encefalopatia e os resultados da pesquisa de DNA viral em 158 amostras de sangue que foram coletadas em momentos nos quais o paciente não apresentava diagnóstico de infecção documentada ou rejeição.

Foi observada a ocorrência de febre de causa indeterminada (não atribuída a infecções documentadas ou a rejeição) na semana da coleta de 28 das 158 amostras incluídas nesta análise (17%). Nestes episódios de febre de origem indeterminada, observou-se a detecção de DNA viral do HHV-6 em CSMP ou plasma em, respectivamente, 11 (39%) e 2 (12%) ocasiões. Em relação ao HHV-7, observou-se a associação entre a detecção do DNA viral em CMSP em 5 (18%) casos. Não houve detecção de DNA do HHV-7 em plasma em nenhum caso de febre de origem indeterminada.

A tabela 1 apresenta a distribuição da frequência de febre de origem indeterminada de acordo com a presença de DNA viral em amostras de CSMP ou plasma. Os resultados observados, tanto em relação ao HHV-6 quanto ao HHV-7 não sugerem qualquer associação entre a frequência de ocorrência de febre de origem indeterminada e a presença de infecção ativa pelos vírus estudados.

Tabela 1 Associação entre a detecção de DNA viral de HHV-6 e HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) ou de plasma e a ocorrência de febre de origem indeterminada ou de erupção cutânea

	Febre n (%)	p	Erupção Cutânea n (%)	p
HHV-6 em CMSP		0,39		0,54
Sim (n=82)	11 (13)		5 (6)	
Não (n=76)	14 (18)		3 (4)	
HHV-6 em plasma		0,63		0,31
Sim (n=17)	2 (12)		0 (0)	
Não (n=141)	23 (16)		8 (6)	
HHV-7 em CMSP		0,78		0,50
Sim (n=35)	5 (14)		1 (3)	
Não (n=123)	20 (16)		7 (6)	
HHV-7 em plasma		0,45		0,69
Sim (n=3)	0 (0)		0 (0)	
Não (n=155)	25 (16)		8 (5)	

Do mesmo modo, não houve associação entre a frequência de ocorrência de erupção cutânea e a detecção de DNA dos vírus estudados tanto no CMSP ou no plasma.

Não ocorreram casos de pneumonia intersticial ou de encefalopatia durante o período estudado.

Durante o período de seguimento clínico de 6 meses após transplante, foram diagnosticados 3 casos de doença por citomegalovírus (15%). Em função do

pequeno número de pacientes estudados, não foi possível analisar a possível interação entre as infecções por HHV-6 ou HHV-7 e o desenvolvimento de doença por citomegalovírus após transplante hepático.

A proporção de pacientes com hepatite C crônica entre aqueles em quem se detectou o DNA de HHV-6 seja em CMSP (61%) ou em plasma (54%), ou DNA de HHV-7 seja em CMSP (62%) ou em plasma (67%) foi semelhante à proporção geral de pacientes com hepatite C crônica na amostra estudada (60%), não tendo havido associação estatisticamente significativa entre a detecção dos vírus estudados e a presença de hepatite C crônica no receptor.

Cinco pacientes (25%) apresentaram diagnóstico de rejeição aguda nos primeiros seis meses após o transplante hepático. A tabela 2 apresenta a distribuição da frequência de pacientes acometidos por rejeição aguda neste período em relação aos resultados dos testes de detecção de DNA de HHV-6 e HHV-7. Apenas os resultados dos testes anteriores ao diagnóstico de rejeição foram levados em consideração nesta análise, por isso o número total de pacientes com detecção de HHV-6 no plasma é menor do que o número anteriormente apresentado em relação a este parâmetro. Não foram observadas associações estatisticamente significantes entre as variáveis estudadas nesta pequena amostra. Observou-se uma tendência a maior frequência de rejeição celular aguda em pacientes em que se havia detectado previamente a presença de DNA de HHV-6 em CMSP ou plasma.

Tabela 2 Associação entre a detecção de DNA viral de HHV-6 e HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico (CMSP) ou de plasma e a ocorrência de rejeição nos primeiros seis meses após transplante hepático

	Rejeição n (%)	p
HHV-6 em CMSP		1,0
Sim (n=18)	5 (28)	
Não (n=2)	0 (0)	
HHV-6 em plasma		0,60
Sim (n=12)	4 (33)	
Não (n=8)	1 (13)	
HHV-7 em CMSP		0,29
Sim (n=13)	2 (15)	
Não (n=7)	3 (43)	
HHV-7 em plasma		1,0
Sim (n=3)	1 (33)	
Não (n=17)	4 (24)	

5.4 Relação entre a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e os Resultados de Outros Parâmetros Laboratoriais

Nas tabelas 3 a 5 são apresentados os resultados da análise da possível associação entre a detecção do DNA dos vírus estudados e as variações nas contagens de neutrófilos, linfócitos, plaquetas, e sobre o nível sérico de enzimas hepáticas no período entre a terceira e a décima-segunda semanas após o transplante hepático. Os resultados laboratoriais das duas primeiras semanas de pós-operatório não foram analisados para evitar as alterações usualmente observadas durante este período influíssem nos resultados do estudo. Devido ao pequeno número de amostras de plasma positivas para o DNA de HHV-7, as análises em relação à este vírus se restringiram aos resultados da pesquisa em CMSP.

Foi observada uma redução significativa no percentual de linfócitos CD8+ nas amostras de sangue em que a pesquisa para o DNA de HHV-6 em CMSP foi positiva ($p=0,03$, tabela 3). Não foram observadas outras associações estatisticamente significantes entre os outros parâmetros hematológicos estudados e a detecção de HHV-6 em CSMP ou plasma (tabela 3 e 4). Não houve qualquer associação significativa entre a detecção de HHV-7 em CMSP e as variáveis hematológicas analisadas (tabela 5).

De forma semelhante, não se observou qualquer associação significativa entre o nível sérico de enzimas hepáticas e a detecção do DNA tanto de HHV-6 quanto de HHV-7.

Tabela 3 Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-6 em amostras de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático

Variáveis	HHV-6				p
	Positivo		Negativo		
	Mediana	IIQ	Mediana	IIQ	
Neutrófilos/mm ³	5.600	2128-7719	5638	4283-7680	0,71
Linfócitos/mm ³	1.730	772-2373	1307	715-2905	0,81
Plaquetas (10 ³ /mm ³)	191	138-249	208	121-265	0,95
Linfócitos CD4+ (%)	48	32-60	38	22-51	0,28
Linfócitos CD4+/mm ³	269	35-558	250	208-826	0,51
Linfócitos CD8+ (%)	20	18-29	27	23-30	0,17
Linfócitos CD8+/mm ³	127	56-191	301	197-543	0,03
ALT	59	32-85	51	40-76	0,99
AST	53	27-91	47	25-128	0,69
GGT	398	123-1384	385	129-1088	1,0

ALT – alanina aminotransferase; AST- aspartato aminotransferase; GGT – gama-glutamil-transpeptidase

Tabela 4 Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-6 em amostras de plasma entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático

Variáveis	HHV-6				p
	Positivo		Negativo		
	Mediana	IIQ	Mediana	IIQ	
Neutrófilos/mm ³	6210	4715-9644	5202	3042-7680	0,28
Linfócitos/mm ³	2420	1878-3052	1264	707-2733	0,10
Plaquetas/mm ³	224	173-261	179	127-254	0,35
Linfócitos CD4+ (%)	50	44-54	40	23-53	0,47
Linfócitos CD4+/mm ³	1029	744-1313	380	259-1332	0,50
Linfócitos CD8+ (%)	19	19-25	25	19-28	0,58
Linfócitos CD8+/mm ³	512	438-588	305	190-626	0,60
ALT	75	53-248	95	52-211	0,99
AST	29	23-90	48	27-126	0,39
GGT	631	94-1555	391	127-1233	0,95

ALT – alanina aminotransferase; AST- aspartato aminotransferase; GGT – gama-glutamil-transpeptidase

Tabela 5 Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a detecção de DNA de HHV-7 em amostras de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) entre a terceira e a décima-segunda semanas de pós-operatório em receptores de transplante hepático

Variáveis	HHV-7				p
	Positivo		Negativo		
	<i>Mediana</i>	<i>IIQ</i>	<i>Mediana</i>	<i>IIQ</i>	
<i>Neutrofilos/mm³</i>	7560	3042-10080	5351	3588-6815	0,14
<i>Linfócitos/mm³</i>	1578	810-2221	1515	629-2880	0,98
<i>Plaquetas/mm³</i>	178	131-227	206	126-265	0,39
<i>Linfócitos CD4+ (%)</i>	48	45-54	38	23-51	0,36
<i>Linfócitos CD4+/mm³</i>	784	441-1129	497	259-1332	0,82
<i>Linfócitos CD8+ (%)</i>	27	24-30	24	18-28	0,41
<i>Linfócitos CD8+/mm³</i>	346	193-500	376	190-626	0,93
<i>ALT</i>	133	62-194	80	51-219	0,34
<i>AST</i>	52	26-171	47	26-89	0,35
<i>GGT</i>	564	125-1389	391	111-1161	0,80

ALT – alanina aminotransferase; AST- aspartato aminotransferase; GGT – gama-glutamil-transpeptidase

6 DISCUSSÃO

Este estudo piloto longitudinal de uma pequena amostra de receptores de transplante hepático seguida em nosso centro apresenta dados sobre a detecção do genoma de HHV-6 e HHV-7 nas primeiras 12 semanas de pós-operatório. Em que pese o tamanho da amostra estudada, o estudo fornece subsídios para estudos futuros que possam determinar de forma precisa relevância destas infecções nos indivíduos submetidos a transplante hepático em nosso meio. Trata-se, até onde sabemos, do primeiro estudo brasileiro a analisar a incidência de infecção pelo HHV-6 após transplante hepático e é o segundo a focar a incidência de HHV-7 neste mesmo contexto. (Thomasini *et al.*, 2007). A possível interrelação entre estas infecções e ocorrência de outras complicações de natureza infecciosa (Dockrell *et al.*, 1997; Rogers *et al.*, 2000; Harma *et al.*, 2006) e de rejeição ao enxerto, (Griffiths *et al.*, 1999; Lautenschlager *et al.*, 2000; Rogers *et al.*, 2000) que podem limitar a efetividade do transplante como forma de prolongamento da sobrevivência de pacientes que necessitaram deste procedimento terapêutico justificam o interesse pelo tema. O melhor conhecimento da epidemiologia e do impacto associado a estas infecções poderá no futuro orientar a tomada de decisões quanto a utilização de intervenções que possam prevenir o surgimento das mesmas.

A amostra de pacientes aqui estudada apresenta distribuição por sexo e idade similares ao do restante da população submetida a transplante hepático em nosso centro. A prevalência de hepatite C crônica entre os pacientes analisados foi de 60%, sendo também similar a que é observada entre os demais pacientes não incluídos neste estudo. A prevalência 25% de amiloidose familiar como indicação de

transplante hepático nesta série é, todavia, superior aos aproximadamente 4% observado em outro estudo deste que analisou pacientes submetidos a transplante hepático neste centro entre 1999 e 2005 (Souza, 2008). Entretanto, não há na literatura disponível até o presente momento, qualquer evidência de que este fato possa ter interferido nos resultados aqui apresentados.

No que concerne à detecção do genoma de HHV-6 e HHV-7 em células mononucleares de sangue periférico, os resultados do estudo corroboram a visão de que o emprego de técnicas qualitativas de PCR neste material tenham baixa especificidade para a detecção de infecção ativa (Zerr, 2006), uma vez que devido à sua alta sensibilidade e ao fato de estas infecções virais se conservarem indefinidamente em forma latente, nos indivíduos que, no passado, foram infectados por estes vírus. Tal interpretação de nossos resultados tem por base, em primeiro lugar, a elevada incidência acumulada de detecção de HHV-6 (90%) e de HHV-7 (65%) nesta coorte, números que superam a faixa de variação de incidência de infecção ativa por estes vírus em outros estudos da literatura que utilizaram a detecção de antigenemia ou técnicas quantitativas de detecção do genoma viral (Ljungman e Singh, 2006). Em segundo lugar, a observação de que a prevalência de amostras de CMSP positivas foi elevada e apresentou pouca variação ao longo do período estudado (a não ser por um decréscimo da proporção de amostras positivas para o genoma do HHV-7 entre as sétima e oitava semanas), contrastam com os resultados de outros estudos que indicam a que a reativação viral seja mais freqüente entre as segunda e sexta semanas após o transplante hepático. (Zerr, 2006).

Por outro lado, os resultados obtidos neste estudo em relação à detecção do genoma destes vírus no plasma, corroboram as observações de outros estudos

(Huang *et al.*, 1992; Suga *et al.*, 1995; Chiu *et al.*, 1998; Yoshikawa *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Feldstein *et al.*, 2003) que sugerem que os resultados de testes qualitativos em materiais acelulares, como plasma e soro, tenham boa correlação com a replicação viral ativa. O primeiro elemento a justificar esta convicção é que, diferentemente do observado com a pesquisa em CMSP, as amostras positivas se concentraram entre a quarta e a sétima semanas, no caso de HHV-6, e entre a terceira e a quarta semanas, no casos de HHV-7. Este pico de detecção entre o final do primeiro mês e a metade do segundo mês de pós-operatório, coincide com os resultados descritos para a de outros estudos conduzidos que analisaram a infecção ativa por estes vírus em receptores de transplantes de órgãos sólidos (Griffiths *et al.*, 1999; Ihira *et al.*, 2001; Lautenschlager *et al.*, 2002a; Harma *et al.*, 2006) O segundo elemento considerado na interpretação destes resultados, advém da comparação dos achados deste com o de outros já publicados no que diz respeito à incidência acumulada de ocorrência destas infecções. A incidência acumulada 65% de detecção de HHV-6 encontrada nas primeiras 12 semanas após transplante hepático neste estudo, situa-se dentro da faixa de 23% a 67% descrita em outros estudos que empregaram técnicas quantitativas ou a detecção de antigenemia para o diagnóstico da infecção viral ativa entre receptores de transplante hepático. (Osman *et al.*, 1996; Griffiths *et al.*, 1999; Kidd *et al.*, 2000; Lautenschlager *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Galarraga *et al.*, 2005) Semelhantemente, a incidência acumulada de 15% de detecção de HHV-7 em plasma observada nas primeiras 12 semanas após transplante em nossos pacientes, está contida na ampla faixa de variação dos resultados de outros estudos que relatam incidência acumulada de 0% a 65% relatada. (Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Feldstein *et al.*, 2003; Thomasini *et al.*, 2007)

Chama a atenção, todavia, a diferença entre os resultados do presente estudo e a incidência de 65% detecção de HHV-7 em plasma de receptores de transplante hepático, encontrada por Thomasini e cols com o emprego de técnica de *nested-PCR*, a mesma usada em nosso centro, para a detecção do DNA viral, tanto mais quando se considera que o protocolo de vigilância usado por aqueles autores (coleta de uma amostra semanal no primeiro mês, seguida de coleta de uma amostra mensal até completar 180 dias) foi menos intensivo que o empregado neste estudo. Diferentes fatores podem ser aventados para explicar tal diferença. Houve diferença entre ambos os estudos quanto às sequências iniciadoras empregadas para a reação em cadeia da polimerase. Por outro lado, o protocolo de imunossupressão também diferiu entre os centros. Enquanto no estudo de Thomasini e cols, todos os pacientes foram submetidos a terapia imunossupressora com combinação de 3 drogas (um inibidor de calcineurina, prednisona em associação com micofenolato ou azatioprina), no presente estudo, os receptores com infecção pelo vírus da hepatite C, que compunham a maior parte da série estudada, receberam imunossupressão menos intensa, em que se combinavam apenas duas drogas (em geral tacrolimus e prednisona). É muito provável que a menor intensidade da imunossupressão nestes pacientes possa ter influenciado os nossos resultados.

Alguns estudos sugeriram a ocorrência de interação entre os diferentes beta-herpesvírus nos receptores de transplantes de órgãos sólidos, sendo possível que a ocorrência de infecção ativa por um destes vírus possa no risco de desencadeamento de infecção ativa por outros membros da subfamília (Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Lautenschlager *et al.*, 2002b; Galarraga *et al.*, 2005; Harma *et al.*, 2006; Lehto *et al.*, 2007). Em receptores de transplante hepático, Mendez e cols (2001) observaram a associação

entre o risco de ocorrência de doença por citomegalovírus e carga viral de HHV-6 e HHV-7. Dois outros estudos em receptores de transplantes de fígado, conduzidos em um mesmo centro também demonstraram a frequente associação entre a presença de replicação viral do HHV-6 e HHV-7 com a ocorrência de viremia por citomegalovírus (Lautenschlager *et al.*, 2002b; Harma *et al.*, 2006). Entre receptores de transplante pulmonar, Lehto e cols. (2007), relataram a frequente associação da viremia por HHV-6 e HHV-7 com a detecção de infecção ativa pelo citomegalovírus. Os resultados de três estudos conduzidos em coortes de receptores de transplante renal sugerem que a ocorrência de infecção ativa por HHV-7 esteja significativamente associada a maior incidência de doença por citomegalovírus (Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000). Também em receptores de transplantes renais, Galarraga e cols. (2005) observaram que todos os pacientes que desenvolveram doença por citomegalovírus apresentavam concorrentemente viremia pro HHV-7. Além disso, neste mesmo estudo, a viremia pelo citomegalovírus foi mais prolongada nos indivíduos que apresentaram infecção ativa pelo HHV-6. Uma das limitações do presente estudo decorre do fato de não se ter empregado qualquer método para vigilância da infecção ativa pelo citomegalovírus. A pesquisa da antigenemia para citomegalovírus foi empregada apenas nos casos em que havia manifestações clínicas potencialmente associadas à infecção por este vírus. Este fato, aliado à baixa incidência de infecção ativa pelo citomegalovírus observada nesta coorte, não permitiram que se analisasse a existência de interação entre esta infecção e a ocorrência a infecção ativa por HHV-6 ou HHV-7. Por outro lado, é interessante assinalar o fato de que em todos os três pacientes nos quais se detectou a presença de HHV-7 em plasma, houve detecção concomitante do genoma de HHV-6, fato que parece compatível com a ocorrência de interação entre

estes vírus. Todavia, o pequeno número de pacientes estudados não permite uma análise concludente sobre este aspecto.

Não observamos associação entre presença de infecção crônica pelo Vírus da Hepatite C (VHC) a detecção de HHV-6 e HHV-7 após transplante hepático. Em outro estudo recentemente publicado, também não pareceu haver influência entre a presença de infecção por VHC e a frequência de reativação da infecção por HHV-6. (Humar *et al.*, 2007). Alguns autores, por outro lado, sugeriram que a ocorrência de infecção ativa pelo HHV-6 poderia associar-se a maior intensidade da recidiva de hepatite C no enxerto hepático. (Humar *et al.*, 2002b; Singh *et al.*, 2002). Tais observações não foram confirmadas pelo resultado de outro estudo, em que apenas a reativação da infecção por citomegalovírus, mas não a infecção por HHV-6, influenciou na patogênese da hepatite C no enxerto hepático (Razonable *et al.*, 2002). Não analisamos no presente estudo a possível associação entre a detecção do genoma de HHV-6 e HHV-7 e a recidiva da hepatite C no enxerto.

Conforme já descrito no capítulo “Revisão da Literatura” desta dissertação, diferentes manifestações clínicas potencialmente associadas à infecção ativa por HHV-6 e HHV-7 têm sido descritas em pacientes que receberam transplantes de órgãos sólidos ou de medula óssea. Entre tais manifestações incluem-se a ocorrência de: síndrome febril não específica, erupção cutânea, encefalopatia, disfunção do enxerto hepático e pneumonite. De uma forma geral, nos estudos em receptores de transplantes de órgãos sólidos, a incidência de manifestações clínicas associadas à infecção por estes vírus tem sido baixa (Griffiths *et al.*, 1999; Razonable *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2006; Lehto *et al.*, 2007). Excetuam-se dois estudos em que indicaram que as infecções por HHV-6 poderiam ser causa relativamente frequente de febre de causa indeterminada (Chang *et al.*, 1998;

Yoshikawa *et al.*, 2000) e de encefalopatia (Rogers *et al.*, 2000) em receptores de transplante hepático.

A ocorrência de síndrome febril inespecífica parece ser a manifestação clínica atribuível ao HHV-6 que ocorre com maior frequência. No estudo de Chang e cols. 5 de 45 (11%) episódios febris estudados em receptores de transplante hepático tinham com única causa aparente a ocorrência de infecção por HHV-6. Em outro estudo, observou-se que a frequência de febre de causa indefinida entre receptores de transplante hepático com infecção por HHV-6 foi de 87% enquanto entre pacientes sem infecção ativa por este vírus a incidência foi de 20% (Yoshikawa *et al.*, 2000).

No que concerne ao acometimento do sistema nervoso central em receptores de transplantes de órgãos sólidos, há relatos que demonstram a associação entre a ocorrência de manifestações neurológicas e a presença de infecção por HHV-6 (Paterson *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 2000; Bollen *et al.*, 2001; Lehto *et al.*, 2007). Os dados destes estudos sugerem também que o uso de antivirais efetivos contra o CMV também tenha efeito na prevenção (Rogers *et al.*, 2000) ou tratamento (Paterson *et al.*, 1999; Bollen *et al.*, 2001) das manifestações neurológicas associadas ao HHV-6 nestes pacientes.

No presente estudo, a detecção do genoma de HHV-6 tanto em CMSP quanto em plasma não se associou a ocorrência concomitante de maior frequência de febre de origem indeterminada, erupção cutânea e anormalidades de enzimas hepáticas. Nenhum caso de encefalopatia ou de pneumonia intersticial foi observado durante o estudo. Não podemos afastar, contudo a hipótese de que a falta de manifestações presumivelmente associadas à infecção por HHV-6 em nossos pacientes se deva apenas ao pequeno tamanho amostral do estudo.

A infecção ativa por HHV-7 tem sido menos freqüentemente associada à ocorrência de manifestações clínicas em receptores de transplante de medula óssea (Ward, 2005). Entre receptores de transplantes de órgão sólidos, tal associação é ainda menos documentada (Griffiths *et al.*, 1999; Razonable *et al.*, 2003; Smith e McDonald, 2006). Thomasini e cols. numa coorte de 29 receptores de transplante hepático não conseguiram estabelecer relação direta entre ocorrência de manifestações clínicas ou laboratoriais e a presença de infecção por HHV-7 pesquisada no plasma com a técnica semelhante à utilizada neste estudo. Também não pudemos estabelecer qualquer associação entre a detecção de HHV-7 em CSMP ou plasma e qualquer das manifestações clínicas e laboratoriais pesquisadas. Contudo, mais uma vez, deve ser ressaltado o pequeno número de pacientes incluídos no estudo.

A associação entre a ocorrência de infecções por HHV-6 e supressão medular, manifestada por leucopenia e trombocitopenia tem sido consistentemente descrita entre receptores de medula óssea (Carrigan e Knox, 1994; Wang *et al.*, 1996; Imbert-Marcille *et al.*, 2000; Ljungman *et al.*, 2000; Zerr *et al.*, 2005a) e, menos frequentemente, em receptores de transplante hepático (Singh *et al.*, 1997). No presente estudo não observamos qualquer associação entre as contagens de neutrófilos, linfócitos CD4+, e plaquetas com a concomitante do genoma detecção dos vírus estudados. Em relação aos linfócitos CD8+, observamos uma significativa redução da contagem absoluta, acompanhada por redução não significativa do percentual destas células concomitantemente à detecção do genoma de HHV-6 em CMSP. O significado de tal associação é incerto e, considerando-se o valor limítrofe de significância estatística associado a este achado, é possível que o mesmo possa se dever ao acaso, tanto mais ela não se repete quando se analisa a

relação entre a contagem absoluta destas células e a detecção do DNA de HHV-6 no plasma.

Os dados disponíveis até o momento sugerem que as infecções por HHV-6 e HHV-7 tenham efeito imunomodulatório e imunossupressor, analogamente ao que já se havia demonstrado em relação às infecções por citomegalovírus, outro beta-herpesvírus. Desta forma, estas infecções parecem associar-se a um aumento tanto do risco de infecções oportunistas (Osman *et al.*, 1996; Dockrell *et al.*, 1997; Kidd *et al.*, 2000; Rogers *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001) quanto de rejeição (aguda ou crônica) ao enxerto (Griffiths *et al.*, 1999; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Ross *et al.*, 2001; Feldstein *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2006). É provável que estes efeitos justifiquem a tendência a maior mortalidade observada em associação com a infecção por HHV-6 em receptores de transplantes hepáticos (Rogers *et al.*, 2000) e pulmonares (Jacobs *et al.*, 2003).

Neste estudo piloto, a análise da associação entre as infecções virais estudadas e a ocorrência de infecções oportunistas, como as infecções fúngicas invasivas e a infecção sintomática pelo citomegalovírus, não foi incluída entre os objetivos, devido a baixa incidência esperada destas complicações em nosso centro (Souza, 2008). Não foi possível também analisar a relação com a ocorrência de viremia, sintomática ou não, por citomegalovírus, pois não fez parte do protocolo de seguimento destes pacientes a pesquisa semanal rotineira da replicação deste vírus, mediante o uso de testes para detecção de antigenemia ou de ácidos nucleicos daquele vírus.

No que concerne à associação destas infecções virais com o fenômeno de rejeição ao enxerto, observa-se na literatura um a relação mais consistente da infecção por HHV-6 e rejeição em receptores de transplante hepático (Griffiths *et al.*,

1999; Feldstein *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2006), enquanto, entre receptores de transplante renal, são mais consistentes as evidências ligando a infecção por HHV-7 à rejeição (Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000). No presente estudo, observamos um aumento não significativo do risco de rejeição em pacientes nos quais o achado prévio do DNA do HHV-6 em plasma indicava a presença de replicação viral. Embora a associação observada não tenha sido, provavelmente em razão do pequeno número de pacientes estudados, a magnitude da diferença observada entre os pacientes com e sem infecção por HHV-6 parece-nos suficiente para indicar a realização de novos estudos com maior tamanho amostral, visando esclarecer se há ou não influência desta infecção sobre o risco de rejeição após transplante hepático. Por outro lado, não é possível fazer qualquer comentário entre potencial relação entre a infecção ativa por HHV-7 e rejeição celular aguda, não só pelo pequeno número de pacientes em que se detectou este vírus em amostras de plasma, mas também pelo fato de que o seu surgimento nestas amostras foi sempre acompanhado da presença de HHV-6.

7 CONCLUSÕES

A proporção de indivíduos em que se detectou DNA de herpesvírus humanos 6 nos primeiros três meses de pós-operatório de transplante hepático foi elevada, considerando-se tanto os resultados obtidos em amostras de células de mononucleares de sangue periférico (90%) quanto em amostras de plasma (65%).

A proporção de pacientes com detecção de herpesvirus humanos 7 em amostras de células de mononucleares de sangue periférico também foi elevada (65%), enquanto a detecção em amostras de plasma foi observada em pequena proporção dos casos (15%).

A comparação dos resultados deste estudo com os já relatados na literatura no que diz respeito à proporção de pacientes com evidência de infecção ativa e a distribuição temporal das amostras positivas sugerem que a detecção do DNA em amostras de plasma com a técnica aqui empregada seja um indicador mais específico de replicação viral que a sua detecção em células mononucleares de sangue periférico.

Houve associação estatisticamente significativa entre a detecção de DNA de HHV-6 em células mononucleares de sangue periférico e uma contagem mais baixa de linfócitos CD8. Este achado não é descrito em outros estudos e seu significado é incerto neste momento.

Não houve qualquer outra associação entre a detecção de DNA dos vírus estudados e a ocorrência de outras alterações no número de leucócitos ou plaquetas dos pacientes analisados.

Nesta pequena amostra de pacientes não foram detectadas outras

alterações clínicas ou laboratoriais potencialmente associadas à detecção do DNA dos vírus estudados. Tal fato está de acordo com os resultados de outros estudos que sugerem ser baixa a ocorrência de síndromes clínicas associadas a estes beta-herpesvírus em receptores de transplante hepático.

Houve tendência à ocorrência de maior frequência de rejeição celular aguda em receptores de transplante hepático nos quais, concomitante ou previamente, havia-se detectado a presença do DNA de HHV-6 no plasma. Embora o resultado não tenha alcançado significância estatística, provavelmente em função da pequena amostra deste estudo piloto, ele está de acordo com os achados de outros estudos que sugerem tal associação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appleton AL, Sviland L, Peiris JS, Taylor CE, Wilkes J, Green MA, *et al.* Human herpes virus-6 infection in marrow graft recipients: role in pathogenesis of graft-versus-host disease. Newcastle upon Tyne Bone Marrow Transport Group. Bone Marrow Transplant. 1995 Dec; 16(6):777-782.
- Aubin JT, Collandre H, Candotti D, Ingrand D, Rouzioux C, Burgard M, *et al.* Several groups among human herpesvirus 6 strains can be distinguished by Southern blotting and polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1991 Feb; 29(2):367-372.
- Benito N, Moreno A, Pumarola T, Marcos MA. [Human herpesvirus type 6 and type 7 in transplant recipients]. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003 Oct; 21(8):424-432.
- Berneman ZN, Ablashi DV, Li G, Eger-Fletcher M, Reitz MS, Jr., Hung CL, *et al.* Human herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 Nov 1; 89(21):10552-10556.
- Black JB, Pellett PE. Human herpesvirus 7. Rev Med Virol. 1999 Oct-Dec; 9(4):245-262.
- Bollen AE, Wartan AN, Krikke AP, Haaxma-Reiche H. Amnestic syndrome after lung transplantation by human herpes virus-6 encephalitis. J Neurol. 2001 Jul; 248(7):619-620.
- Campadelli-Fiume G, Mirandola P, Menotti L. Human herpesvirus 6: An emerging pathogen. Emerg Infect Dis. 1999 May-Jun; 5(3):353-366.
- Carrigan DR, Drobyski WR, Russler SK, Tapper MA, Knox KK, Ash RC. Interstitial pneumonitis associated with human herpesvirus-6 infection after marrow transplantation. Lancet. 1991 Jul 20; 338(8760):147-149.
- Carrigan DR, Knox KK. Human herpesvirus 6 (HHV-6) isolation from bone marrow: HHV-6-associated bone marrow suppression in bone marrow transplant patients. Blood. 1994 Nov 15; 84(10):3307-3310.
- Carrigan DR, Knox KK. Pathogenic role of human herpesvirus 6 in Transplantation. Curr Opin Organ Transplant. 1999; 4(3):285-291.

- Caserta MT, Mock DJ, Dewhurst S. Human herpesvirus 6. *Clin Infect Dis*. 2001 Sep 15; 33(6):829-833.
- Chan PK, Ng HK, Hui M, Ip M, Cheung JL, Cheng AF. Presence of human herpesviruses 6, 7, and 8 DNA sequences in normal brain tissue. *J Med Virol*. 1999 Dec; 59(4):491-495.
- Chang FY, Singh N, Gayowski T, Wagener MM, Marino IR. Fever in liver transplant recipients: changing spectrum of etiologic agents. *Clin Infect Dis*. 1998 Jan; 26(1):59-65.
- Chiu SS, Cheung CY, Tse CY, Peiris M. Early diagnosis of primary human herpesvirus 6 infection in childhood: serology, polymerase chain reaction, and virus load. *J Infect Dis*. 1998 Nov; 178(5):1250-1256.
- Clark DA, Freeland ML, Mackie LK, Jarrett RF, Onions DE. Prevalence of antibody to human herpesvirus 7 by age. *J Infect Dis*. 1993 Jul; 168(1):251-252.
- Cone RW, Hackman RC, Huang ML, Bowden RA, Meyers JD, Metcalf M, *et al*. Human herpesvirus 6 in lung tissue from patients with pneumonitis after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1993 Jul 15; 329(3):156-161.
- DesJardin JA, Cho E, Supran S, Gibbons L, Werner BG, Snyderman DR. Association of human herpesvirus 6 reactivation with severe cytomegalovirus-associated disease in orthotopic liver transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2001 Oct 15; 33(8):1358-1362.
- Dockrell DH, Paya CV. Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol*. 2001 Jan-Feb; 11(1):23-36.
- Dockrell DH, Prada J, Jones MF, Patel R, Badley AD, Harmsen WS, *et al*. Seroconversion to human herpesvirus 6 following liver transplantation is a marker of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis*. 1997 Nov; 176(5):1135-1140.
- Emery VC. Human herpesviruses 6 and 7 in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2001 May 1; 32(9):1357-1360.
- Feldstein AE, Razonable RR, Boyce TG, Freese DK, El-Youssef M, Perrault J, *et al*. Prevalence and clinical significance of human herpesviruses 6 and 7 active infection in pediatric liver transplant patients. *Pediatr Transplant*. 2003 Apr; 7(2):125-129.
- Frenkel N, Schirmer EC, Wyatt LS, Katsafanas G, Roffman E, Danovich RM, *et al*. Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Jan; 87(2):748-752.

- Galarraga MC, Gomez E, de Ona M, Rodriguez A, Laures A, Boga JA, *et al.* Influence of ganciclovir prophylaxis on cytomegalovirus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7 viremia in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005 Jun; 37(5):2124-2126.
- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control.* 1988 Jun; 16(3):128-140.
- Griffiths PD, Ait-Khaled M, Bearcroft CP, Clark DA, Quaglia A, Davies SE, *et al.* Human herpesviruses 6 and 7 as potential pathogens after liver transplant: prospective comparison with the effect of cytomegalovirus. *J Med Virol.* 1999 Dec; 59(4):496-501.
- Hadley S, Samore MH, Lewis WD, Jenkins RL, Karchmer AW, Hammer SM. Major infectious complications after orthotopic liver transplantation and comparison of outcomes in patients receiving cyclosporine or FK506 as primary immunosuppression. *Transplantation.* 1995 Mar 27; 59(6):851-859.
- Harma M, Hockerstedt K, Lyytikainen O, Lautenschlager I. HHV-6 and HHV-7 antigenemia related to CMV infection after liver transplantation. *J Med Virol.* 2006 Jun; 78(6):800-805.
- Hentrich M, Oruzio D, Jager G, Schlemmer M, Schleuning M, Schiel X, *et al.* Impact of human herpesvirus-6 after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2005 Jan; 128(1):66-72.
- Huang LM, Kuo PF, Lee CY, Chen JY, Liu MY, Yang CS. Detection of human herpesvirus-6 DNA by polymerase chain reaction in serum or plasma. *J Med Virol.* 1992 Sep; 38(1):7-10.
- Humar A, Kumar D, Caliendo AM, Moussa G, Ashi-Sulaiman A, Levy G, *et al.* Clinical impact of human herpesvirus 6 infection after liver transplantation. *Transplantation.* 2002a Feb 27; 73(4):599-604.
- Humar A, Kumar D, Raboud J, Caliendo AM, Moussa G, Levy G, *et al.* Interactions between cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and the recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Am J Transplant.* 2002b May; 2(5):461-466.
- Humar A, Washburn K, Freeman R, Paya CV, Mouas H, Alecock E, *et al.* An assessment of interactions between hepatitis C virus and herpesvirus reactivation in liver transplant recipients using molecular surveillance. *Liver Transpl.* 2007 Oct; 13(10):1422-1427.
- Ihira M, Yoshikawa T, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, Asonuma K, *et al.* Correlation between human herpesvirus 6 and 7 infections after living related liver transplantation. *Microbiol Immunol.* 2001; 45(3):225-232.

- Imbert-Marcille BM, Tang XW, Lepelletier D, Besse B, Moreau P, Billaudel S, *et al.* Human herpesvirus 6 infection after autologous or allogeneic stem cell transplantation: a single-center prospective longitudinal study of 92 patients. *Clin Infect Dis.* 2000 Oct; 31(4):881-886.
- Jacobs F, Knoop C, Brancart F, Gilot P, Melot C, Byl B, *et al.* Human herpesvirus-6 infection after lung and heart-lung transplantation: a prospective longitudinal study. *Transplantation.* 2003 Jun 27; 75(12):1996-2001.
- Kempf W, Adams V, Pfaltz M, Briner J, Schmid M, Moos R, *et al.* Human herpesvirus type 6 and cytomegalovirus in AIDS-associated Kaposi's sarcoma: no evidence for an etiological association. *Hum Pathol.* 1995 Aug; 26(8):914-919.
- Kempf W, Adams V, Wey N, Moos R, Schmid M, Avitabile E, *et al.* CD68+ cells of monocyte/macrophage lineage in the environment of AIDS-associated and classic-sporadic Kaposi sarcoma are singly or doubly infected with human herpesviruses 7 and 6B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jul 8; 94(14):7600-7605.
- Kempf W, Kadin ME, Kutzner H, Lord CL, Burg G, Letvin NL, *et al.* Lymphomatoid papulosis and human herpesviruses--A PCR-based evaluation for the presence of human herpesvirus 6, 7 and 8 related herpesviruses. *J Cutan Pathol.* 2001 Jan; 28(1):29-33.
- Kidd IM, Clark DA, Sabin CA, Andrew D, Hassan-Walker AF, Sweny P, *et al.* Prospective study of human betaherpesviruses after renal transplantation: association of human herpesvirus 7 and cytomegalovirus co-infection with cytomegalovirus disease and increased rejection. *Transplantation.* 2000 Jun 15; 69(11):2400-2404.
- Kimberlin DW. Human herpesviruses 6 and 7: identification of newly recognized viral pathogens and their association with human disease. *Pediatr Infect Dis J.* 1998 Jan; 17(1):59-67; quiz 68.
- Lautenschlager I, Harma M, Hockerstedt K, Linnavuori K, Loginov R, Taskinen E. Human herpesvirus-6 infection is associated with adhesion molecule induction and lymphocyte infiltration in liver allografts. *J Hepatol.* 2002a Nov; 37(5):648-654.
- Lautenschlager I, Lappalainen M, Linnavuori K, Suni J, Hockerstedt K. CMV infection is usually associated with concurrent HHV-6 and HHV-7 antigenemia in liver transplant patients. *J Clin Virol.* 2002b Aug; 25 Suppl 2:S57-61.
- Lautenschlager I, Linnavuori K, Hockerstedt K. Human herpesvirus-6 antigenemia after liver transplantation. *Transplantation.* 2000 Jun 27; 69(12):2561-2566.

- Lehto JT, Halme M, Tukiainen P, Harjula A, Sipponen J, Lautenschlager I. Human herpesvirus-6 and -7 after lung and heart-lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2007 Jan; 26(1):41-47.
- Ljungman P. Beta-herpesvirus challenges in the transplant recipient. *J Infect Dis*. 2002 Oct 15; 186 Suppl 1:S99-S109.
- Ljungman P, Singh N. Human herpesvirus-6 infection in solid organ and stem cell transplant recipients. *J Clin Virol*. 2006 Dec; 37 Suppl 1:S87-91.
- Ljungman P, Wang FZ, Clark DA, Emery VC, Remberger M, Ringden O, *et al*. High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br J Haematol*. 2000 Dec; 111(3):774-781.
- Lusso P, Crowley RW, Malnati MS, Di Serio C, Ponzoni M, Biancotto A, *et al*. Human herpesvirus 6A accelerates AIDS progression in macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Mar 20; 104(12):5067-5072.
- Lusso P, Markham PD, Tschachler E, di Marzo Veronese F, Salahuddin SZ, Ablashi DV, *et al*. In vitro cellular tropism of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *J Exp Med*. 1988 May 1; 167(5):1659-1670.
- Lusso P, Secchiero P, Crowley RW, Garzino-Demo A, Berneman ZN, Gallo RC. CD4 is a critical component of the receptor for human herpesvirus 7: interference with human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Apr 26; 91(9):3872-3876.
- Mendez JC, Dockrell DH, Espy MJ, Smith TF, Wilson JA, Harmsen WS, *et al*. Human beta-herpesvirus interactions in solid organ transplant recipients. *J Infect Dis*. 2001 Jan 15; 183(2):179-184.
- Moschettini D, De Milito A, Catucci M, Marconi A, Rinina C, Bianchi-Bandinelli ML, *et al*. Detection of human herpesviruses 6 and 7 in heart transplant recipients by a multiplex polymerase chain reaction method. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998 Feb; 17(2):117-119.
- Osman HK, Peiris JS, Taylor CE, Warwicker P, Jarrett RF, Madeley CR. "Cytomegalovirus disease" in renal allograft recipients: is human herpesvirus 7 a co-factor for disease progression? *J Med Virol*. 1996 Apr; 48(4):295-301.
- Paterson DL, Singh N, Gayowski T, Carrigan DR, Marino IR. Encephalopathy associated with human herpesvirus 6 in a liver transplant recipient. *Liver Transpl Surg*. 1999 Sep; 5(5):454-455.

- Razonable RR, Burak KW, van Crujisen H, Brown RA, Charlton MR, Smith TF, *et al.* The pathogenesis of hepatitis C virus is influenced by cytomegalovirus. *Clin Infect Dis.* 2002 Oct 15; 35(8):974-981.
- Razonable RR, Paya CV. The impact of human herpesvirus-6 and -7 infection on the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl.* 2002 Aug; 8(8):651-658.
- Razonable RR, Rivero A, Brown RA, Hart GD, Espy MJ, van Crujisen H, *et al.* Detection of simultaneous beta-herpesvirus infections in clinical syndromes due to defined cytomegalovirus infection. *Clin Transplant.* 2003 Apr; 17(2):114-120.
- Rogers J, Rohal S, Carrigan DR, Kusne S, Knox KK, Gayowski T, *et al.* Human herpesvirus-6 in liver transplant recipients: role in pathogenesis of fungal infections, neurologic complications, and outcome. *Transplantation.* 2000 Jun 27; 69(12):2566-2573.
- Ross DJ, Chan RC, Kubak B, Laks H, Nichols WS. Bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia: possible association with human herpesvirus-7 infection after lung transplantation. *Transplant Proc.* 2001 Jun; 33(4):2603-2606.
- Rossi C, Delforge ML, Jacobs F, Wissing M, Pradier O, Rimmelink M, *et al.* Fatal primary infection due to human herpesvirus 6 variant A in a renal transplant recipient. *Transplantation.* 2001 Jan 27; 71(2):288-292.
- Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, *et al.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science.* 1986 Oct 31; 234(4776):596-601.
- Singh N, Carrigan DR, Gayowski T, Marino IR. Human herpesvirus-6 infection in liver transplant recipients: documentation of pathogenicity. *Transplantation.* 1997 Sep 15; 64(5):674-678.
- Singh N, Husain S, Carrigan DR, Knox KK, Weck KE, Wagener MM, *et al.* Impact of human herpesvirus-6 on the frequency and severity of recurrent hepatitis C virus hepatitis in liver transplant recipients. *Clin Transplant.* 2002 Apr; 16(2):92-96.
- Singh N, Paterson DL. Encephalitis caused by human herpesvirus-6 in transplant recipients: relevance of a novel neurotropic virus. *Transplantation.* 2000 Jun 27; 69(12):2474-2479.
- Smith JM, McDonald RA. Emerging viral infections in transplantation. *Pediatr Transplant.* 2006 Nov; 10(7):838-843.
- Smith SR, Butterly DW, Alexander BD, Greenberg A. Viral infections after renal transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2001 Apr; 37(4):659-676.

- Snydman DR. Epidemiology of infections after solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis*. 2001 Jul 1; 33 Suppl 1:S5-8.
- Souza DC. Profilaxia de Candidíase Invasiva em Receptores de Transplante Hepático [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.
- Suga S, Yazaki T, Kajita Y, Ozaki T, Asano Y. Detection of human herpesvirus 6 DNAs in samples from several body sites of patients with exanthem subitum and their mothers by polymerase chain reaction assay. *J Med Virol*. 1995 May; 46(1):52-55.
- Suga S, Yoshikawa T, Nagai T, Asano Y. Clinical features and virological findings in children with primary human herpesvirus 7 infection. *Pediatrics*. 1997 Mar; 99(3):E4.
- Suligo B, Dorrucci M, Uccella I, Andreoni M, Rezza G. Effect of multiple herpesvirus infections on the progression of HIV disease in a cohort of HIV seroconverters. *J Med Virol*. 2003 Feb; 69(2):182-187.
- Tanaka K, Kondo T, Torigoe S, Okada S, Mukai T, Yamanishi K. Human herpesvirus 7: another causal agent for roseola (exanthem subitum). *J Pediatr*. 1994 Jul; 125(1):1-5.
- Thomasini RL, Sampaio AM, Bonon SH, Boin IF, Leonardi LS, Leonardi M, *et al*. Detection and monitoring of human herpesvirus 7 in adult liver transplant patients: impact on clinical course and association with cytomegalovirus. *Transplant Proc*. 2007 Jun; 39(5):1537-1539.
- Tong CY, Bakran A, Williams H, Cheung CY, Peiris JS. Association of human herpesvirus 7 with cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2000 Jul 15; 70(1):213-216.
- Torigoe S, Koide W, Yamada M, Miyashiro E, Tanaka-Taya K, Yamanishi K. Human herpesvirus 7 infection associated with central nervous system manifestations. *J Pediatr*. 1996 Aug; 129(2):301-305.
- Wang FZ, Dahl H, Linde A, Brytting M, Ehrnst A, Ljungman P. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 1996 Nov 1; 88(9):3615-3620.
- Ward KN. Human herpesviruses-6 and -7 infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2005 Jun; 18(3):247-252.
- Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, *et al*. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet*. 1988 May 14; 1(8594):1065-1067.

- Yoshikawa T, Asano Y, Ihira M, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, *et al.* Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients: clinical features and risk factors. *J Infect Dis.* 2002 Apr 1; 185(7):847-853.
- Yoshikawa T, Asano Y, Kobayashi I, Nakashima T, Yazaki T, Suga S, *et al.* Seroepidemiology of human herpesvirus 7 in healthy children and adults in Japan. *J Med Virol.* 1993 Dec; 41(4):319-323.
- Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, Suga S, Iida K, Saito Y, *et al.* Human herpesvirus 6 infection after living related liver transplantation. *J Med Virol.* 2000 Sep; 62(1):52-59.
- Zerr DM. Human herpesvirus 6: a clinical update. *Herpes.* 2006 May; 13(1):20-24.
- Zerr DM, Corey L, Kim HW, Huang ML, Nguy L, Boeckh M. Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2005a Apr 1; 40(7):932-940.
- Zerr DM, Meier AS, Selke SS, Frenkel LM, Huang ML, Wald A, *et al.* A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection. *N Engl J Med.* 2005b Feb 24; 352(8):768-776.

ANEXOS

ANEXO 1
Formulario para Coleta de Dados

Projeto: Incidência de infecção ativa pelo vírus HHV-6/7 em receptores de transplante hepático.

Pesquisadores : Prof. Guilherme Santoro-Lopes e Dra. Alycia Gell

Nome:		Reg:
Data do Nascimento: ___/___/___	Data do Transplante: ___/___/___	Sexo: F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>
Doença de base:	Cirrose por Hepatite C? S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/>	
	Outra causa? S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/>	Qual:
Imunossupressão anterior ao transplante? S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/>		
Corticosteróides? S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/>	Azatioprina? S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/>	
Data final do seguimento: ___/___/___		
Motivo: <input type="checkbox"/> 1-Fim do período de estudo; 2- Óbito; 3-Recusa em continuar; 4-Não adesão; 5-Transferência		
Causa mortis:	Critério <input type="checkbox"/> Clínico <input type="checkbox"/> Laboratorial <input type="checkbox"/> Patológico	

Complicações

Data	Complicação 1-Rejeição 2-Infecção	Critério Diagnóstico 1-Clínico; 2-Patológico; 3-Exame direto; 4-Cultura; 5- Antigenemia; 6- PCR	Agente Infeccioso
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			
___/___/___			

* Incluir a recidiva de hepatite C

Semana	Data	PCR-HHV6	PCR-HHV7	CMV antigenemia	Hb	Leuco (Abs)	Neutro %	Linfo %	Plaq. 10 ³ /ml	CD4%	CD8%	TGP	TGO	GGT
1	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
2	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
3	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
4	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
5	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
6	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
7	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
8	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
9	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
10	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
11	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>		___, -									
12	___/___/___ _	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR <input type="checkbox"/>	___, -	___, -									

Semana	Data	Manifestações Clínicas	Drogas (doses-médias em mg, no caso da M-pred, dose acumulada na semana)									
			M-pred	Pred	Ciclosporina	Tacrolimus	Sirolimus	Aciclovir	DHPG	OKT3	ATG	
1	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
2	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
3	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
4	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
5	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
6	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
7	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
8	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
9	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
10	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
11	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										
12	___/___/___	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Encefalopatia <input type="checkbox"/> Erupção <input type="checkbox"/> Pneumonia										

Paciente	Coletas					
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Nome:	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>
	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>
Registro: _____			cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>
	CD4/8 <input type="checkbox"/>	CD4/8 <input type="checkbox"/>				CD4/8 <input type="checkbox"/>
Telefone: _____	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12
	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Data do Transplante: _____	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>
	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>
	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>
				CD4/8 <input type="checkbox"/>		

Paciente	Coletas					
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Nome:	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>
	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>
Registro: _____			cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>
	CD4/8 <input type="checkbox"/>	CD4/8 <input type="checkbox"/>				CD4/8 <input type="checkbox"/>
Telefone: _____	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12
	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Data do Transplante: _____	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>	HHV6 <input type="checkbox"/>
	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>	HHV7 <input type="checkbox"/>
	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>	cmv <input type="checkbox"/>
				CD4/8 <input type="checkbox"/>		

ANEXO 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título: Incidência de infecção ativa pelos herpesvírus humanos 6 e 7 em receptores de transplante de órgãos sólidos.

Nome do paciente: _____ **Prontuário:** _____

PROPOSTA E SITUAÇÃO PROBLEMA

O Dr. Guilherme Santoro Lopes, em colaboração com outros pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro, estão conduzindo uma pesquisa sobre a frequência de infecção ativa pelos herpesvírus humanos 6 e 7 após a realização de transplante hepático ou renal no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Você está sendo convidado a participar, por sua própria vontade, deste estudo.

Existem estudos recentes que mostram que as pessoas que recebem transplante de órgãos têm uma chance entre 30% e 50% de apresentar infecção ativa por estes vírus nos primeiros meses após a cirurgia. Na verdade, apenas uma pequena parte dos receptores de transplantes acometidos por estas infecções desenvolve doença, necessitando de tratamento antiviral. Nestes casos, a doença se manifesta, geralmente, por febre que pode associar-se a alterações sanguíneas (redução do número de leucócitos e de plaquetas), hepatite, pneumonia e, possivelmente, alterações mentais (encefalopatia). Por outro lado, alguns estudos sugerem que os receptores de transplante de órgãos que desenvolvem infecção ativa por estes vírus, mesmo quando não surgem sintomas de doença, passam a ter um risco maior de rejeição do órgão e de ocorrência de outras complicações infecciosas. No Brasil, não existem estudos a este respeito e, assim, não podemos avaliar até o momento a importância destas infecções para os receptores de transplante de órgãos. Os objetivos deste estudo são: determinar com que frequência acontecem infecções ativas por estes vírus nos pacientes que realizam transplantes neste hospital e verificar que tipo de sintomas estas infecções podem causar. Além disso, desejamos saber qual é o risco de ocorrência de outras infecções e de rejeição ao órgão transplantado nos indivíduos em que um daqueles vírus é detectado no sangue. Ao nos dar estas respostas, este estudo poderá nos indicar se será ou não válido, no futuro, fazer exames seriados para detecção destas infecções em todos os pacientes.

O estudo será baseado em dados obtidos na consulta ao seu prontuário e na pesquisa semanal destas infecções virais nos primeiros 3 meses após o transplante hepático. Para isso, precisaremos colher uma pequena amostra do seu sangue a cada semana, durante este período de 3 meses.

A participação no estudo poderá trazer benefícios para os pacientes que desenvolverem sintomas de infecção pelo HHV-6 ou HHV-7, pois, tendo o diagnóstico preciso, poderemos realizar o tratamento apropriado em tais casos. Não haverá benefícios diretos para os demais participantes do estudo. Acreditamos, entretanto,

que os resultados obtidos nesta pesquisa poderão melhorar o tratamento dos receptores de transplante de órgãos no futuro.

Participar deste estudo não envolve qualquer risco. Haverá apenas o pequeno desconforto associado à coleta semanal de sangue.

Sua participação neste estudo é livre. Se você não desejar participar não haverá qualquer prejuízo para o seu tratamento. Você poderá, também, sair do estudo, se assim desejar, a qualquer momento, sem prejuízo algum para o seu acompanhamento médico. O sigilo de cada paciente será mantido, sendo divulgado publicamente apenas o conjunto de resultados, resguardando-se a privacidade de cada paciente participante. Cada paciente, porém, poderá ter acesso livre aos seus respectivos dados.

Se, posteriormente, você tiver qualquer dúvida sobre sua participação neste estudo, poderá entrar em contato com o Dr. Guilherme Santoro Lopes através dos telefones 2562-2505 ou 2562-2556, 2562-2555 ou 2562-2563 ou através do correio eletrônico (endereço: santorolopes@hucff.ufrj.br).

CONSENTIMENTO

Eu li e entendi as informações acima. Eu tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas. Eu dou o meu consentimento livre e informado para ser um participante deste estudo. Eu recebi uma cópia deste consentimento informado.

_____ / ____ / ____
 (Nome completo do paciente ou responsável) Data

 (Assinatura do paciente ou responsável)

Eu, abaixo assinado, expliquei e discuti integralmente os detalhes relevantes deste estudo clínico para o paciente, usando uma linguagem compreensiva e acredito que o paciente entendeu todas as explicações.

 (Nome completo do pesquisador)

 (Assinatura do pesquisador)

ANEXO 3

Tabela 6 – Relação dos Resultados da Reação em Cadeia da Polimerase para a Detecção de HHV-6 e HHV-7 em Células Mononucleares de Sangue Periférico (C) e Plasma (P). A Pesquisa em Plasma Foi Realizada apenas nas Amostras em que a Pesquisa em Células foi Positiva. (P=positivo, N=negativo).

Paciente	Amostra	HHV6C	HHV7C	HHV6P	HHV7P
1	1	N	N		
1	3	P	N	N	
1	5	P	P	N	N
1	7	P	N	N	
1	8	P	P	N	N
1	9	P	P	N	N
2	1	N	N		
2	2	P	N	N	
2	3	P	N	N	
2	4	N	P		N
2	5	P	N	P	
2	6	P	N	P	
2	7	N	N		
2	8	P	N	N	
3	1	P	N	N	
3	3	N	N		
3	5	P	N	P	
3	7	N	N		
3	8	N	N		
3	9	P	N	N	
3	11	P	n	N	
4	1	N	n		
4	2	N	N		
4	3	N	n		
4	4	N	N		
4	5	N	n		
4	6	P	N	P	
4	7	P	n	N	
4	8	N	n		
4	9	N	N		
4	10	N	n		
4	11	N	n		
4	12	N	n		
5	1	N	N		
5	2	N	N		
5	3	P	N	N	
5	4	P	P	N	P
5	5	P	N	N	
5	6	P	N	P	
5	7	P	N	P	

Paciente	Amostra	HHV6C	HHV7C	HHV6P	HHV7P
5	8	P	N	N	
5	9	P	N	N	
5	10	P	n	N	
5	11	P	n	N	
6	2	P	P	N	N
6	4	P	N	N	
6	6	P	N	N	
6	8	N	N		
6	9	P	n	N	
6	10	P	N		
6	11	P	n	N	
6	12	P	N		
7	1	N	P		N
7	2	N	P		N
7	3	P	P	N	P
7	4	P	N	P	
7	5	N	P		N
7	6	P	P	N	N
7	7	P	N	P	
7	8	P	N	N	
7	9	N	N		
7	10	N	N		
7	11	N	N		
8	1	P	N	P	
8	2	N	N		
8	3	P	N	N	
8	4	P	N	P	
8	5	N	N		
8	6	P	N	N	
8	7	N	N		
8	8	N	N		
8	9	N	N		
9	1	P	N	N	
9	3	P	P	N	N
9	4	P	N	P	
9	5	P	N		
9	7	P	N		
9	9	P	P	N	N
10	1	N	n		
10	2	N	n		
10	3	N	N		
10	4	N	N		
10	5	N	N		
10	6	N	N		
10	7	N	N		
10	8	N	n		
10	9	N	n		

Paciente	Amostra	HHV6C	HHV7C	HHV6P	HHV7P
10	10	N	n		
10	11	N	N		
11	1	N	P		N
11	3	N	N		
11	5	N	N		
11	7	N	P		N
11	9	N	P		N
12	1	P	N	N	
12	2	P	P	N	N
12	4	P	N		
12	6	N	P		N
12	7	P	N	P	
12	8	P	N	N	
12	10	P	N	N	
12	11	P	N	N	
12	12	P	N	N	
13	1	N	N		
13	2	N	N		
13	3	N	N		
13	4	N	N		
13	5	P	N	P	
13	6	N	N		
13	7	N	N		
14	1	P	N	N	
14	3	N	P		P
14	4	N	N		
14	5	P	P	N	N
14	6	P	N	P	
14	7	P	N	N	
14	8	N	N		
14	9	N	P		N
14	10	N	P		N
14	11	N	P		N
15	1	P	N		
15	3	N	N		
15	5	N	N		
15	6	N	N		
15	7	P	N	P	
15	8	N	N		
15	9	N	N		
15	10	P	N	P	
15	12	N	N		
16	1	P	N	N	
16	2	P	P	N	N
16	3	P	P	N	N
16	4	P	P	N	N
16	5	P	N		

Paciente	Amostra	HHV6C	HHV7C	HHV6P	HHV7P
16	6	P	P	N	N
16	7	P	N		
16	8	P	P	n	n
16	10	N	P		
16	12	N	P		
17	1	P	N	N	
17	2	P	N	N	
17	3	P	N	N	
17	4	P	N	P	
17	5	N	N		
17	7	P	N	N	
17	9	N	N		
17	11	P	N	N	
18	1	P	P	N	N
18	2	N	N		
18	3	P	P	N	N
18	4	P	P	N	N
18	5	N	N		
18	6	N	N		
18	7	N	N		
18	8	N	N		
18	9	P	N	N	
18	10	P	N	N	
18	11	N	N		
18	12	P	P	N	N
19	1	P	P	N	N
19	2	P	P	N	N
19	4	P	N		
19	6	P	N	P	
19	7	N	P		N
19	8	N	N		
19	9	N	N		
19	11	N	N		
19	12	P	N	N	
20	1	P	N		
20	2	P	P	N	N
20	3	P	P	N	N

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)