POLLYANE SOUSA GOMES

"ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO CAUSADA PELO HERPESVÍRUS HUMANO 8 APÓS O TRANSPLANTE RENAL"

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

SÃO PAULO

2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

POLLYANE SOUSA GOMES

"ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO CAUSADA PELO HERPESVÍRUS HUMANO 8 APÓS O TRANSPLANTE RENAL"

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando Aranha Camargo

Coordenador do Curso de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo Sobhie Diaz

Gomes, Pollyane Sousa
Aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção causada pelo herpes vírus humano 8 após o transplante renal. / Gomes, Pollyane Sousa. – São Paulo, 2009, xxii,157 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina.
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias. São Paulo, 2009.
Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias
Titulo em inglês: "Clinical and epidemiological aspects of the infection caused by human herpesvirus 8 after renal transplantation"

1. Herpesvírus Humano 8, 2. Transplante Renal, 3. Receptores de transplante, 4. Soroconversão, 5. Infecção Aguda, 6. Diagnóstico

POLLYANE SOUSA GOMES

“ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO CAUSADA PELO HERPESVÍRUS HUMANO 8 APÓS O TRANSPLANTE RENAL”

Presidente da banca: Prof. Dr. Luís Fernando Aranha Camargo

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Osmar Medina de Abreu Pestana (Titular)

Prof. Dr. Celso Francisco Hernandes Granato (Titular)

Profa. Dra. Luci Corrêa (Titular)

Dra. Paula Goulart Pinheiro Machado (Titular)

Profa. Dra. Ligia Camera Pierrotti (Suplente)

Prof. Dr. Edson Abdala (Suplente)

Aprovada em: ___/___/___

DEDICATÓRIA

A VIDA

A vida é o maior presente que recebemos...
Que se faz rosa, quando aberta...
Que se faz caminho, quando encontrada...
Que se faz dia quando iluminada...
Que se faz trevas, quando difícil.

Nunca te percas em tentações,
Por estradas mais fáceis,
Porque as mais difíceis,
Quando finalizadas,
São as mais compensatórias.

Se quiseres encontrar o teu lugar,
Ajuda os que te imploram ajuda,
Ama os que te pedem em aflição,
Enriquece os que são humildes e pedem piedade,
E faz de ti
Quem querias encontrar.

(C.B.R.)

Aos meus amados pais Joaquim Pereira de Sousa Neto, Maria das Dores Gomes Sousa e a minha irmã Fabiana Gomes Sousa, que são meus maiores exemplos.

Ao Meu Filho Gabriel (5 anos),

Que se privou de momentos lindos ao meu lado.
Com sua doçura e alegria foi sempre a força
que me levou encarar momentos difíceis com ânimo e entusiasmo.
Seu exemplo de inocência e desconhecimento das dificuldades da vida
me levou a buscar sempre um mundo melhor
para todos que estão nesta situação de sofrimento e desesperança.
Que esta luz que dele irradia
possa trazer também claridade
ao mundo da ciência.

Ao Alessandro Rosa Rodrigues Chagas

Pela renúncia de minha presença,
pelo incentivo aos meus ideais,
pelo encorajamento nas horas de dúvidas,
pela compreensão das minhas aflições
e pela constante participação em minha luta, a reafirmação do meu amor
e que este momento (ou conquista) é nosso.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luís Fernando Aranha Camargo, por sua sabedoria, grandeza e amizade me mostrando a trabalhar com dedicação, respeito e competência. Sua orientação constante, entusiasmo e encorajamento me proporcionando a oportunidade de melhorar dia a dia.

Ao Prof. Dr. Celso Francisco H. Granato, que com interesse, presteza e inestimável competência de um mestre, sempre me auxiliou.

Ao Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana, pelo exemplo profissional, de perseverança e pela oportunidade de me iniciar nos conhecimentos na área do transplante.

A Dra. Vanda Akiko Ueda Fick de Souza e ao Prof. Dr. Cláudio Pannuti do Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo pela realização de todas as sorologias e pelas excelentes sugestões para a realização do trabalho.

Ao Laboratório de Virologia da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNIFESP, principalmente à Sandra Baltazar Guatura, Aripuanã Watanabe e Dr. Celso Francisco Hernandes Granato, pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao Laboratório do Hospital do Rim e Hipertensão, principalmente a Dra. Silvia Moreira, Maria Alice e a todos funcionários pela colaboração na coleta de todas as amostras dos pacientes que entraram neste trabalho.

Aos médicos e grandes amigos das enfermarias do Hospital do Rim e Hipertensão, Dr. Riberto Silva, Dra. Paula Goulart, Dra. Liz Milstein, Dr. Paul Clesca e aos funcionários que fazem parte deste hospital, por todo carinho e colaboração.

A minha grande amiga Fabiana Stanzani que é um exemplo de dedicação, bom humor, disponibilidade, educação e competência profissional e devido a isto, perdeu vários momentos de diversão para poder me ajudar na correção desta tese.

A minha amiga Sílvia Caruso pelo companheirismo e incentivo em momentos difíceis.

Aos meus queridos amigos, cujo exemplo e convivência no local de trabalho ajudam a transformar a complexidade em simplicidade: Dra. Maria Lúcia, Dra. Alexandra e Dr. Hélio – nefrologia, Claudinha - protocolo, Dr. Mário e Dr. Ronaldo – urologia, Dr. Laércio e Dr. Alexandre - gastrocirurgia, Dr. Valter e Dr. Fábio - cardiologia, Dr. José Pedro - hematologia, Dr. Sussume - cirurgia vascular, Dr. Marcelo Franco - patologia, Dr. Paulo e Dra. Luciana - nefropediatria.

Ao Sung In Park e Kelly Harada pela realização da análise estatística dos dados, sempre acompanhado de paciência e tranqüilidade.

A minha querida Vânia Fonseca, por sempre ter um sorriso e uma palavra de aconchego nos momentos mais difíceis.

Ao Hospital do Rim e Hipertensão - FOR pela concessão da realização deste trabalho.

À equipe do ambulatório que é um exemplo de eficiência no atendimento aos pacientes e na paciência de sempre atender as minhas solicitações.

A todos os pacientes e seus doadores que aceitaram minha participação em suas vidas permitindo que eu os conhecesse, sabendo um pouco mais de suas alegrias, tristezas, vitórias e angústias, sendo desta maneira por um período valioso que será, certamente, inesquecível.

Aos meus pais, Joaquim e Dorinha por todo apoio, paciência, carinho e amor, sempre me ensinando a caminhar com garra e dedicação.

A minha irmã Fabiana, que tanto me ajudou na realização deste trabalho.

Ao meu esposo Alessandro, por compartilhar momentos alegres e difíceis, sempre me mostrando um melhor caminho a seguir.

Ao meu querido e doce filho Gabriel que me ensinou a amar como nunca.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATG: Globulina anti-timócito
AZT: Azatioprina
BC-1: Linhagem celular de fluido ascítico humano duplamente infectada pelo EBV e HHV-8
BC-2: Linhagem celular de fluido ascítico humano duplamente infectada pelo EBV e HHV-8
BC-3: Linhagem celular de fluido ascítico humano duplamente infectada pelo HHV-8
BCBL: Linhagens celulares obtidas de linfomas de células B com efusão em cavidades, latentemente infectadas pelo HHV-8
bp: Pares de bases nitrogenadas
CDC: "Center for Diseases Control and Prevention", Atlanta, EUA
CMV: Citomegalovírus
CSA: Ciclosporina
"CUT OFF": Limiar de positividade
DM: Diabetes mellitus
DNA: Ácido desoxirribonucleico
DO: Densidade óptica
DP: Diálise peritoneal
DST: Doença Sexualmente Transmissível
EBV: Vírus Epstein-Barr
EHV-1 e EHV-2: Herpesvírus equino tipos 1 e 2.
ELISA: Ensaio imunoenzimático
FK: Tacrolimus
HAS: Hipertensão arterial sistêmica
HBV: Vírus da hepatite B
HCV: Vírus da hepatite C
HD: Hemodiálise
HHV-6: Herpesvírus humano 6
HHV-7: Herpesvírus humano 7
HHV-8: Herpesvírus humano 8
HIV: Vírus da imunodeficiência humana
HLA: Antígenos de leucócitos humanos
HPV: Papilomavírus humano
HSH: Homens que fazem sexo com homem
HSV: Herpesvírus simples

HVS: Herpesvírus saimiri

IB: Ensaio de "imunoblotting"

ICC: Insuficiência cardíaca congestiva

IFA: Reação de imunofluorescência indireta

IFA-LANA: Reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos dirigidos a antígenos da fase latente viral

IFA-LÍTICO: Reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos dirigidos a antígenos da fase lítica viral

IgG: Imunoglobulina humana da classe IgG

IRC: Insuficiência renal crônica

ITU: Infecção do trato urinário

Kb: Kilo pares de bases nitrogenadas

KDa: Kilo Dalton

KSHV: Herpesvírus humano associado ao Sarcoma de Kaposi

MCD: Doença Multicêntrica de Castleman

MHC: Principal complexo de histocompatibilidade

MIFA: Ensaio de imunofluorescência com anticorpo monoclonal

MMF: Micofenolato mofetil

OKT3: Anticorpo monoclonal murino anti- CD3

ORF: ("Open Reading Frame") seqüências abertas de leitura

p: nível de significância estatística

PBMC: ("Peripheral Blood Mononuclear Cells") células mononucleares do sangue periférico

PEL: "Primary Effusion Lymphoma" - linfoma de efusão em cavidades

PCR: Reação em cadeia da polimerase

PNA: Pielonefrite

PTLD: Doença linfoproliferativa pós-transplante

PRED: Prednisona

SK: Sarcoma de Kaposi

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

TPA: "Tetradecanoyl Phorbol Ester Acetate"

TRS: Terapia renal substitutiva

UDEV: Usuário de drogas endovenosas

v-Bcl-2: Proteína viral semelhante a do linfoma de célula B-2

v-FLIP: Proteína viral inibitória da FLICE

v-GPCR: Receptor acoplado a proteína G viral

vIL-6: Interleucina 6 viral

v-IRF-1,3: Fator viral regulador do interferon

v-ICAM: Molécula de adesão viral

v-MIP- I, II, III: Proteínas virais inflamatórias semelhantes às de macrófagos tipos I, II e III

v-p23: Proteína do capsídeo viral de 23 Kilo Dalton

VZV: Vírus varicela-zoster

SUMÁRIO

	Pág.
Agradecimentos	viii
Lista de abreviaturas	x
Lista de quadros e tabelas	xvi
Lista de figuras	xviii
Resumo	xix
Summary	xxi
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	**1**
1.1. Histórico	1
1.2. Classificação e Biologia	2
a. Características Biológicas do HHV-8	2
b. Estrutura Genômica do HHV-8	6
c. HHV-8 e Genes Homólogos às Células do Hospedeiro	7
d. Subtipos do HHV-8	10
1.3. Patogênese	10
a. Infecção Latente pelo HHV-8	10
b. Infecção Lítica pelo HHV-8 (replicação)	11
c. Locais de persistência do HHV-8 em humanos	11
1.4. Epidemiologia e modo de transmissão	12
a. Transmissão	12
b. Soroepidemiologia do HHV-8	16
1.5. Manifestações clínicas	19
1.5.1. HHV-8 Associado a Doenças Linfoproliferativas	19
1.5.1.a. Sarcoma de Kaposi	19
1.5.1.b. Doença Multicêntrica de Castleman (MCD)	20
1.5.1.c. PEL (Primary Effusion Lymphoma) ou BCBL ("Body Cavity Based Lymphoma"-BCBL)	21
1.5.1.d. Neoplasia Linfóide	21
1.5.1.e. Mieloma Múltiplo	22
1.5.1.f. Angiossarcoma	22
1.5.2. Infecção pelo HHV-8 e Associada a Doenças Não Neoplásicas	22
1.5.2.a. Sarcoidose	22
1.5.2.b Hipertensão Pulmonar Pimária	23
1.5.2.c Infecção pimária pelo HHV-8	23
1.6. Diagnóstico	24
a. Sorologias	24
A) Imunofluorescência Indireta para Detecção de Anticorpos Contra Antígenos de Fase Lítica Viral (IFI-Lítico)	25
B) Imunofluorescência Indireta Para Detecção de Anticorpos Contra a Antígenos de Fase Latente Viral (IFI-LANA)	26
C) ELISA (Enzime – Linked Immunosorbent Assay) ORF 65	26
D) Outros	26
b. Detecção Molecular do HHV-8	26

2. JUSTIFICATIVA **29**
3. OBJETIVOS **30**
4. MATERIAL E MÉTODO **31**
4.1. Local do estudo **31**
4.2. População do estudo **31**
4.3. Delineamento do estudo **32**
4.4. Acompanhamento dos pacientes **32**
a. Primeira Fase **32**
b. Segunda Fase **33**
4.5. Metodologia Laboratorial **33**
4.5.1. Local de Realização dos Exames Diagnósticos **33**
4.5.2. Cronologia de Coleta de Amostras **33**
4.5.3. Processamento de Amostras **34**
a. Testes Sorológicos Para o Diagnóstico da Infecção Pelo HHV-8 ..... **34**
a.1. Reação de Imunofluorescência Indireta **34**
a.2. Reação Imunoenzimática **38**
b. Reação em Cadeia Polimerase (PCR) **40**
b.1. Extração kit QIAGEN Manual **40**
b.2. Amplificação **40**
b.3. Detecção **41**
4.6. Rotinas do serviço **41**
4.6.1. Profilaxia de doença oportunista **41**
4.6.2. Terapia Imunossupressora **41**
4.6.3. Mudança de Imunossupressão **42**
4.7. Definições dos dados coletados **43**
4.7.1. Critérios para definição de doença primária pelo HHV-8 e sua reativação **43**
4.7.2. Dados demográficos **43**
4.7.3. Episódios de Rejeição **43**
4.7.4. Hemodiálise e transfusão após o transplante **45**
4.7.5. Avaliações laboratoriais **45**
4.7.6. Infecções **45**
4.7.7. Neoplasias **49**
4.7.8. Perda do enxerto **49**
4.7.9. Perda de seguimento **49**
4.7.10. Perda do paciente **49**
4.8. Análise Estatística **49**
5. RESULTADOS **51**
5.1. Características da amostra estudada **51**
5.2. Etiologia da insuficiência renal **52**
5.3. Prevalência da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal **53**
5.3.1. Prevalência da Infecção pelo HHV-8 entre Doadores e Receptores associada à diversas variáveis **53**
5.4. Prevalência da infecção primária pelo HHV-8 após o transplante renal (soroconversão) **64**
5.4.1. Avaliação demográfica e de fatores de risco nos pacientes que soroconverteram **65**

5.5. Avaliação global de todos pacientes receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8 pré e pós o transplante **72**
5.5.1. Análise laboratorial do hemograma completo e também da creatinina nos pacientes soropositivos e negativos para HHV-8 após o transplante renal **79**
5.6. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 ..... **82**
5.6.1. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal **82**
5.6.2. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 após o transplante renal **84**
5.6.3. Desempenho do método de PCR para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 ..... **85**
5.6.3.a. Controle externo das amostras de PCR dizer que foi usado um controle externo **87**
6. DISCUSSÃO DO DOUTORADO 88
a. Soroprevalência da infecção pelo HHV-8 nos receptores de transplante renal **90**
b. Soroconversão da infecção pelo HHV-8 nos receptores de transplante renal **91**
c. Infecção Primária pelo HHV-8 ..... **94**
d. Fatores de risco para HHV-8 ..... **99**
e. HHV-8 e SK …… **105**
f. HHV-8 e idade **108**
g. HHV-8 e outras infecções **109**
h. HHV-8 e imunossupressão **109**
i. Sobrevida do enxerto e do paciente em relação ao HHV-8 ..... **112**
j. HHV-8 e alterações hematológicas **113**
k. HHV-8 e sorologias **114**
l. HHV-8 e PCR .....;..... **119**
7. CONCLUSÕES 122
8. ANEXOS 123
ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO **124**
ANEXO II - FICHA CLÍNICA DOS PACIENTES **125**
ANEXO III – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA **130**
9. REFERÊNCIAS 132

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Pág.

Quadro 1- Alguns genes do HHV-8 semelhantes aos genes presentes em outros vírus e no DNA humano: proteínas codificadas e propriedades funcionais **9**

Quadro 2: Proteínas imunogênicas do HHV-8 e os respectivos segmentos do genoma viral **25**

Tabela 1. Presença do HHV-8 em tecidos e fluidos corporais nas populações de alto, médio e baixo risco para infecção causada pelo HHV-8 .....;..... **12**

Tabela 2. Prevalência de anticorpos anti-HHV-8 em doadores e receptores antes do transplante renal **53**

Tabela 3. Prevalência da infecção pelo HHV-8 na amostra estudada de receptores de transplante renal de acordo com a variabilidade da idade sendo realizada pelo teste t de Student **54**

Tabela 4. Análise das variáveis estudadas no grupo de receptores de transplante renal conforme a presença ou ausência da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal **55**

Tabela 5. Imunossupressão inicial nos receptores de transplante renais infectados e não infectados pelo HHV-8 ..... **57**

Tabela 6. Análise da presença das infecções virais em cada grupo de HHV-8 ..... **58**

Tabela 7. Análise da freqüência da presença das infecções gerais em cada grupo de HHV-8 ..... **60**

Tabela 8. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções fúngicas em cada grupo de HHV-8 ..... **61**

Tabela 9. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções endêmicas em cada grupo de HHV-8 ..... **61**

Tabela 10. Análise da freqüência de febre de origem indeterminada em cada grupo de HHV-8 e seu diagnóstico final **62**

Tabela 11. Avaliação de rejeição aguda nos pacientes soropositivos para HHV-8 pré-transplante **63**

Tabela 12. HHV8 pré-transplante e perda do enxerto e óbito após transplante renal **63**

Tabela 13. HHV8 pré-transplante e neoplasia após transplante renal **64**

Tabela 14. Soroprevalência pelo HHV-8 em 200 receptores antes e após o transplante renal **64**

Tabela 15. Tempo de soroconversão após o transplante **65**

Tabela 16. Análise das variáveis estudadas no grupo de receptores de transplante renal que soroconverteram após o transplante renal **66**

Tabela 17. Imunossupressão inicial e HHV8 pós-transplante **69**

Tabela 18. Avaliação clínica e evolutiva dos pacientes que soroconverteram **74**

Tabela 19. Avaliação de rejeição aguda, perda do enxerto, óbito e neoplasia nos pacientes que soroconverteram para HHV-8 após o transplante renal **71**

Tabela 20. Dados comparativos entre 44 pacientes receptores soropositivos (pré-transplante e também, os que soroconverteram) para HHV-8 versus os 156 pacientes que permaneceram com sorologia negativa após o transplante renal **72**
Tabela 21. Imunossupressão inicial nos receptores de transplante renais infectados e não infectados pelo HHV-8 ..... **74**
Tabela 22. Avaliação de rejeição aguda, perda do enxerto, óbito e neoplasia nos pacientes infectados e não infectados pelo HHV-8 após o transplante renal **75**
Tabela 23. Pacientes soropositivos para HHV-8 e neoplasia após transplante renal **76**
Tabela 24. Infecções após o transplante renal nos receptores infectados e não infectados pelo HHV-8 ..... **76**
Tabela 25. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções gerais em cada grupo de HHV-8 ..... **78**
Tabela 26. Análise global dos resultados obtidos com os ensaios de IFA-LÍTICO, IFA-LANA e ELISA-LÍTICO para a pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em população de pacientes doadores e receptores antes do transplante renal **82**
Tabela 27. Acompanhamento dos receptores que possuíam doador soropositivo antes do transplante **84**
Tabela 28. Análise global dos resultados obtidos com os ensaios de IFA-LÍTICO, IFA-LANA e ELISA-LÍTICO para a pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em população de pacientes receptores após o transplante renal **85**
Tabela 29. Análise PCR nos doadores Soropositivos para HHV-8 e seus Receptores Relacionados **86**
Tabela 30. Análise do PCR nos pacientes que soroconverteram para HHV-8 após o transplante renal **87**

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1A. Partículas virais imaturas de HHV-8 no núcleo das células BCBL infectadas **2**

Figura 1B. Partículas virais maduras (vírion) de HHV-8 em vesículas no citoplasma **2**

Figura 2. Árvore filogenética dos herpesvírus conhecidos. O HHV-8 aparece com a designação KSHV (herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi) **3**

Figura 3A. Genoma do HHV-8 na forma linear **5**

Figura 3B. Genoma do HHV-8 na forma epissomal **5**

Figura 4. Representação esquemática simplificada do genoma do HHV-8 na sua forma linear **7**

Figura 5. Reação de imunofluorescência positiva para anticorpos contra antígenos da fase do HHV-8 em células BCBL-1 tratadas com TPA **36**

Figura 6. Reação de imunofluorescência positiva para anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) do HHV-8 em células BCBL-1 ..... **37**

Figura 7. Reação de imunofluorescência negativa para anticorpos contra o HHV-8 em células BCBL-1 ..... **37**

Figura 8. Reação inespecífica em células BCBL-1 ..... **38**

Figura 9. Diagnósticos que motivaram o transplante renal **52**

Figura 10. Nível sanguíneo de hemoglobina após transplante renal **79**

Figura 11. Nível sanguíneo de hematócrito após transplante renal **80**

Figura 12. Nível sanguíneo de leucócitos após transplante renal **80**

Figura 13. Nível sanguíneo de plaquetas após transplante renal **81**

Figura 14. Nível sérico de creatinina após transplante renal **81**

Figura 15. Número de amostras soropositivas ao HHV-8 nos pacientes receptores de transplante renal de acordo com os testes sorológicos utilizados **83**

Figura 16. Número de amostras soropositivas ao HHV-8 nos pacientes doadores de transplante renal de acordo com os testes sorológicos utilizados **83**

Figura 17. Dados Gerais de HHV-8 no Brasil de acordo com diversos estudos sorológicos .. **89**

RESUMO

GOMES, P. S. ***Aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção causada pelo herpesvírus humano 8 após o transplante renal.*** São Paulo, 2009. 157p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina.

O sarcoma de Kaposi (KS) é um tumor vascular que pode se desenvolver em receptores de transplante de órgãos sólidos sendo resultado de uma infecção primária ou reativação de um gamaherpesvírus, o herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi, também conhecido como Herpesvírus humano 8 (HHV-8).

Os objetivos deste estudo são avaliar os aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção pelo HHV-8 em receptores de transplante renal, investigar os possíveis fatores de risco associados à infecção primária pelo HHV-8 nesta população estudada e comparar três métodos sorológicos (imunofluorescência indireta para detectar anticorpos contra antígenos nuclear latente [LANA], imunofluorescência indireta para detectar anticorpos contra antígenos da fase lítica [LÍTICO], técnica imunoenzimática para detectar anticorpos contra antígeno recombinante do capsídeo viral-ORF 65 [ELISA-LÍTICO]) e um método molecular para a detecção do HHV-8. O estudo foi realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina. Este hospital realiza uma média de um transplante renal por dia, sendo atualmente o maior centro mundial em número de transplantes realizados. Em 70% dos casos, o transplante ocorre com doador vivo relacionado.

Todos os receptores soropositivos para HHV-8 previamente ao transplante e também, os receptores soronegativos, mas que possuíam doadores soropositivos para HHV-8, foram seguidos mensalmente. Os receptores soronegativos com doadores soronegativos foram avaliados no terceiro e sexto mês após o transplante para avaliar a ocorrência ou não da infecção primária causada pelo HHV-8, e seus aspectos clínico-epidemiológicos.

A taxa de infecção primária encontrada no Hospital do Rim e Hipertensão – Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina foi de 6,58%. Apenas um dos receptores que soroconverteu apresentava doador soropositivo no pré-transplante. A maioria dos pacientes soroconverteu dentro dos três primeiros meses após o transplante. A infecção primária causada pelo HHV-8 se mostrou com um quadro benigno e oligossintomático. Apenas um paciente deste estudo, durante o momento da soroconversão, apresentou rash cutâneo maculopapular difuso durando em torno de uma semana, com regressão espontânea, sem nenhum outro sinal e

sintoma associado. Nenhum paciente do estudo desenvolveu SK no período de dois anos de seguimento.

Pela análise univariada, nenhum dos fatores de risco analisados foi associado com soropositividade entre receptores de transplante (modalidade de diálises, uso de drogas ilícitas, doenças sexualmente transmissíveis, hepatites B e C, transfusões sangüíneas prévias). Somente a faixa etária dos receptores de transplante renal associada à prevalência do HHV-8 antes do transplante renal, foi encontrada uma positividade (p=0,023), pois o vírus é mais freqüente em uma faixa etária mais avançada, sendo a média de idade destes pacientes de 44,41 anos. Esta significância estatística não se manteve quando analisados os 44 receptores soropositivos (pré e pós o transplante).

A soropositividade para HHV-8 não foi associada a aumento na freqüência de infecções, rejeição aguda, perda do enxerto e óbito após o transplante renal quando comparada com pacientes soronegativos. Houve uma tendência marginal ao aumento na freqüência de neoplasias após transplante entre os soropositivos (p=0,072).

O método sorológico que apresentou melhor desempenho para o diagnóstico de infecção pelo HHV-8 foi o IFA-LÍTICO, identificando 83,34% das amostras soropositivas ao HHV-8 e nos pacientes que soroconverteram foi encontrada em 100% das amostras. A PCR não se mostrou um bom método diagnóstico nesta infecção, pois só foi positiva em 0,7% das amostras estudadas.

SUMMARY

GOMES, P. S. ***Clinical and epidemiological aspects of the infection caused by human herpesvirus 8 after renal transplantation".*** São Paulo, 2009. 157p. Dissertation (Doctorate) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina.

The Kaposi sarcoma (KS) is a vascular tumor that can develop in recipients of solid tissue transplants as a result of either primary infection or reactivation of a gammaherpesvirus, the Kaposi sarcoma associated herpesvirus, also known as human herpesvírus-8 (HHV-8).

The objectives of this study are to evaluate the serum conversion of infection by HHV-8 in renal transplant recipients, to investigate the potential risk factors associated to the primary infection by HHV-8 in the studied population e to compare three serological methods (indirect immunofluorescence for the detection of antibodies against latency-associated nuclear antigen [LANA], indirect immunofluorescence for the detection of antibodies against lytic phase antigen [LÍTICO], immunoenzymatic technique for the detection of antibodies against recombinant viral capsid antigen-ORF 65 [ELISA-LÍTICO]) and PCR for the detection of HHV-8. The study was conducted at *Hospital do Rim e Hipertensão* of *Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina*. Such hospital performs on average one renal transplant a day, being now the world's largest site in number of transplants performed. In 70% of the cases the transplant is performed with a living related donor.

The serum conversion rate found at *Hospital do Rim e Hipertensão – Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina* was 6.58%. Only one of the recipients presenting serum conversion had a serum positive donor on pre-transplantation. Most patients presented serum conversion within the first three months after transplantation. Compared to the rate found by other countries, such as 12% in Switzerland, 8.6 to 9.39% in Italy and 2.09% in France, also performed in renal transplant recipients, it was considered intermediary.

The primary infection caused by HHV-8 was shown with a benign and oligosymptomatic status. The patient of this study during serum conversion, presented only diffuse maculopapular rash lasting around one week, with spontaneous regression, without any other associated sign and symptom, and no patient developed SK during the two-year follow up period.

According to the single variable analysis, none of the risk factors analyzed was associated to seropositivity among transplant recipients (type of dialyses, use of illegal drugs, sexually transmitted diseases, hepatitis B and C, previous blood transfusions). Positivity (p=0,023) was found exclusively at the age range of the renal transplant recipients associated to the prevalence of HHV-8 before the renal transplant, because the virus is more frequent in an advanced age range, being the average age equal to 44.41 years. Such statistical significance was not maintained when the 44 seropositive recipients were analyzed (pre- and post-transplant). Upon use of the immunosuppressive agent Daclizumab there was a statistical significance (p=0.026), in the analysis of seropositive patients (pre- and post-transplant) for HHV-8 as compared to the seronegative ones.

Regarding the evaluation of acute rejection, graft loss and death among patients infected and not infected by HHV-8 after renal transplantation, there was no statistical significance. Upon the analysis of post-transplant neoplasm of patients seropositive for HHV-8 the trend towards significance was shown (p=0.072).

The association of the infection caused by HHV-8 in pre- and post-transplant related to other bacterial, viral, fungal and endemic infections, there was no statistical significance.

The only serological method presenting the best performance for the diagnosis of infection by HHV-8 was IFA-LÍTICO, identifying 83.34% of the HHV-8 seropositive samples. Considering two diagnostic tests, the combination of IFA-LÍTICO and ELISA-LÍTICO was the one presenting the best performance, identifying 100% of the seropositive samples. The PCR was not a good diagnostic method for this infection, because it was positive in only 0.7% of the studied samples.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Histórico

O Sarcoma de Kaposi (SK), inicialmente descrito por Moritz Kaposi em 1872[1], é uma neoplasia de linhagem mesenquimal, caracterizada pelas células endoteliais fusiformes ("spindle cells") e classificada do ponto de vista epidemiológico em quatro formas: epidêmica, associada à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS); endêmica, ocorrendo na África do Sul; clássica, acometendo homens idosos provenientes do Mediterrâneo; e a forma iatrogênica, relacionada ao uso de terapia imunossupressora[2].

O Herpesvírus humano tipo 8 é um herpesvírus que foi, recentemente, descrito e sua associação causal com o SK vem sendo extensamente estudada. Chang et al.[3] foram os primeiros a sugerir uma associação entre Sarcoma de Kaposi e AIDS, baseando-se em dados epidemiológicos. Estes autores identificaram pela primeira vez, em 1994, uma seqüência de DNA viral em amostra de tecido de SK, utilizando técnicas moleculares como a reação em cadeia por polimerase (PCR), a hibridização molecular e o RDA ("representational difference analysis")[3]. Desde esta descoberta inicial, o HHV-8 tem sido encontrado em todas as formas de SK. O novo vírus foi chamado de "Herpesvírus associado ao Sarcoma de Kaposi" (KSHV) ou "Herpesvírus Humano Tipo 8" (HHV-8).

Renne et al.[4] identificaram pela primeira vez, por microscopia eletrônica, o HHV-8 como partícula viral íntegra (vírion), utilizando células da efusão peritoneal de pacientes portadores de linfomas de células B de cavidade e AIDS, latentemente infectadas pelo HHV-8, como mostrados nas figuras 1A e 1B.

As **Figuras 1A e 1B** mostram partículas virais imaturas e maduras livres no núcleo e em vesículas no citoplasma das células infectadas[4].

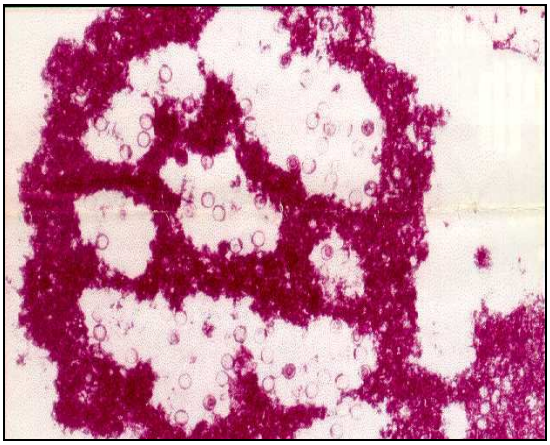


Figura 1A

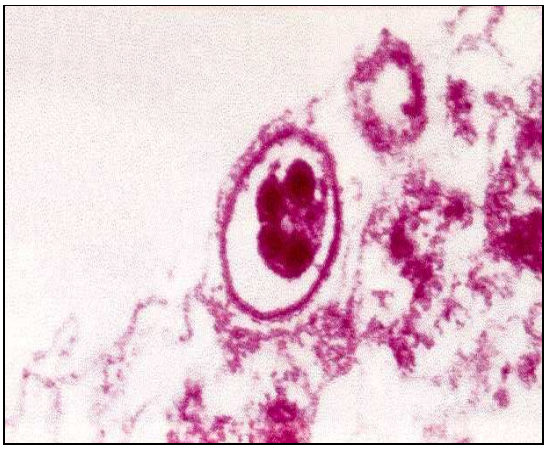


Figura 1B

1.2. Classificação e Biologia

a. Características Biológicas do HHV-8

O HHV-8 é um membro da família *Herpesviridae,* pertencente à subfamília *Gammaherpesviridae*, do gênero *Rhadinovírus,* o primeiro que infecta seres humanos[3,5]. Possui como característica principal a transformação celular e a capacidade de causar lesões tumorais em seus hospedeiros[6]. A figura 2 mostra a árvore filogenética dos herpesvírus conhecidos.

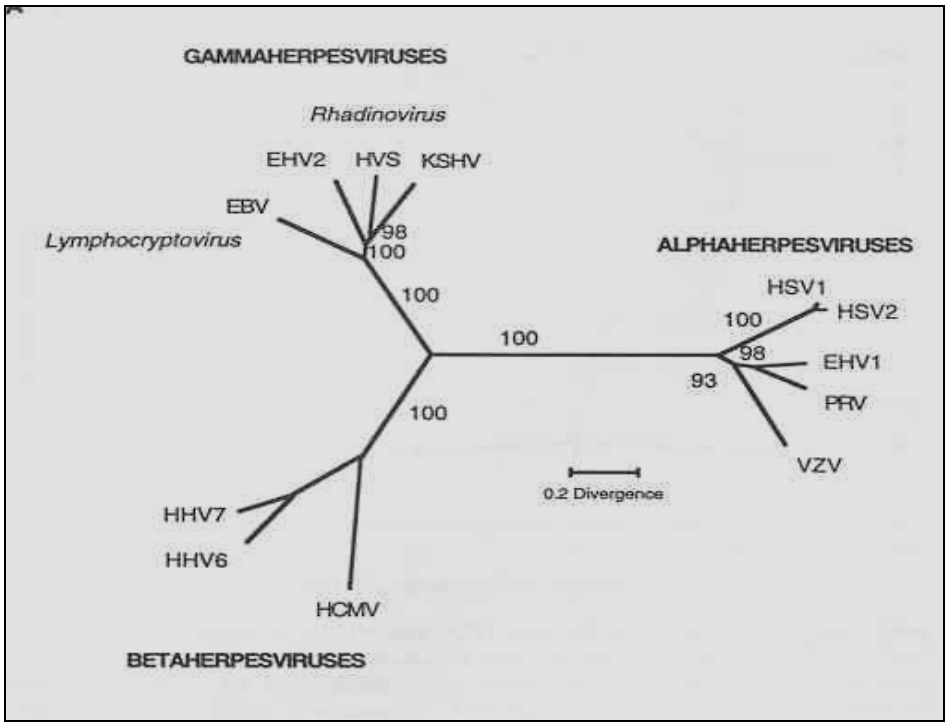


Figura 2. Árvore filogenética dos herpesvírus conhecidos. O HHV-8 aparece com a designação KSHV (herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi)

Adaptado de Moore et al.[5].

O HHV-8 apresenta um nucleocapsídeo hexagonal com estruturas de 100-150 nm de diâmetro, contendo em seu interior uma molécula de ácido nucleico constituído de DNA de fita dupla, que está arranjada de forma linear. O nucleocapsídeo é composto por quatro proteínas estruturais; três delas (ORFs 25, 26 e 62) têm seqüências homólogas às proteínas do capsídeo do alfa e beta herpesvírus, enquanto a ORF 65 falta similaridade.[7] Envolvendo o nucleocapsídeo, encontra-se um material amorfo rico em proteínas denominado tegumento. Na parte externa viral, o envelope lipídico contém as glicoproteínas de superfície[4,8,9,10].

O HHV-8 infecta as células endoteliais e as células em fuso ("spindle cells")[11]. Essas células carregam o DNA viral na forma de um grande epissoma fechado, sendo característica dos herpesvírus latentes[12]. O HHV-8 também infecta as células B CD19+, nas quais o DNA do HHV-8 está presente na forma linear, consistente com o vírus replicante[13,14]. Seqüências do genoma do HHV-8 com forma e tamanho característicos de herpesvírus latentes (grandes, fechados e com epissomas circulantes) e formas

lineares de genomas virais, característicos de formas replicativas, foram reconhecidas em células mononucleares do sangue periférico (PBMC), refletindo a presença de células infectadas latentemente e liticamente pelo vírus em PBMC[12].

As **Figuras 3A**[15] e **3B**[16] abaixo mostram os genes que compõem o genoma do HHV-8 nas suas formas linear (lítica) e circular ou epissomal (latente), segundo Foreman (3A) e Sharp & Boshoff (3B).

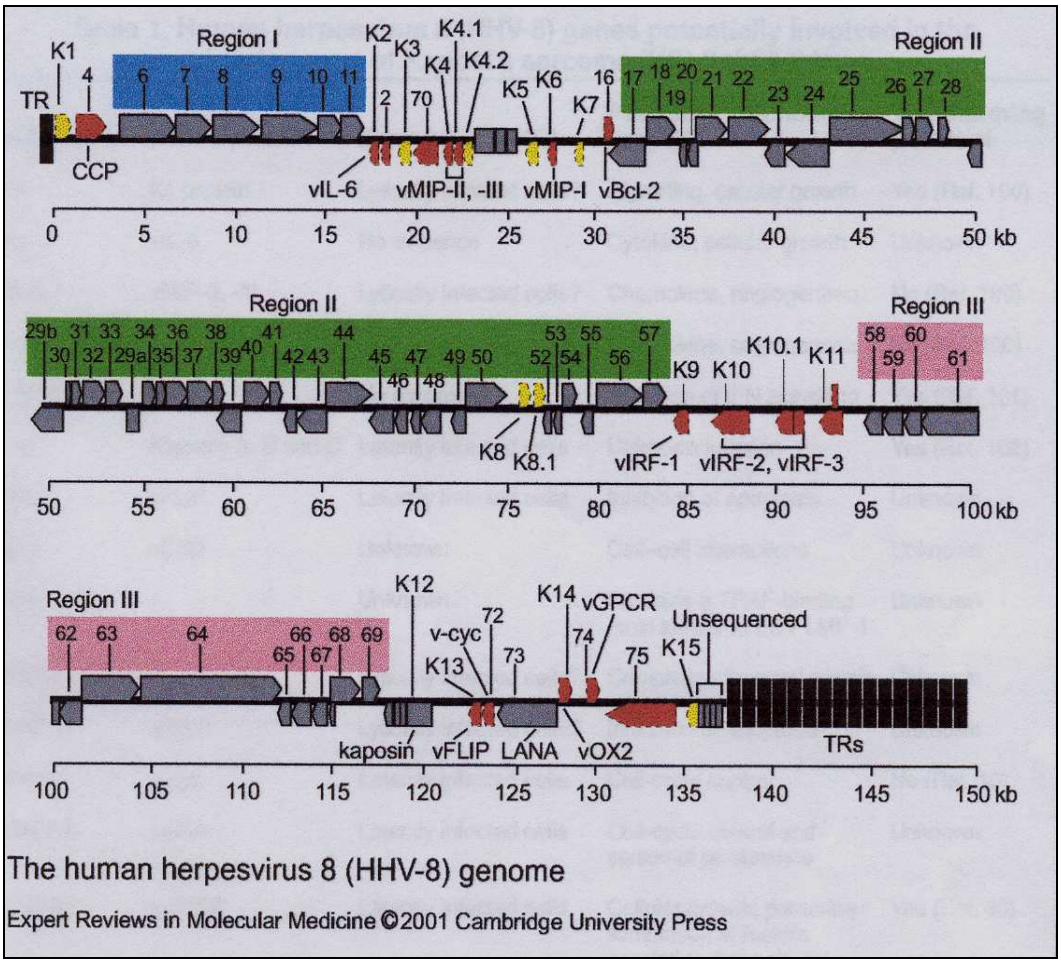


Figura 3A

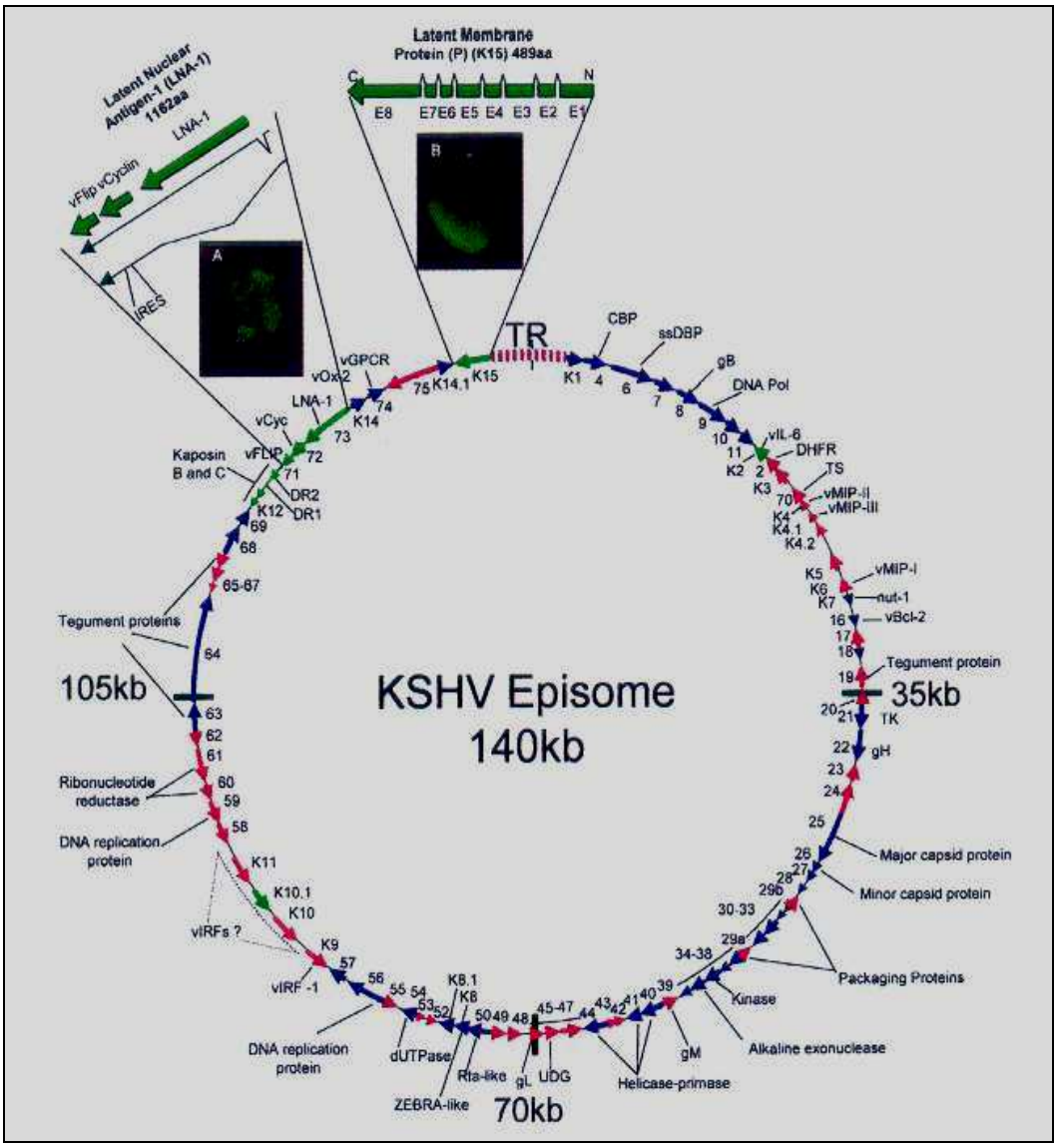


Figura 3B

b. Estrutura Genômica do HHV-8

No capsídeo viral, o DNA do HHV-8 consiste em uma molécula linear e de cadeia dupla. Alguns relatos do tamanho do genoma do HHV-8 têm sido divergentes. Renne et al.[17] relataram cerca de 170 Kb (quilo pares de bases) que codificam aproximadamente 100 proteínas distintas, mas Moore et al.[5] sugeriram um tamanho de 270 Kb. O genoma do HHV-8 consiste de uma região única de cadeia longa com 140 pares de bases que codificam aproximadamente 85 ORFs, incluindo genes homólogos às células[18].

A **Figura 4** mostra uma representação simplificada do genoma HHV-8 em sua forma linear segundo Levy[19].

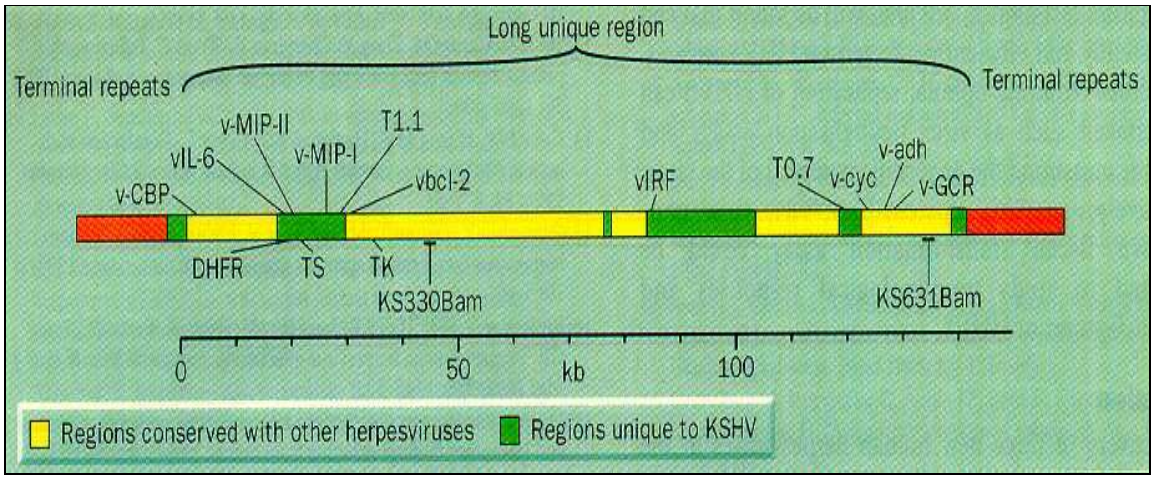


Figura 4

O DNA do HHV-8 se apresenta na forma circular, epissomal durante a infecção latente. Entre os genes virais expressos durante a latência, o LANA está presente no núcleo de quase todas as células infectadas e pode ser considerado como um marcador da infecção pelo HHV-8. Na fase lítica, o genoma passa para a forma linear quando há total atividade viral e expressão de todas as proteínas virais[4], e entre os genes virais expressos, a ORF K8.1 codifica duas glicoproteínas altamente imunogênicas (gp K8.1 A e K8.1B) e as ORFs 26 e 65 codificam as proteínas do capsídeo viral[18,20].

c. HHV-8 e Genes Homólogos às Células do Hospedeiro

O HHV-8 possui genes que são específicos dele sendo que estes são precedidos pela letra K, como descrito por Russo et al.[21] onde identificaram 15 ORFs únicas do HHV-8, designadas com o prefixo K de 1 a 15 (Orf K1, K2, etc) e Neipel et al.[22] identificaram 4 ORFs adicionais únicas ao HHV-8, designadas com valores decimais juntas ao prefixo K (K4.1, K4.2, K8.1, K10.1).

O HHV-8 também possui vários genes que codificam as oncoproteínas que são proteínas homólogas a dos seres humanos interferindo no sistema imune e na regulação do ciclo celular, como: a ciclina D-viral homóloga (v-cyc), fator regulador de interferon (vIRF), homólogo da interleucina 6 (vIL-6), proteínas homólogas às quimiocinas inibidoras de macrófagos (vMIP-I, vMIP-II e vMIP-III), o receptor acoplado da proteína G (vGPCR),

os inibidores de FLICE (vFLIP), o homólogo de Bcl-2 (v Bcl-2) e o gene que suprime o complexo de histocompatibilidade de classe I (MHC)[6,23,24].

No quadro 1 estão relacionados alguns genes do HHV-8 que são semelhantes aos genes presentes em outros vírus e também no DNA humano, assim como as propriedades funcionais das proteínas sintetizadas a partir deles.

Quadro 1- Genes do HHV-8 específicos e outros semelhantes a outros vírus e ao DNA humano, respectivas proteínas codificadas e associações ao desenvolvimento do SK.

Genes do HHV-8	Proteínas Codificadas do HHV-8	Propriedades funcionais
ORF 8	Glicoproteína gB	Facilitação da entrada do vírus na célula
ORF 9	DNA polimerase	Polimerisação do DNA
ORF 16	v-Bcl-2	Inibição da apoptose
ORF 25	Proteína do capsídeo principal	
ORF 26	v-p23, proteína do capsídeo	
ORF 59	Proteína de replicação do DNA	Replicação
ORF 65	Proteína do capsídeo	
ORF 71	v-FLIP	Inibição da apoptose
ORF 72	v-ciclina	Proliferação celular
ORF 73	Proteína da fase latente nuclear (LANA)	Latência viral
ORF 74	v-GPCR	Proliferação celular e angiogênese
ORF K1	Proteína de transmembrana	Proliferação celular e sinalização
ORF K2	vIL-6	Proliferação de plasmócitos
ORF K4	v-MIP-II	Angiogênese
ORF K4.1	v-MIP-III	Indução de Th2
ORF K5	Semelhante a BHV4-IE1	Internalização e endocitose de MHC-1
ORF K6	v-MIP-I	Angiogênese
ORF K7	Proteína de transmembrana	Inibição da apoptose
ORF K8(K8.1/K8.1B)	Glicoproteínas de classe I/II	Fator de transcrição
ORF K9	v-IRF-1	Inibição de interferon
ORF K12	Proteína kaposina	Proteína hidrofóbica
ORF K13	v-FLIP	Inibição da apoptose
ORF K14	v-ICAM	Sinalização intercelular
ORF K15	Proteína de membrana	Sinalização de linfócitos

d. Subtipos do HHV-8

Zong et al. em 1997 [25], propuseram o primeiro sistema de classificação de HHV-8 com identificação de três subtipos virais principais (A, B e C) através das análises de seqüenciamento do HHV-8 das ORFS 26 e 75. Os subtipos A e C foram encontrados nas amostras americanas e nos pacientes com SK clássico, enquanto o subtipo B foi detectado principalmente nas amostras populacionais africanas.

Di Alberti et al.[26], analisaram os segmentos de DNA da ORF 26, onde foram identificados quatro subtipos virais (A, B, C e D). Os subtipos A e D foram detectados em americanos e africanos e os subtipos B e C em amostras do Reino Unido e da Itália.

Baseado na variação da ORF K1 foram encontrados 6 subtipos do HHV-8 (A, B, C, D, E e N). Subtipos A e C predominam na Europa, subtipo B na África e a distribuição dos outros sorotipos estão espalhados na Oceania e América do Sul[27, 28, 29, 30, 31].

No Brasil, Bigar et al.[32], através da análise do seqüenciamento da região ORF K1 encontrou o subtipo E nos ameríndios brasileiros onde a infecção por HHV-8 é endêmica. Caterine et al.[33,34], utilizando-se da ORF 26 detectaram os subtipos B e C na cidade de São Paulo. Moreira[35] encontrou os subtipos A, B, C e um caso do subtipo E em pacientes com SK/ AIDS de São Paulo. Nascimento et al.[36], também encontraram os subtipos A, B, e C em pacientes com SK/ AIDS de São Paulo. Cunha[37], detectou os subtipos A, B, e C em pacientes com SK/ AIDS de Salvador e dos subtipos A e E em população indígena da Amazônia brasileira.

Recentemente Beyari et al.[38], demonstraram através da variação da ORF K1 que o mesmo indivíduo pode ser multiplamente infectado pelo HHV-8, mas não se sabe se o indivíduo carrega dois ou mais vírus, ou vírus com cepas diferentes, ou se é reativação de vírus latente ou superinfecção.

1.3. Patogênese

a. Infecção Latente pelo HHV-8

Existem quatro genes do HHV-8 que são considerados “genes latentes” que são: LANA, K12/kaposin, a ciclina D-viral homóloga (v-cyc) e a proteína inibidora da FLICE viral (vFLIP)[11,12,39,40]. Através da imunohistoquímica, o LANA tem sido encontrado nas células em fuso (“spindle cells”) e também nas células endoteliais atípicas das lesões precoces de SK. Os genomas do HHV-8 nas lesões de SK estão presentes na forma

epissomal, a expressão destes quatro genes virais latentes indica a persistência do HHV-8 nas células neoplásicas na forma latente. Somente um destes genes virais latentes, o K12/kaposin, tem o potencial de codificar a proteína com transformação de propriedades *In vitro*. A função da vFLIP é a inibição da apoptose e a função da ciclina D-viral homóloga (v-cyc) é a proliferação celular através da interação com a ciclina celular quinase (CDK)[41,42,43,44,45]. O LANA é uma proteína da fase latente nuclear e pode estar implicado no papel da replicação extracromossomal dos epissomas virais e sua propagação para as células filhas durante a mitose[46].

b. Infecção Lítica pelo HHV-8 (Replicação)

Apesar da maioria das "spindle cells" do SK conterem o HHV-8 na forma latente, uma minoria pode sofrer replicação viral lítica, como as células mononucleares que aparecem nas lesões do SK. A proporção de células liticamente infectadas em lesões de SK é geralmente menor que 5-10%[39,41,47].

Existem três genes que aparecem precocemente e que podem estar ligados a patogênese, são eles[48,49]: ORF K1, que é uma proteína de transmembrana, a qual pode ativar o imunoreceptor da tirosina quinase causando proliferação celular e sinalização. A ORF 74 (v-GPCR= receptor acoplado a proteína G viral) é responsável pela proliferação celular e também, pela angiogênese através da indução da secreção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e por último, a ORF K9 (v-IRF-1= fator viral regulador do interferon) que faz a inibição do interferon.

As poucas células liticamente infectadas nas lesões de SK expressam as citocinas virais homólogas que são: a v-Bcl-2 (proteína viral semelhante a do linfoma de célula B) responsável pela inibição da apoptose e a vIL-6 (interleucina 6 viral) pelo crescimento celular e também, a inibição da apoptose[40,50,51].

c. Locais de persistência do HHV-8 em humanos

Através de métodos moleculares, vários estudos[52,53,54,55,56,57,58,59] têm investigado a presença do DNA do HHV-8 em diferentes tecidos e fluidos orgânicos de populações com riscos diversos para o SK. Em pacientes portadores de SK, diferenças significantes foram encontradas entre os vários sítios de investigação. A prevalência do HHV-8 foi mais elevada nas lesões características de SK do que, nas amostras de células mononucleares do sangue periférico e foi semelhante à prevalência encontrada na saliva. Estes três sítios foram melhores para detectar a presença do HHV-8 do que no plasma (tabela 1).

Nos pacientes HIV positivos, a saliva e as células mononucleares do sangue periférico foram equivalentes (P=0,539), mas foram significantemente melhor do que as amostras positivas encontradas no plasma (P=0,016 e P=0,031, respectivamente) **(Tabela 1)**.

Análises de pacientes HIV negativos mostraram que a saliva continha mais seqüências virais do que as amostras das células mononucleares do sangue periférico ou do plasma (P=0,001 e P=0,0006, respectivamente) **(Tabela 1)**. Vários estudos[52,54,60,61] têm observado que a presença do DNA do HHV-8 possa ser intermitente. Talvez isto tenha contribuído para a falta de sensibilidade do PCR em detectar a infecção pelo HHV-8.

A tabela abaixo mostra uma compilação de vários trabalhos[52,53,54,55,56,57,58,59,60,61] que investigaram a presença do HHV-8 através de métodos moleculares nos diferentes tecidos e fluidos corporais. O SK, HIV positivo e HIV negativo representam três populações de alto, médio e baixo risco para infecção causada pelo HHV-8, respectivamente. Adaptado de Edelman e col.[24]

Tabela 1. Presença do HHV-8 em tecidos e fluidos corporais nas populações de alto, médio e baixo risco para infecção causada pelo HHV-8. Adaptado de Edelman e col.[24]

	Lesão de SK	Pele Normal	PBMC	Plasma ou Soro	Sêmen	Saliva	Fezes
SK+	63/70(90%)	17/57(30%)	94/188(50%)	33/151(22%)	7/60(12%)	26/71(37%)	0/29
HIV+		0/10	22/268(8,2%)	5/164(3,0%)	4/57(7%)	9/87(10%)	
HIV-		0/1	3/381(0,8%)	0/218	3/168(1,8%)	7/108(6,5%)	

1.4. Epidemiologia e modo de transmissão

a. Transmissão

a.1. Transmissão Vertical

A reativação da infecção pelo HHV-8 pode acontecer durante a gestação, mas há poucos estudos até o momento. O HHV-8 é freqüentemente encontrado nas secreções cervicovaginais de pacientes portadoras de HIV e co-infectadas pelo HHV-8 e também, em mulheres HIV soronegativas que se encontram em áreas de alta endemicidade,

sugerindo que a carga viral do HHV-8 no trato genital feminino possa influenciar na transmissão vertical[62].

Recentemente[63], o DNA do HHV-8 foi encontrado em células mononuleares do sangue periférico de 5 das 15 grávidas que eram portadoras de HIV e HHV-8. A reativação viral nas células mononuleares do sangue periférico foi acompanhada pela detecção do HHV-8 nas secreções cervicovaginal. A infecção pelo HHV-8 não afetou o crescimento intra-uterino e o tempo do parto, mas houve identificação da mesma ORF K1 em mãe e filho confirmando a transmissão do vírus materno.

No Brasil, Caterino-de-Araújo e col.[64] realizaram o primeiro estudo de transmissão vertical de anticorpos dirigidos ao HHV-8, em crianças nascidas de mães infectadas pelo HIV de São Paulo. Mostraram que o HHV-8 estava presente em mulheres cuja categoria de risco para adquirir o HIV foi uso de drogas endovenosas, e que estas não desenvolveram SK provavelmente devido à proteção conferida pelos hormônios femininos produzidos durante o período de gestação[64,65].

a.2. Transmissão através da saliva

A aquisição da infecção pelo HHV-8 é comum em crianças de baixa renda e que vivem em ambientes lotados, em função de precárias condições de higiene e saúde[66]. Os resultados de um recente estudo realizado na Uganda[67], no qual a seqüência da ORF K1 do HHV-8 foi encontrada em mãe e filho onde compartilhavam a mesma cepa viral é consistente com transmissão materna, mas também foi avaliado outro modo de transmissão. Neste país, as crianças freqüentemente eliminam o HHV-8 na saliva, portanto, elas podem ser uma importante fonte de infecção, particularmente para os irmãos mais jovens, para outras crianças, cuidadores, e também para os parentes adultos que possuem contato direto com estas crianças[68]. Também na África, estudos mostram um aumento de soropositividade para o HHV-8 em crianças até a adolescência devido às mães pré-mastigarem a comida para seus filhos decorrente da falta de leite[69,70,71,72].

Recentemente Pauk et al.[56], detectaram o DNA do HHV-8 em 34% das amostras da orofaringe, 0,3% de “swabs” uretrais, 1% de “swabs anais e em 5% de amostras de sêmen de pacientes infectados pelo HHV-8. A concentração de HHV-8 na saliva foi 2 a 3 vezes maior do que nos demais fluidos.

As práticas sexuais em HSH podem estar implicados no aumento do risco de infecção nesta população como o sexo oral prolongado ou contato sexual oro - anal, com lubrificação para o ato sexual pela saliva[73].

a.3. Transmissão sexual

A transmissão sexual é a forma mais comum de transmissão do HHV-8 em adultos imunocompetentes e também, nos países de baixa soroprevalência, apesar da carga viral encontrada na vagina, sêmem e secreções prostáticas serem muito menor do que a carga viral encontrada na saliva[24].

A transmissão através do contato sexual representa um importante papel na disseminação do HHV-8 entre os HSH. Estudos epidemiológicos têm identificado fatores de risco associados ao aumento da soroprevalência e da incidência do HHV-8, como: promiscuidade, soropositividade para HIV, outras DSTs, sexo anal, sexo oral prolongado ("deep kissing"), parceiro sexual com SK[74,75,76,77].

a.4. Transmissão através da transfusão sangüínea

Evidências de transmissibilidade do HHV-8 através da transfusão sangüínea têm sido controverso nos últimos anos.

O primeiro relato foi de Blackbourne em 1997[61]. Trabalhos subseqüentes não foram capazes de mostrar qualquer evidência de transmissão do HHV-8, pois a soroprevalência do HHV-8 em pacientes com AIDS hemofílicos e que fazem uso de drogas endovenosas foi bastante baixa[78,79]. Marcelin et al.[80] registraram baixa prevalência de anticorpos contra HHV-8 (1,4%) entre 74 crianças infectadas pelo HIV por via parenteral, com alta soropositividade para as Hepatites B e C, corroborando a hipótese de baixa transmissão por via sangüínea do HHV-8[74,80,81]. Cannon et al.[82], relataram um aumento da soropositividade para o HHV-8 associada ao uso de droga em mulheres, além de observarem uma associação entre a infecção pelo vírus da hepatite C e a infecção pelo HHV-8, sugerindo que o HHV-8 pode ser transmitido pelo compartilhamento de seringas[83].

Dois estudos recentes realizados em populações de baixa e alta prevalência para HHV-8 proporcionaram evidências de transmissão por esta via. Dollard et al. nos Estados Unidos[84], avaliaram a soroconversão em pacientes que receberam transfusões e eram previamente soronegativos para HHV-8, sendo encontrado soropositividade em dois pacientes, evidenciando desta maneira, a transmissão do HHV-8 pela transfusão sangüínea. Após este trabalho, foi solicitado às autoridades a inclusão do diagnóstico sorológico do HHV-8 entre os testes de triagem no banco de sangue[85].

Hladik et al. na Uganda[86], área endêmica para HHV-8, também avaliaram pacientes que receberam transfusões sangüíneas e encontraram um risco de

soroconversão significantemente maior (2,8%; P<0,05) entre os que receberam sangue de doadores soropositivos para HHV-8 do que, os que receberam transfusão de doadores soronegativos. O tempo médio de soroconversão foi de 3 a 10 semanas e as características de armazenamento do sangue (risco maior de 4,2% em unidades sangüíneas armazenadas menos que 4 dias) também foram avaliados para evidenciar o risco de transmissão através da transfusão.

No Brasil[87], um estudo realizado no hemocentro de São Paulo analisou amostras de sangue de 400 doadores, sendo detectadas 16 amostras sororreagentes para anticorpos anti-antígenos da fase latente ou lítica viral. Nos pacientes que possuíam amostras sororreagentes, foi pesquisado o DNA do HHV-8 no sangue e encontrou-se um caso de PCR positivo nas células do sangue e no plasma, sugerindo a possibilidade de contaminação pelo HHV-8 em casos de transfusão sangüínea.

a.5. Transmissão através da hemodiálise

Estão sendo investigadas outras formas de contágio, como através da hemodiálise. Em um relato recente de Taiwan[88], foram coletadas 77 amostras de soro de pacientes em hemodiálise e 207 amostras de doadores de sangue, sendo testadas para imunoglobulina G específica do HHV-8 pela análise da imunofluorescência. Quinze de 77 pacientes em hemodiálise (19,5%) tinham anticorpos anti HHV-8. Seis de 207 (3,0%) dos doadores de sangue apresentaram anticorpos anti HHV-8.

Na Grécia[89], a soroconversão foi demonstrada em somente dois pacientes de 485 que eram submetidos à hemodiálise, mostrando evidências indiretas de transmissão do HHV-8 através da hemodiálise.

a.6. Transmissão através do transplante

A transmissão do HHV-8 entre transplantados de órgãos também tem sido investigada. A maioria dos casos de SK associados à imunodepressão ocorre por reativação de infecção preexistente, mas a transmissão do vírus pode ocorrer também através do órgão transplantado[81,90,91,92,93,94,95,96]. Em um estudo realizado por Regamey et al.[91] foram avaliados 220 receptores no dia do transplante renal, sendo encontrado uma soroprevalência de 6,4% de soropositividade no dia do transplante (14 em 220 receptores de transplante renal). A soroconversão ocorreu dentro do primeiro ano do transplante em 25 pacientes de 206 (12,1%). Entre seis pacientes que soroconverteram e nos quais as amostras dos doadores estavam disponíveis, os testes de cinco doadores foram positivos

para HHV-8. Em contraste, nenhum do grupo controle dos oito pacientes com doadores soronegativos se tornaram positivos, sugerindo desta maneira, a hipótese de transmissão da infecção pelo HHV-8 através do enxerto.

b. Soroepidemiologia do HHV-8

A soroprevalência para o HHV-8 varia de acordo com a origem geográfica do paciente. É muito elevada em alguns países da África, moderada na Itália, e menor em outros países ocidentais[97]. Dados de soroprevalência mostram íntima relação com os modos de transmissão propostos. Em pacientes sadios, sem os fatores de risco acima expostos, como populações de doadores de sangue, as taxas variam de 0 a 4%[98]. Em contraste, em pacientes com fatores de risco, como homens que fazem sexo com homens, podem apresentar taxas de até 35% de soropositividade para HHV-8[99].

O estudo[99] mais amplo avaliando soropositividade por extratos populacionais mostrou a importância da transmissão por meio de contatos íntimos, em particular a transmissão sexual. Através da detecção de anticorpos por IFA, uma ampla avaliação da população americana foi conduzida e este estudo mostrou, soropositividade de 1% (2 em 141) em doadores de sangue HIV negativos, 7% (7 de 107) em heterossexuais HIV negativos com sífilis, 13% (3 de 23) em homossexuais/ bissexuais masculinos HIV negativos com sífilis e 35% (13 de 37) em homens homossexuais / bissexuais HIV positivos com sífilis.

Outro estudo realizado em São Francisco mostrou dados muito semelhantes. Em homens que eram de alto risco para infecção para HIV, das 789 amostras testadas para anticorpos LANA para HHV-8, 223 (28,3%) foram positivas. Nenhum dos 195 homens exclusivamente heterossexuais apresentava anticorpos anti LANA positivos, contra 12,5 % de homens bissexuais e 39,6% de HSH[74]. Estes dados são concordes com outras publicações com o mesmo desenho epidemiológico[74,99,100]. A soroprevalência do HHV-8 é mais elevada entre homens que relatam um grande número de parceiros sexuais ou a história de doença sexualmente transmissível, achados que reforçam a idéia que o HHV-8 seja sexualmente transmissível nesta população[74,100,101].

Estudos populacionais também revelam a íntima relação entre soropositividade para HHV-8 e presença de SK nestas populações de maior risco. Usando a detecção de anticorpos por IFA, observou-se a soropositividade para HHV-8 em 35 de 40 (88%) casos de SK relacionado à AIDS em homens homossexuais da América do Norte, em 10 de 14 (71%) dos casos de SK relacionados à AIDS em pacientes italianos, em 11 de 11 (100%)

casos de SK de pacientes italianos HIV negativos, e em 14 de 18 (78%) dos casos de SK relacionados à AIDS em pacientes de Uganda[97].

No Brasil, estudo realizado em pacientes HIV-negativo/SK-negativo mostrou uma prevalência de 3,7%, em doadores de sangue de 4,6% e nos pacientes HIV+ com e sem SK, mostrou uma soroprevalência de 97,4% e 26% respectivamente [102]. Caterino-de-Araújo et al.[103] compararam 81 amostras de soro do Banco de Sangue com 81 soros de indivíduos infectados pelo HIV e encontraram 7,4% e 30,4% de soroprevalência para o HHV-8 respectivamente, através de anticorpos anti-LANA.

Souza et al.[104], realizaram estudos de soroprevalência de infecção HHV-8 em São Paulo usando os métodos sorológicos ELISA (ORF 65) e IFA-LANA em várias populações expostas a diferentes categorias de risco. Encontraram 0% de soroprevalência de anticorpos anti-LANA e 2,0% de anticorpos contra antígeno recombinante vp19/ORF65 em doadores de sangue do Estado de São Paulo. Detectaram prevalência de 88% nos casos de SK, de 18% na população infectada pelo HIV, e de 2,2% no grupo de DSTs.

Zhang et al. encontraram uma positividade de 64% entre homossexuais brasileiros infectados pelo HIV com SK através IFA para anticorpos anti-LANA[105].

Estudos de soroprevalência usando imunofluorescência detectaram 50% de pacientes soropositivos para HHV-8 nos ameríndios no norte do Brasil, mostrando seu comportamento endêmico, sem causar doença nesta população. HIV ou SK não foram identificados nesta população e a transmissão de HHV-8 ocorreu mais pela forma oral do que pela sexual[32].

Atualmente tem surgido a hipótese de transmissão do HHV-8 através da diálise. Estudo recente realizado na Arábia Saudita, região onde a incidência de SK é 10 vezes maior do que nos Estados Unidos e na região ocidental da Europa[2,106], analisou 201 pacientes renais crônicos onde foi detectada uma soroprevalência para HHV-8 em torno de 7%, comparado com 3,9% em pacientes sem doenças[107].

Estudo prévio também realizado na Arábia Saudita observou infecção pelo HHV-8 em 93% dos pacientes com SK no pós-transplante, em 28% de receptores de transplante sem SK, em 29% dos pacientes renais crônicos em hemodiálise, mas em somente 7% dos voluntários saudáveis ou pacientes com neoplasias não-SK[108].

No México, a soroprevalência foi de 3,8% em pacientes renais crônicos e 3,4% em pacientes transplantados renais[109]. A observação de a soroprevalência ser mais elevada entre os pacientes renais crônicos, os quais não eram receptores de transplante, sugere que o risco de infecção não foi diretamente associado com as drogas imunossupressoras

usadas para prevenir rejeição do enxerto, porque a soroprevalência maior de anticorpos HHV-8 já existia nesta população antes do transplante.

Dados em populações de transplantados de órgão sólidos são escassos e muito variáveis. Em um estudo realizado na Suíça, de 220 receptores de transplante renal, a soroprevalência de HHV-8 foi de 6,4% no dia do transplante para 17,7% em um ano[91]. Dois de 220 pacientes desenvolveram SK neste estudo.

Na França, outro estudo realizado em 400 receptores de transplante renal, 32 (8%) apresentavam anticorpos para HHV-8 no dia do transplante e 28% destes desenvolveram SK num período de três anos[81].

Em estudo[93] recente realizado na Itália (região com elevada prevalência), que analisou 175 pacientes transplantados renais comparado-os com grupo controle de pacientes não transplantados, demonstrou-se uma soroprevalência similar em ambos os grupos (14,8% versus 14,9%). Este estudo apresentou uma taxa de soropositividade no pré-transplante mais elevada do que outras taxas relatadas em outros países da Europa e conseqüentemente, uma alta taxa de soroconversão (16%) após transplante (documentou um aumento na soroprevalência entre receptores de transplante renal de 12 para 26% em nove anos, os quais foram maiores do que o aumento associado à idade entre os controles).

No estudo mais recente e amplo na França, receptores de transplante renal foram considerados com soroprevalência intermediária, isto é, com variação entre 5 a 20%, mais baixa do que em relação a grupos com fatores de risco relacionados à atividade sexual promíscua (> 20%) e maior que dos grupos chamados de baixo risco (< 5%) como doadores de sangue, gestantes saudáveis e pacientes com múltiplas transfusões[110].

Outro estudo realizado na França mostrou uma soroprevalência em 150 pacientes transplantados cardíacos de 2,7% e 0,68% de soroconversão. Transplante cardíaco, SK e PEL (primary effusion lymphomas) foram encontrados em associação ao HHV-8[111,112,113].

Em transplante de medula óssea na França, a soroprevalência de HHV-8 em doadores é em torno de 14,5%, enquanto nos receptores antes do transplante é de 10% aumentando para 18% após transplante[114].

No Brasil, o único estudo de soroprevalência em pacientes transplantados renais foi realizado na cidade de São Paulo no maior centro transplantador de rim do Brasil[115], e apresentado através da defesa de tese de mestrado “Avaliação da Soroprevalência de Herpesvírus Humano 8 (HHV-8, Vírus Associado ao Sarcoma de Kaposi) em Doadores e Receptores de Transplante Renal” mostrou uma prevalência geral da infecção pelo HHV-

8, antes do transplante, em pacientes receptores e doadores de transplante renal de 14,5% (29 positivos em 200 pacientes receptores) e 9,5% (19 em 200 doadores) respectivamente. Comparando esta taxa à da população de doadores de sangue no Brasil, país que não é considerado endêmico, encontra-se uma prevalência bastante elevada, mesmo considerando a variabilidade das prevalências relatadas pelos estudos, que é de 1,8% a 7,4%[103,104]. Até este momento, no Brasil, a soroprevalência para o HHV-8 nas populações de doadores e receptores de órgãos sólidos não é feita como rotina dos serviços transplantadores.

Não há dados de soroconversão nesta população de transplantados no Brasil.

1.5. Manifestações clínicas

1.5.1. HHV-8 Associado a Doenças Linfoproliferativas

Além da associação com todas as formas de SK, a infecção por HHV-8 tem sido associada ao desenvolvimento de linfomas não-Hodgkin de células B com efusão em cavidades[116], a doença multicêntrica de Castleman[117,118], eventualmente associado ao mieloma múltiplo, pelo achado de células dendríticas infectadas por HHV-8 em pacientes com a doença[119], e em células da medula óssea nos pacientes com macroglobulinemia de Waldenstrom[119,120,121,122,123].

O HHV-8 foi detectado em várias lesões de pele (incluindo carcinoma de células escamosas e carcinoma de célula basal) de quatro receptores de órgãos transplantados, sugerindo a possibilidade do papel em outras lesões de pele[124].

1.5.1.a. Sarcoma de Kaposi

O SK é classificado segundo critérios clínico-epidemiológicos em:

SK Clássico: A maioria dos casos predomina nos homens, com a proporção de 15:1 em relação às mulheres. Manifesta-se a partir dos 50 anos, em particular nos residentes do sul da Europa (principalmente Itália e Grécia) e entre os descendentes de Judeus no leste Europeu. A doença clássica, originalmente descrita, caracteriza-se por apresentar uma evolução lenta, com lesões múltiplas na forma de placas ou nódulos inicialmente nos pés e nas mãos, porém se alastrando para outras partes do corpo num período de anos ou décadas. Apenas 10% dos pacientes desenvolvem lesões em vísceras e mucosas[97,125].

SK Endêmico: Ocorre em países da África, principalmente em Uganda e Zâmbia, e desde 1950 tem sido documentada a sua alta incidência nessa região. Acomete pessoas de qualquer idade, sendo que no Sul da África corresponde a 25 - 50% dos sarcomas de tecidos moles nas crianças. Manifesta-se como uma doença agressiva, comprometendo vísceras e gânglios linfáticos, o que confere um pior prognóstico à doença[97,125].

No Brasil, foram encontrados 50% soropositividade para HHV-8 nos ameríndios no norte do Brasil, mostrando também ser endêmico, sem causar doença nesta população[32].

SK Epidêmico: Descrito em 1981 após a notificação feita pelo "Centers for Disease Control and Prevention" de uma epidemia de SK entre jovens em Nova Iorque e na Califórnia. Esta forma de doença foi associada ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e tornou-se sua forma mais comum, acometendo aproximadamente 15 a 20% dos pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Nos pacientes de sexo masculino infectados pelo HIV, a incidência do SK é cerca de 20.000 vezes maior do que na população geral. Os homens que fazem sexo com homens (HSH) apresentam risco 10 vezes maior de desenvolverem SK que os pacientes que adquiriram o HIV pela via parenteral[79,126,127,128,129,130].

SK Iatrogênico: Está relacionado com o uso de terapia imunossupressora, em pacientes receptores de órgãos transplantados, nos quais constitui 4,1% de todas as malignidades[131]. A incidência de SK é 400 a 500 vezes maior em relação à população geral[2,106], ocorrendo em 0,2 a 5% dos transplantados renais[131,132,133,134]. A incidência varia de acordo com o grupo racial e étnico e com os diferentes regimes imunossupressores[133].

Não se tem dados no Brasil de SK em pacientes transplantados e se há correlação com os esquemas imunossupressores utilizados no pós-transplante.

1.5.1.b. Doença Multicêntrica de Castleman (MCD)

Foi primeiro descrita em 1956, sendo uma doença linfoproliferativa incomum, freqüentemente associada com anemia hemolítica auto-imune e linfoadenopatia[135]. Pode ser uma doença localizada ou sistêmica[136]. Características sistêmicas incluem febre, hepatoesplenomegalia, e importante linfoadenopatia. O DNA do HHV-8 é freqüentemente detectado em biópsias de linfonodos de pacientes com doença de Castleman. Numa série de 31 casos com MCD, seqüências de HHV-8 foram encontradas em todos os 14

pacientes infectados pelo HIV com MCD, incluindo 5 sem Sarcoma de Kaposi, e em 7 de 17 pacientes com MCD sem HIV[117].

Progressão para linfoma, geralmente linfoma não-Hodgkin, pode ocorrer em pacientes com MCD[137].

Após o transplante, a MCD também pode surgir mesmo antes do aparecimento de SK. Em um relato de caso[92], após um ano e um mês do transplante renal, um paciente desenvolveu um quadro de linfoadenopatia cervical bilateral, cujo exame anátomo-patológico revelou as lesões angiolinfoproliferativas de Doença Multicêntrica de Castleman. Após um mês, foram também diagnosticadas lesões de SK que acometeram a pele e estômago. Foi diminuída a imunossupressão deste paciente, e houve regressão total das lesões gástricas e parciais das lesões de pele associadas à perda do enxerto. Análises sorológicas e também do DNA do HHV-8 em PBMC mostraram que o doador era soropositivo para HHV-8 e a paciente era soronegativa no pré-transplante, soroconvertendo após o transplante.

1.5.1.c. PEL (Primary Effusion Lymphoma) ou BCBL ("Body Cavity Based Lymphoma"-BCBL)

É um linfoma de células B, caracterizado por não apresentar massas tumorais e sim, efusão linfomatosa em cavidades (pleura, pericárdio e abdômen), estando sempre associado ao HHV-8, e eventualmente precedendo o aparecimento de SK[6,138,139,140]. Através do estudo de culturas celulares obtidas de um doente portador de PEL, e que era HIV negativo, pode-se identificar duas linhagens celulares infectadas pelo HHV-8, mas não pelo EBV (BC-3 e KS-1)[6,13]. A linhagem KS-1 foi inoculada em camundongo triplo imunodeficiente (BNX) e produziu ascite. Desta forma, foi comprovado que o HHV-8 é também o agente etiológico do PEL[6].

Essas células, também conhecidas como BCBL, podem ser positivas para ambos HHV-8 e EBV ou HHV-8 apenas. Em uma série de oito pacientes, todos tinham seqüências de genes para HHV-8, enquanto apenas quatro também tinham seqüência para EBV também[141]. Um estudo in vitro mostrou que o antígeno nuclear associado à latência (LANA) do HHV-8 pode ativar duas regiões do EBV em células coinfectadas[142].

1.5.1.d. Neoplasia Linfóide

Uma associação de neoplasia linfóide e infecção pelo HHV-8 têm sido observadas. Este herpesvírus tem sido cogitado como um provável agente causal de algumas doenças

linfoproliferativas pós-transplante quando a pesquisa para o vírus Epstein-Barr é negativa. Dois casos de HHV-8 positivo e EBV negativo foram descritos em proliferações linfóides policlonais, em associação com SK[143]. O primeiro paciente desenvolveu dois meses depois do transplante de fígado ortotópico, derrames pleurais recorrentes e linfoadenopatia com características hiperplásicas, semelhantes àquelas que ocorrem na doença de Castleman. O segundo paciente apresentou, dois anos após o transplante renal, linfadenopatia sistêmica e hepatoesplenomegalia, secundária à infiltração difusa por células do “plasma policlonal" e células B plasmocitóides. Em ambos os casos, a linfoproliferação associada ao HHV-8 não foi considerada maligna, como foi constatado por critérios morfológicos, moleculares e imunofenotípicos. Poucos doentes nos quais a seqüência de DNA do HHV-8 foi detectada apresentavam linfoadenopatia benigna com hiperplasia do centro germinal e aumento da vascularização, o que tem sido também relatado em pacientes HIV negativo e HIV positivo, além da população dos transplantados[4,144].

1.5.1.e. Mieloma Múltiplo

Vários estudos têm detectado HHV-8 em células dendríticas de biópsias de medula óssea de pacientes com mieloma múltiplo[119,120,145,146].

1.5.1.f. Angiossarcoma

Um total de 11 casos relatados tem sido correlacionados ao HHV-8 e ao angiossarcoma[147,148,149,150,151]. Todos os casos mostraram a presença do DNA-HHV-8 na proliferação de tecido tumoral.

1.5.2. Infecção pelo HHV-8 Associada a Doenças Não Neoplásicas

1.5.2.a. Sarcoidose

Em apenas um relato, a seqüência do DNA-HHV-8 foi detectada em alta porcentagem de biópsias de tecido de pacientes com sarcoidose, mas isso não ocorreu em tecidos controle (8 de 8 pacientes com sarcoidose com biópsias de múltiplos tecidos versus 3 de 56 controles)[152].

O HHV-8 tem sido associado com sarcoidose em pacientes italianos, mas não em pacientes franceses. Além disso, a análise sorológica (ELISA) detectou anticorpos em somente 3 de 15 (20%) dos pacientes suíços[153].

Entretanto, uma ligação não tem sido estabelecida por relatos confirmatórios ou por estudos, mostrando o HHV-8 em tecidos com sarcoidose ou sorologias positivas. Além disso, em relatos japoneses e franceses não foram encontradas evidências do DNA do HHV-8 pela PCR em biópsias de sarcoidose[154,155]. Até o momento, as evidências sugerem pouca associação entre HHV-8 e sarcoidose.

1.5.2.b. Hipertensão Pulmonar Primária

Cool et al.[156] recentemente relataram a presença do HHV-8 nos pulmões de 10 de 16 (62%) pacientes com hipertensão pulmonar primária. Bull et al.[157], também confirmaram a presença do vírus no endotélio pulmonar em pacientes com esta mesma característica.

1.5.2.c. Infecção Primária Pelo HHV-8

No Egito, onde a soroprevalência é relativamente elevada, a infecção primária foi detectada em 6 (7%) de 86 crianças imunocompetentes com síndrome febril de origem indeterminada. Clinicamente foi observado nestas crianças um rash cutâneo maculopapular, febre, fadiga[158].

Outro relato de infecção primária por HHV-8 ocorreu em um paciente HIV positivo, o qual apresentou febre, diarréia, esplenomegalia e linfoadenopatia cervical, caracterizada por hiperplasia angiolinfóide[159,160].

Apenas recentemente surgiram os primeiros relatos de manifestações clínicas associadas à doença aguda ou reativadas em pacientes transplantados. Luppi et al.[95] relataram o curso da infecção primária pelo HHV-8 em dois pacientes que desenvolveram infecção primária pelo HHV-8 após transplante de rim recebido do mesmo doador falecido portador do HHV-8 e o outro paciente que reativou infecção pelo HHV-8 após o transplante de medula óssea. Um dos receptores de transplante renal apresentou quadro de febre persistente, esplenomegalia, e citopenia e o outro apresentou SK agudo. Estudos subseqüentes mostraram a soroconversão e altos níveis de viremia, indicando infecção primária recente pelo HHV-8. O paciente transplantado de medula apresentou febre intermitente, por seis dias e diarréia.

Outro relato mostrou um paciente italiano com linfoma não Hodgkin que recebeu infusão autóloga "PBSC" ("Transplant Peripheral Blood Stem Cell"), e reativou HHV-8 sofrendo uma síndrome clínica autolimitada, caracterizada por febre, rash cutâneo maculopapular e hepatite[52].

Não se tem relato na literatura brasileira de infecção aguda pelo HHV-8 em pacientes transplantados.

1.6. Diagnóstico

a. Sorologias

Os estudos da prevalência de infecção pelo HHV-8 em indivíduos com risco de desenvolver o SK ou em população sadia têm sido realizados em várias regiões do mundo utilizando testes sorológicos e moleculares. A variedade de testes sorológicos para a detecção de anticorpos contra antígenos da fase latente e lítica do HHV-8 tem sido responsável pelos conflitantes resultados obtidos nas análises de soroepidemiologia. São usadas as mais diversas metodologias: ensaios de imunofluorescência (IF), "Western blot" (WB) e ensaios imunoenzimáticos (ELISA), empregando como antígenos várias linhagens celulares de linfomas de células B infectadas pelo HHV-8 (BCBL-1, BC-1, BC-3, BCP-1 e KS-1)[4,8].

Estas linhagens apresentam partículas virais em quantidades diferentes, e ainda podem estar na fase latente ou lítica de infecção viral, ou infectada por mais de um herpesvírus humano. As linhagens infectadas somente pelo HHV-8 mais utilizadas nos ensaios sorológicos são: BCBL-1 linhagem de linfoma de célula B, obtida de ascite de paciente com AIDS; BC-3 linhagem de linfoma de célula B, obtida de paciente sem AIDS com PEL de efusão pleural; BCP-1 linhagem obtida do sangue periférico de paciente com BCBL sem AIDS, e, finalmente, a KS-1 linhagem obtida do mesmo paciente onde se obteve a BC-3[4,8].

Nessas linhagens, a replicação lítica pode ser induzida por tratamento com ésteres de forbol ou butirato de sódio, permitindo desta maneira a indução e expressão de genes de fase lítica viral (ORFs 59, 65, K8.1), cujas proteínas correspondentes puderam ser utilizadas posteriormente em ensaios mais específicos[4,8].

São utilizados também antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos.

É a falta de um teste padrão ouro para a identificação do HHV-8, que corrobora a obtenção de resultados contraditórios nas diversas populações estudadas.

Várias proteínas do HHV-8 foram reconhecidas como potentes imunógenos e, a detecção dos anticorpos correspondentes mostrou-se útil para identificar indivíduos infectados. As principais proteínas imunogênicas do HHV-8 e os respectivos segmentos do genoma viral que as codificam são apresentadas no Quadro 2.

Quadro 2: Proteínas imunogênicas do HHV-8 e os respectivos segmentos do genoma viral.

Segmento do Genoma do HHV-8	Proteínas Codificadas
ORF 6	Proteína ligante do DNA
ORF 8	Glicoproteína B (gpB)
ORF 9	DNA polimerase
ORF 25	Proteína do capsídeo principal
ORF 26	Proteína do capsídeo menor
ORF 59	Proteína de replicação do DNA
ORF 65	Proteína do capsídeo
ORF 73	Proteína de fase latente nuclear (Ag LANA)
ORF K8.1	Glicoproteína classe 1

Os ensaios imunológicos utilizados em estudos de soroprevalência de infecção HHV-8 e os respectivos antígenos empregados na detecção de anticorpos específicos são descritos a seguir:

A) Imunofluorescência Indireta para Detecção de Anticorpos Contra Antígenos de Fase Lítica Viral (IFI-Lítico):

IFA para anticorpos contra antígenos líticos do HHV-8 que usa uma efusão primária da linha celular do linfoma (ISI-1), acolhendo o HHV-8 na ausência do EBV, com o soro diluído de 1/50 como já foi descrito[(78)].

A fase lítica pode ser estimulada, a partir da latência, por interação com EBV ou por ação de substâncias específicas como tetradecanoil acetato de forbol (TPA) e butirato[(161,162)].

Lâminas são preparadas com linhagens de células B infectadas pelo HHV-8 e estimuladas por 48 a 72 horas com forbol éster (TPA ou PMA). Antígenos de fase lítica viral são detectados pelos anticorpos específicos presentes no soro em 5 - 20% das células infectadas. O padrão de fluorescência é de coloração difusa no citoplasma e forte nas membranas nuclear e citoplasmática[(163,164,165,166,167,168,169,170,171,172,173,174,175,)].

B) Imunofluorescência Indireta Para Detecção de Anticorpos Contra Antígenos de Fase Latente Viral (IFI-LANA):

As lâminas de IFA são preparadas utilizando linhagens de células B latentemente infectadas pelo HHV-8 e são pesquisados anticorpos dirigidos a antígenos de fase latente de infecção viral (LANA codificado pela ORF 73), sendo este o principal componente responsável pelo padrão de fluorescência nuclear pontilhado detectado com soro de indivíduos infectados[75,78,98,101,153,163,165,167,169,170,173,175,176,177,178,179,180,181,182,183,184].

C) ELISA (Enzime - Linked Immunosorbent Assay) ORF 65:

Utiliza um fragmento de antígeno recombinante (aminoácidos 86 - 170) preparado a partir de um segmento da ORF 65 (região imunodominante) que codifica uma proteína do capsídeo do HHV-8 de 19 KDa, usando a diluição do soro 1/100, como já descrito[78,170,180,185].

D) Outros:

Ensaio de imunofluorescência indireta com proteína recombinante IFI-r, ensaio de imunofluorescência com anticorpo monoclonal - MIFA, Western Blot (WB-LANA) ou Immunoblotting (IB) LANA, WB ORF 65, WB ORF K8.1, radioimunoprecipitação RIPA LANA e Lítico, ELISA ORF 59, ELISAr mista, ELISA lisado viral, ELISA peptídeo sintético[100,163,170,177,178,186,187,188,189,190,191,192,193,194,195,196].

Até o momento várias técnicas e ensaios sorológicos foram e vêm sendo padronizados e utilizados em levantamentos de infecção HHV-8, porém nenhum deles se mostrou 100% sensível e específico para detectar casos de SK.

Estudos comparativos usando a mesma casuística e diferentes ensaios sorológicos mostraram divergência de resultados e permitiram concluir que nenhuma destas metodologias deve ser empregada de maneira isolada no diagnóstico de infecção pelo HHV-8[163,170,175,183,188].

b. Detecção Molecular do HHV-8

Além da detecção de anticorpos, a detecção de DNA circulante em leucócitos tem sido empregada como método diagnóstico, através da análise da amplificação do PCR nas amostras de biópsia e nas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) usando o método PCR "nested" para amplificar um par de bases 233 fragmento derivado do ORF 26[99].

O DNA do HHV-8 tem sido detectado em 95% das lesões de SK nos pacientes HIV positivos, SK clássico e no SK endêmico. A detecção do DNA/HHV-8 através da PCR pode ser intensificada pela hibridização, entretanto, pode ocorrer falso positivo. A PCR "nested" tem sido utilizada para detectar o HHV-8 em amostras de tecidos contendo o SK, ou doença de Castleman, PEL, no sêmem, plasma, sangue periférico e na saliva. O HHV-8 tem sido detectado de 30-60% nas células do sangue periférico de pacientes portadores de SK. As seqüências utilizadas na PCR do HHV-8 podem ser de várias regiões do genoma viral, incluindo genes latentes (ORF 73) ou genes líticos (ORF 65)[5,57,197,198,199].

Whitby et al.[57], utilizando PCR para detecção de DNA em células mononucleares do sangue periférico (PBMC), observaram que somente em 52% (24/46) dos pacientes com SK foi detectado HHV-8 nas células periféricas. A presença do DNA do HHV-8 em PBMC de pacientes HIV negativos assintomáticos correlaciona-se com uma maior propensão de desenvolver SK. Alguns estudos têm demonstrado a presença de DNA do HHV-8 em linfócitos de células B circulantes podendo explicar porque o DNA viral é algumas vezes detectado, aparentemente em número baixo de cópias, no tecido não envolvido pelo SK.

No Brasil**,** Pierrotti et al.[60], avaliaram 12 pacientes com SK relacionados à AIDS. O DNA do HHV-8 foi detectado em 4/12 (33%). Viremia intermitente foi observada em 5 pacientes. Durante o seguimento, somente 15 de 96 (15,2%) amostras de PBMC tinham PCR positivo. Esta baixa taxa de positividade foi atribuída à terapia antiretroviral (HAART) e à baixa sensibilidade do método para detectar baixos níveis de viremia. No mesmo estudo, os anticorpos para os antígenos da fase nuclear latente (LANA) foram detectados em 8/12 (66,6%). Todos os pacientes tinham anticorpos contra antígenos líticos positivos na primeira amostra.

Recentemente, alguns estudos confirmaram a presença de DNA/HHV-8 pela técnica de PCR na saliva pelo encontro de segmentos do genoma viral e até mesmo de partícula viral completa[54,200,201].

A técnica de PCR em tempo real (Real-time PCR) para quantificar o DNA do HHV-8 na saliva, tonsila e sangue tem sido importante, pois identificou a saliva como sendo o fluido com maior quantidade de DNA[202,203,204,205,206].

Na literatura ainda não se tem padronização do melhor segmento alvo de amplificação a ser utilizado na PCR. Enquanto o uso da PCR tem sido muito útil em obter informações sobre a distribuição do HHV-8, por outro lado, leva a publicação de estudos com doenças associadas que não tem sido confirmadas, provavelmente devido ao alto

risco de contaminação e falso positivo através do uso deste método. Não se tem relato na literatura brasileira sobre os métodos moleculares na população de transplantados renais.

2. JUSTIFICATIVA

O Brasil é, atualmente, o país que mais realiza transplantes renais no mundo. Dentro da cidade de São Paulo, o Hospital do Rim e Hipertensão – UNIFESP/EPM, é o centro transplantador que mais realiza transplantes renais anualmente (644 transplantes de rins em 2008). Desde o início do programa, em 1998 já foram realizados mais de 5.436 transplantes. Neste serviço, a prevalência da infecção do HHV-8 em receptores de transplante renal é de 14,5% e a sua pesquisa não é realizada rotineiramente.

Na literatura médica, é escassa a referência ao estudo sistemático da história natural da infecção pelo HHV-8 após transplante de órgão sólido, prevalecendo relatos isolados de casos com repercussões clínicas mais graves. Até o presente momento, não foram publicados, na literatura médica, dados sobre a epidemiologia da doença primária do herpesvírus humano 8 na população de transplantados renais do Brasil e o impacto dessa infecção na sobrevida desse paciente e do enxerto renal.

A importância deste estudo é questionar se seria necessário incluir no “screening” pré-transplante a pesquisa deste vírus, evitando desta maneira, potenciais transmissões do HHV-8 através do enxerto e, conseqüentemente, futuras complicações após o transplante, como por exemplo, o desenvolvimento de SK nos pacientes soropositivos.

3. OBJETIVOS

1. Descrever a história natural da infecção primária pelo HHV-8 e suas conseqüências no transplante renal.

2. Estudar o impacto da infecção pelo HHV-8 na ocorrência de neoplasias, infecções e disfunção do enxerto após o transplante renal.

3. Avaliar as sorologias e a PCR como métodos diagnósticos para a detecção da infecção pelo HHV-8 após o transplante renal.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. Local do estudo

O trabalho foi realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da Fundação Oswaldo Ramos, órgão suplementar da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina. Possui 11 andares; 143 leitos, 70% dos quais pertencem ao SUS; centro cirúrgico (4 salas); unidade de terapia intensiva; serviços de radiologia e hemodinâmica.

Trata-se de um hospital terciário especializado na realização e no acompanhamento de transplantes, e, é atualmente, o líder em número de transplantes de rim no Brasil, ressaltando que entre os anos de 2002 e 2005 foi constatado um aumento de 24% no número de transplantes renais realizados (de 464 para 575 transplantes).

Nesta instituição, 65,5% dos enxertos implantados em 2005 foram provenientes de doadores vivos, e esse predomínio em relação aos enxertos de doador falecido continua ocorrendo nos dias de hoje.

4.2. População do estudo

Foram incluídos no trabalho, os primeiros 200 receptores cujos doadores apresentaram soro disponível para detecção de anticorpos anti HHV-8 antes do transplante e que assinaram o consentimento informado. Os pacientes que não concordavam em assinar o consentimento informado ou se negaram a responder o questionário foram excluídos do estudo **(ANEXO I)**.

Aos candidatos, incluídos no estudo, era fornecida uma explicação resumida sobre os objetivos da pesquisa e suas implicações, ressaltando o caráter confidencial das informações obtidas.

O comitê de ética local da UNIFESP (Universidade Federal de São Paulo) aprovou o protocolo de estudo, que foi realizado em acordo com a Declaração de Helsinki e dentro das recomendações da “International Conference of Harmonisation” de boa prática clínica[207].

4.3. Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo prospectivo aberto, observacional, do tipo coorte, cujas informações foram coletadas de modo sucessivo e sistemático entre os meses de abril de 2001 a junho de 2004 em um único hospital**.** O trabalho consiste no acompanhamento dos pacientes receptores de transplante renal para avaliar a epidemiologia da infecção primária após transplante renal pelo HHV-8.

Os pacientes foram entrevistados utilizando-se um questionário padronizado e pré-codificado **(ANEXO II)**. Eram coletadas informações sociodemográficas, potenciais formas de exposição a agentes infecciosos de transmissão sangüínea e sexual, forma de diálise que o paciente era submetido, o tipo de doador do transplante renal (doador vivo ou cadáver) e a imunossupressão inicial.

Após a aplicação do questionário, os participantes eram encaminhados para a coleta de sangue. As amostras foram coletadas em tubos sem anticoagulante e centrifugadas a 3.000 rpm durante cinco minutos, e os soros correspondentes foram separados e divididos em duas alíquotas de 1 a 2 ml, e logo em seguida, congeladas a -20°C.

4.4. Acompanhamento dos pacientes

O acompanhamento dos pacientes foi realizado em duas fases:

a. <u>Primeira Fase:</u>

Todos os receptores soropositivos para HHV-8 previamente ao transplante e também, os receptores soronegativos, mas que possuíam doadores soropositivos para HHV-8, foram seguidos mensalmente através de consultas, inicialmente durante seis meses, para avaliar a ocorrência ou não da infecção primária após transplante renal pelo HHV-8, e seus aspectos clínico-epidemiológicos, assim como a ocorrência de outras infecções e do SK, além da sobrevida do paciente e do enxerto renal. **(ANEXO II)**.

Os receptores soronegativos com doadores soronegativos foram avaliados no terceiro e sexto mês após o transplante com os mesmos objetivos acima.

Nas consultas após o transplante foram feitas a anamnese onde se questionava toda sintomatologia do paciente, como febre, mialgia, odinofagia, coriza, tosse,

expectoração, etc. No exame físico foram avaliados linfoadenomegalia, rash cutâneo, hepatoesplenomegalia, febre, lesões na cavidade oral, alterações de pele como pápulas, nódulos e lesões hipercrômicas características de Sarcoma de Kaposi. As análises de resultados dos exames laboratoriais como: creatinina, hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais e plaquetas foram utilizadas para a avaliação de depressão medular, plaquetopenia, anemia e disfunção do enxerto. Foi coletada também, amostra de sangue para a realização da sorologia e do PCR para HHV-8.

b. Segunda Fase:

Nesta fase, os prontuários de todos os pacientes foram avaliados um e dois anos após o transplante, para verificar a ocorrência ou não de Sarcoma de Kaposi, sobrevida do enxerto e do paciente. Do prontuário foram coletados os sintomas descritos pelo médico do ambulatório, alterações no exame físico e os mesmos exames laboratoriais (creatinina, hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais e plaquetas).

4.5. Metodologia Laboratorial

4.5.1. Local de Realização dos Exames Diagnósticos:

Os soros coletados dos pacientes foram inicialmente enviados para o Laboratório de Virologia da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNIFESP/EPM, onde foram centrifugados e estocados. Procedeu-se à extração do DNA com armazenamento do material e posterior amplificação. Os exames sorológicos foram realizados no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

4.5.2. Cronologia de Coleta de Amostras:

A coleta das amostras iniciou-se em 25 de abril de 2001 e o término em 12 de junho de 2002.

As amostras de sangue foram coletadas dos pacientes doadores e de seus respectivos receptores no dia do transplante, para avaliar o perfil sorológico para o HHV-8, após assinatura do consentimento informado.

Os receptores soropositivos pré-transplante, e aqueles negativos, mas com doador positivo, foram seguidos mensalmente até o sexto mês, com avaliações clínicas, sorológicas e coleta de material para realização do PCR.

Os receptores soronegativos de doadores soronegativos foram reavaliados no terceiro e sexto mês pós-transplante constando da avaliação clínica, sorológica e coleta de material para realização do PCR.

Posteriormente foi feita avaliação clínica e laboratorial retrospectiva com um ano e dois anos pós-transplante através de revisão de prontuário de todos os receptores seguidos no estudo.

4.5.3. Processamento de Amostras:

a. Testes Sorológicos Para o Diagnóstico da Infecção Pelo HHV-8:

Os testes sorológicos, para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8, foram realizados no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, através de métodos já descritos previamente por Pierroti[208].

Para a definição de infecção pelo HHV-8 foi optado por utilizar três técnicas sorológicas para a detecção de anticorpos, sendo duas reações de imunofluorescência (IFA-LANA e IFA-LÍTICO) e uma reação imunoenzimática (ELISA-LÍTICO para a detecção de anticorpos contra o antígeno do capsídeo-pORF65). Foi definido que a infecção pelo HHV-8 seria diagnosticada quando houvesse soropositividade por qualquer uma dessas técnicas em qualquer momento do estudo.

a.1. Reação de Imunofluorescência Indireta

Para a realização da técnica de IFA, os antígenos do HHV-8 foram obtidos a partir de células BCBL-1[4], uma linhagem celular, proveniente de linfoma de células B de cavidade, infectada com HHV-8 latente, fornecidas pelo Dr. Niel Constantine, do Institute of Human Virology, University of Maryland, Baltimore, EUA.

As células BCBL-1 foram mantidas a 37°C em meio RPMI-1640 (Gibco BRL), suplementadas com 10% de soro fetal bovino (Gibco BRL), benzilpenicilina potássica 100U/ml (Megapen-5®), sulfato de estreptomicina 100mg/ml (FURP) e anfotericina B 2μg/ml (Fungizon®).

Para detecção dos anticorpos contra antígeno da fase lítica, as células foram mantidas em meio de cultura contendo 20 ng/ml de acetato de O-tetradecanoil forbol (TPA, Sigma) durante 96 horas para indução da transcrição do genoma viral. As células não submetidas ao tratamento com TPA foram utilizadas para detecção de anticorpos anti-antígenos da fase latente-LANA[100].

Foram ainda utilizadas células Ramos, uma linhagem de células B, não infectadas, como controle de reações inespecíficas.

- Preparo das Lâminas de IFA:

As suspensões de células BCBL-1 tratadas ou não com TPA, foram lavadas duas vezes com PBS (solução salina tamponada com fosfato, pH 7,2) por meio de centrifugação a 800g durante 10 minutos e ressuspensas em PBS, na concentração aproximada de 10 ⑥ células/ml. A seguir, 10µl da suspensão de células foram colocadas em cada área demarcada da lâmina, deixadas secar a temperatura ambiente e fixadas em acetona gelada durante 20 minutos. Então, as lâminas preparadas foram armazenadas a -20° C até seu uso.

- Reação de IFA:

Após descongelamento, o antígeno foi novamente hidratado, aplicando-se 30µ de solução de leite desnatado (Molico®) a 1% em cada círculo, e incubando-o durante 5 minutos à temperatura ambiente. Após aspiração do leite, 25µL das amostras de soro de pacientes, depois de diluídas na proporção 1:50 em solução de leite a 1%, foram colocadas nas lâminas contendo o antígeno. A reação antígeno-anticorpo se processou por incubação em câmara úmida à temperatura ambiente durante 30 minutos. As lâminas foram então lavadas três vezes com PBS, com duração de cinco minutos cada lavagem. Em seguida foram incubadas durante 30 minutos à temperatura ambiente no escuro, após a adição de 30µL de conjugado anti-IgG humano com isotiocianato de fluoresceína (Sigma) diluído a 1:50 em solução de azul de Evans. Após mais três lavagens com PBS foram montadas com glicerina tamponada pH 9,2. A leitura realizou-se em microscópio de imunofluorescência (Zeiss) com aumento de 400 vezes.

Em todas as lâminas foram colocados controles negativos e positivos para anticorpos anti-HHV-8, e para cada reação, foi testado o controle positivo em diluições seriadas de 1:50 a 1:12.500, para a verificação da sensibilidade do teste. Como controle negativo utilizou-se o soro de um indivíduo saudável que repetidamente mostrou-se negativo para o HHV-8 a IFA. Como controle positivo utilizou-se o soro de um paciente com AIDS e SK, com altos títulos de anticorpos contra antígenos da fase latente e lítica do HHV-8, repetidamente reconhecidos pela IFA.

Em resumo, pela reação de IFA, foram consideradas positivas para anticorpos anti-LÍTICO, a ocorrência de fluorescência citoplasmática das células tratadas com TPA

(**Figura 5**)**,** e para anticorpos anti-LANA, a reação positiva foi considerada positiva quando as amostras apresentaram fluorescência pontilhada no núcleo (**Figura 6**). Nas células chamadas controle (Ramos), não ocorria nenhum padrão de fluorescência (**Figura 7**)[208].

A presença de fluorescência, geralmente, em menor intensidade, na maioria das células, foi considerada reação inespecífica (**Figura 8**) e o teste foi repetido após absorção do soro com extrato de células Hep 2. Optou-se por excluir estes testes. As fotos das figuras abaixo foram reproduzidas com permissão da Dra. Lígia Camera Pierroti[208].

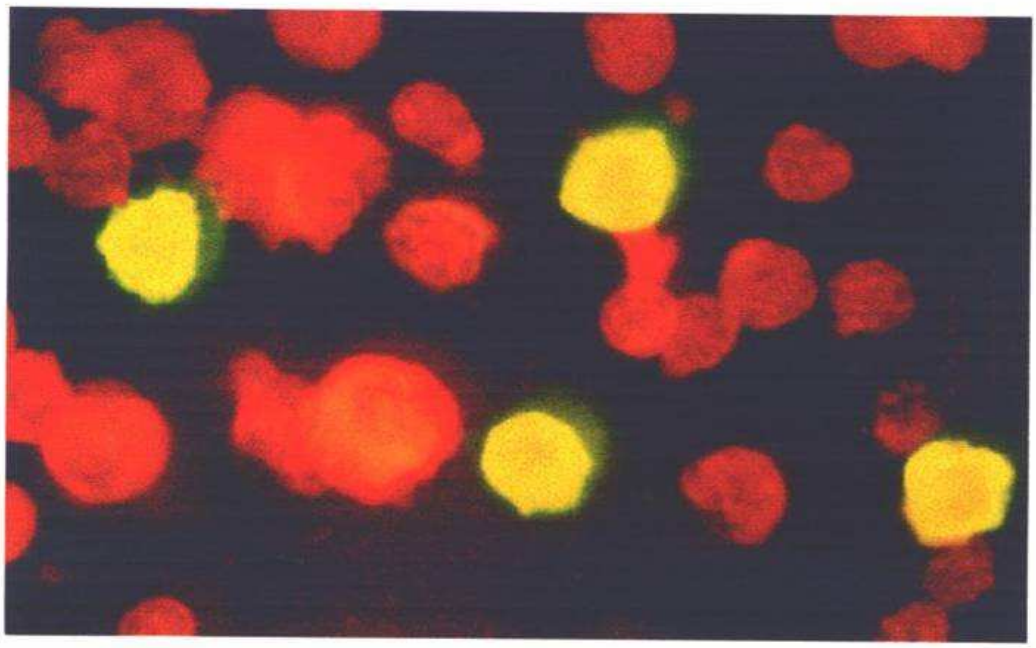


Figura 5. Reação de imunofluorescência positiva para anticorpos contra antígenos da fase lítica do HHV-8 em células BCBL-1 tratadas com TPA[208].

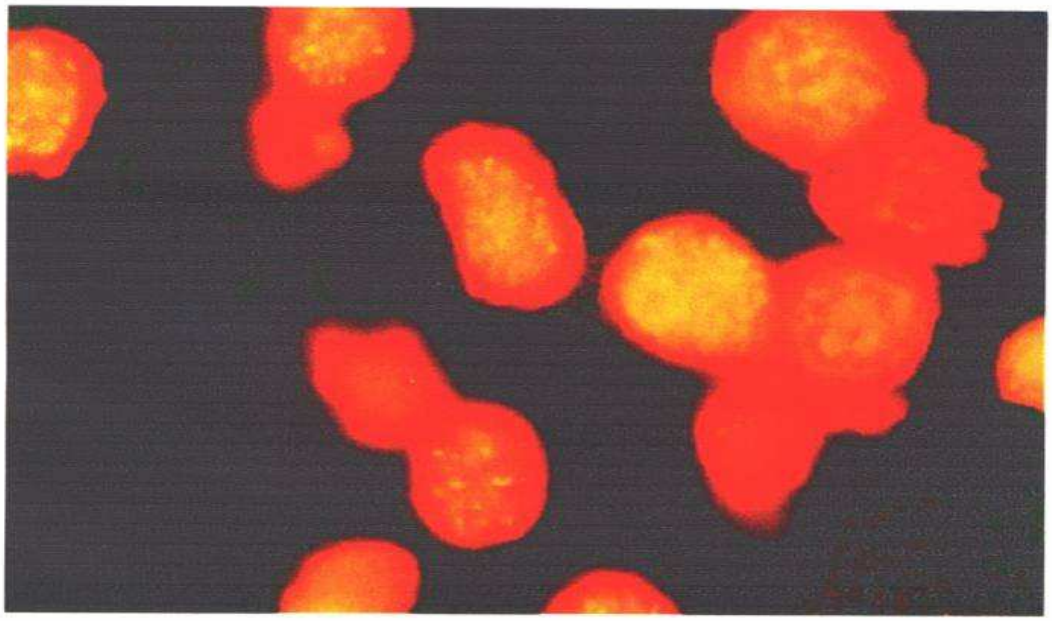


Figura 6. Reação de imunofluorescência positiva para anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) do HHV-8 em células BCBL-1[208].

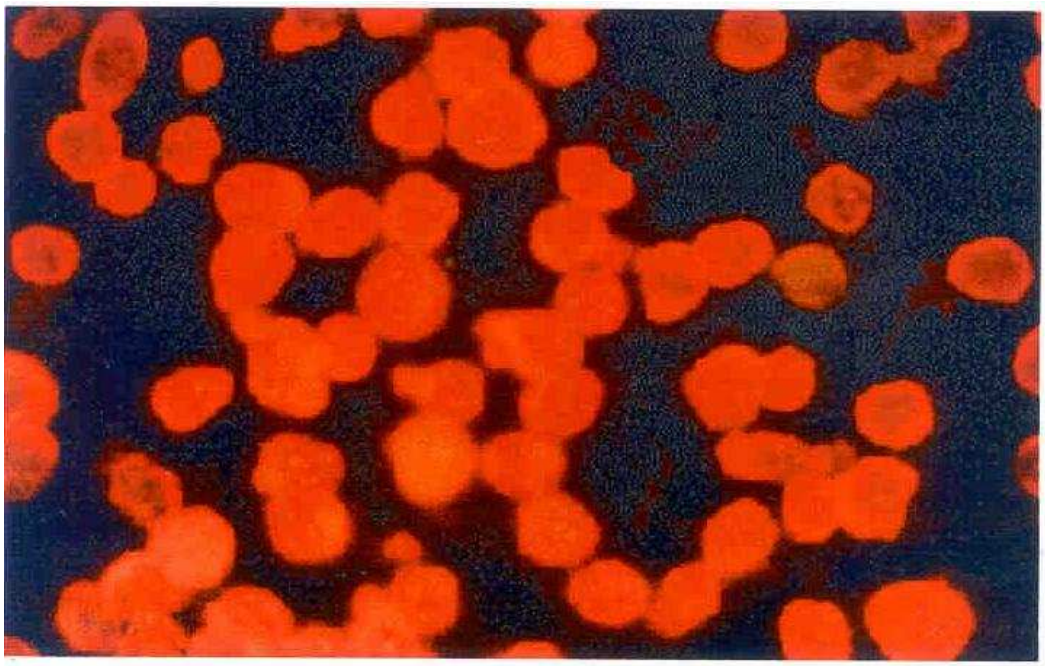


Figura 7. Reação de imunofluorescência negativa para anticorpos contra o HHV-8 em células BCBL-1[208].

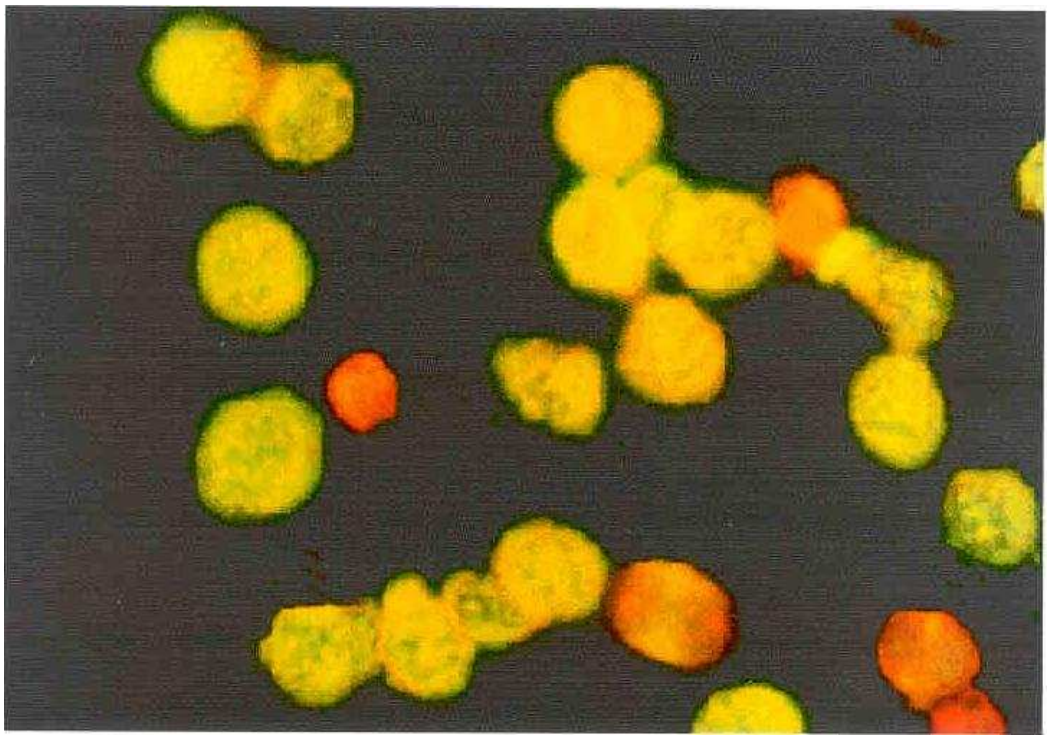


Figura 8. Reação inespecífica em células BCBL-1[208].

a.2. Reação Imunoenzimática

Um peptídeo recombinante da ORF 65, relacionado ao ciclo lítico do HHV-8 foi utilizado como base antigênica para o método de ELISA, de acordo com o método descrito por Simpson et al.[78]. O antígeno recombinante foi produzido a partir do produto de PCR da região do capsídeo do HHV-8 (ORF 65), utilizando-se os "primers": 1ª-GAG AGA GAT CTG TTC CAA CTT TAA GGT GAG AGA, e 1b-TCT GCA TGC CGC TTG TCC AAT CGT TGC CTA. Obteve-se um fragmento de 589 pb, que, após purificação pelo método Geneclean (Bio 101 Inc.), foi clonado em *Escherichia coli* (cepa DH5α), utilizando-se o vetor de ligação pGEM-T (Promega). O plasmídeo contendo o inserto foi então purificado, submetendo-se ao seqüenciamento para confirmar a presença do DNA do HHV-8. Utilizando-se enzimas de restrição, as Eco RI e NOT I, o DNA foi inserido em um vetor de expressão pGEX-4T (GST-Glutationa-S-transferase Gene Fusion Vector-Pharmacia). Em seguida, as células transformadas (*Escherichia coli*, cepa DHα) foram selecionadas e cultivadas em meio contendo ampicilina, e foi realizada a indução da expressão com isopropil-β-D-tiogalactosídeo (IPTG-Pharmacia). Obteve-se o extrato celular após solubilização com solução de lisozima e um ciclo de congelamento e

descongelamento. Após centrifugação, o sobrenadante, contendo a proteína de fusão de 38 kDa foi purificada pelo método de Sepharose-Glutationa 4B (Pharmacia). O antígeno controle (GST) foi preparado da mesma maneira, com células transformadas com o plasmídeo, sem o inserto do HHV-8. A produção do peptídeo recombinante foi confirmada por técnica de "Western-Blot" com soros de pacientes com SK e de doadores de sangue, previamente testados por reação de IFA. [209]

As placas de ELISA (Polysorp®-Nunc) foram sensibilizadas overnight a 4°C com o antígeno recombinante da ORF 65, na diluição de 1:500, nas colunas ímpares, e com GST (controle) nas colunas pares. As placas foram lavadas três vezes com PBS contendo 0,1% de Tween-20 (PBST), e bloqueadas com 150µL de solução bloqueadora (BB), constituída de leite a 5% em PBST durante 1 hora a 37°C.

Em seguida, a SB foi desprezada e 50µL de soro dos pacientes, diluídos a 1:100 em SB, foram adicionados às cavidades contendo antígeno e controle. Após incubação durante 1 hora a 37°C para que se procedesse a reação antígeno-anticorpo, as placas foram lavadas quatro vezes com PBST e então, adicionaram-se 50µL de conjugado anti-IgG humano com peroxidase (Gibco BRL), diluído a 1;1000 em SB.

Após 40 minutos a 37°C, as placas foram novamente lavadas quatro vezes com PBST, adicionando-se a seguir 50µL de substrato/cromógeno, constituído de peróxido de hidrogênio e OPD (O-fenilenodiamina) em tampão citrato pH 5,0. Após 10 minutos no escuro, a reação imunoenzimática foi interrompida com a adição de 50µl de ácido sulfúrico 2,5N. Foi realizada, a seguir, à leitura da reação em espectrofotômetro de placas, em comprimento de onda de 492nm.

O resultado final (ΔDO) foi obtido pela subtração da densidade óptica da coluna ímpar (antígeno recombinante) pela densidade óptica (DO) da coluna par (controle). O "cut-off" foi obtido pela média das ΔDO mais três desvios padrões de 40 soros de indivíduos de baixo risco para o SK, com resultados prévios persistentemente negativos para o HHV-8 por IFA (LANA e LÍTICO).

Pelo método de ELISA foram consideradas positivas as amostras com ΔDO superior a 0,14[208].

b. Reação em Cadeia Polimerase (PCR)

A PCR é uma técnica de amplificação enzimática de ácidos nucléicos *in vitro* que permite sintetizar grandes quantidades de uma seqüência nucleotídica, determinada por dois oligonucleotídeos *(primers)* que são complementares a uma das extremidades do fragmento de DNA que se quer amplificar.

Uma série sucessiva e repetitiva de ciclos, que incluem desnaturação do DNA, pareamento dos primes na seqüência alvo e extensão por meio de uma polimerase termoestável, determina o acúmulo exponencial dos fragmentos.

As técnicas de PCR para a pesquisa de segmento ORF 26 do genoma do HHV-8 foram realizadas no Laboratório de Virologia da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UNIFESP-EPM.

b.1. Extração kit QIAGEN Manual

O DNA foi extraído da amostra do soro pelo QIAamp DNA blood mini kit cat. nº 51106 segundo protocolo do fabricante.

b.2. Amplificação

O DNA do HHV-8 foi amplificado segundo um protocolo adaptado, que foi inicialmente descrito por L. Bélec et al. por PCR nested utilizando os seguintes primers:

- Primers externos: KS1/KS2 descrito por Chang et al 1996.

KS1: 5'- AGC CGA AAG GAT TCC ACC AT – 3'
KS2: 5'- TCC GTG TTG TCT ACG TCC AG – 3'

- Primers internos: WH-KS-1/WH-KS-2

WH-KS-1: 5' – GTG CTC GAA TCC AAC GGA TT – 3'
WH-KS-2: 5' – ATG ACA CAT TGG TGG TAT AT – 3'

O ciclo inicial da PCR consistiu de uma desnaturação a 94ºC / 5 minutos, seguido por 35 ciclos de amplificação (desnaturação: 94ºC / 45 segundos; anelamento: 55 ºC / 45 segundos; extensão: 72ºC / 60segundos), e um último ciclo de extensão 10 minutos / 72ºC, contendo 20 pmol de cada primer, 1,5 U de Taq DNA polimerase, 40 uM dNTP mix ,

10 mM Tris-HCl, 2,5 mM $MgCl_2$ e 50 mM HCl. Foram transferidos 5 µL do produto do primeiro PCR para o segundo PCR interno, consistindo de uma desnaturação inicial de 94ºC / 5 minutos, seguido de 35 ciclos de amplificação (94ºC / 60 segundos; 60ºC / 60 segundos; 72ºC / 60 segundos) e um último de 10 minutos à 72ºC.

b.3. Detecção

Este PCR Nested é 100 a 1000 vezes mais sensível para a detecção de seqüências de HHV-8 do que o PCR simples que utiliza os primers KS 330 (233), e permite uma detecção menor do que 5 cópias do genoma externo, previamente determinada por comparação de diluição serial de um DNA padrão contendo uma quantidade conhecida de HHV-8 DNA. Ao final da PCR Nested foi visualizado um produto de 170 pb através da U.V por brometo de etídio, em gel de agarose a 2%.

4.6. Rotinas do serviço

4.6.1. Profilaxia de doença oportunista

Durante o período inicial de 6 meses após o transplante, os doentes transplantados foram orientados tomar diariamente sulfametoxazol-trimetoprim como profilaxia para *Pneumocystis jiroveci* .

4.6.2. Terapia Imunossupressora

Os esquemas de imunossupressão escolhidos pela equipe do transplante são avaliados individualmente e seguem protocolos cuja estrutura geral pode variar de acordo com as particularidades do doador, órgão e do receptor, levando em conta a compatibilidade nos antígenos do sistema HLA e o risco imunológico. Sua estruturação baseia-se na combinação racional de agentes com diferentes mecanismos de ação, com o intuito de prevenir a rejeição aguda e crônica.

Avaliamos a imunossupressão inicial em todos os pacientes receptores de transplante.

A imunossupressão[210] convencional é uma combinação de uma droga inibidora da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus), um segundo agente. (azatioprina, ou micofenolato mofetil, ou sirolimus, ou everolimus) e um corticóide. A terapia de indução com anticorpos policlonais (ATG ou ALG) ou monoclonais (anti-CD3 e anticorpos anti-

receptor de interleucina 2 - anti-IL-2R) realizados em pacientes com moderado a elevado risco de rejeição (retransplante), maior grau de sensibilização aos antígenos HLA, etnia (negros) e idade avançada do receptor e do doador. Após 3 a 6 meses, são utilizadas 2 ou 3 drogas com suas doses minimizadas.

A terapia imunossupressora consistiu no uso de prednisona em todos os pacientes (dose diária de 0,5 mg/kg). O uso dos inibidores de calcineurina ciclosporina (CsA) (Sandimmun Neoral ®, Sandoz, Basel, Switzerland) na dose de 8 mg/kg/dia, dividida em 2 tomadas foi usada para receptores haploidênticos e de 10 mg/kg/dia, em 2 doses para HLA distintos e doadores cadáveres, com ajuste da dose através do nível sangüíneo. A dose inicial de tacrolimus (FK) (Prograf ®, Jansen-Cilag-Fugisawa, Ireland) foi de 0,2 a 0,3 mg/kg/dia, divididos em duas doses, com ajuste através da concentração sangüínea.

A dose da azatioprina (AZA) (FURP - Ministério da Saúde, Brasília, Brasil) foi de 2 mg/kg/dia, em dose única diária. Micofenolato mofetil (MMF) (Cell Cept ®, Roche, Basel, Switzerland) foi utilizado na dose de 30 mg/kg/dia, dividido em 2 a 3 doses, com dose máxima diária de 2,0g/dia.

Sirolimus (Rapamune ® Wyeth-ayerst, Rouses Point, USA) foi usado em dose única diária de 2 mg. FTY 720 (Novartis, Basel, Switzerland). Dose em estudo: 0,25 a 2,5mg. Everolimo ou RAD001, SDZ RAD (Certican® , Novartis). Dose recomendada: 0,75 a 1,5 mg 2 vezes ao dia.

Basiliximab (Simulect®, Novartis, Basel, Switzerland) foi administrado na dose de 40 mg, em duas doses de 20mg, sendo a primeira no intra-operatório e a segunda no 4° dia após o transplante.

Daclizumab (Zenapax®, Roche, Basel, Switzerland), cuja dose utilizada foi de 1 mg/kg/dose, num total de 5 doses, sendo a primeira no intra-operatório e as demais em intervalos de 14 dias.

4.6.3. Mudança de Imunossupressão

Foram consideradas todas as alterações no esquema inicial de imunossupressão ocorridas no período de coleta de dados, considerando-se a razão (falta de eficácia ou segurança).

4.7. Definições dos dados coletados

4.7.1. Critérios para definição de infecção primária pelo HHV-8:

A infecção primária foi avaliada nos pacientes receptores de transplante renal que soroconverteram (pacientes que previamente ao transplante renal eram soronegativos para HHV-8 e se tornaram soropositivos após o transplante) sendo analisados os sintomas clínicos, alterações no exame físico e alterações laboratoriais.

4.7.2. Dados demográficos

As variáveis demográficas foram: idade em anos, sexo, etiologia da insuficiência renal dos receptores, tempo de tratamento dialítico pré-transplante (tanto diálise peritoneal como hemodiálise foi aferida em meses) e número de transfusões de sangue. As sorologias prévias ao transplante também foram avaliadas: sorologia para CMV (fração IgG do CMV); técnica de imunofluorimetria por partículas para HIV; hemaglutinação indireta positiva para Chagas; VDRL com titulação superior a 1/8 (correspondendo a sífilis positivo), anticorpo anti-HCV (hepatite C positiva) e antígeno HBsAG positivo (hepatite B positivo).

Foram avaliados também os seguintes dados: uso de drogas endovenosas, doença sexualmente transmissível (DST), uso de preservativos, relações homossexuais ou heterossexuais.

Nos doadores foram avaliados os seguintes dados: idade em anos, sexo, sorologias pré-transplante (sorologia para Citomegalovírus, HIV, Chagas; Sífilis, Hepatites B e C) e antecedentes pessoais como: uso de drogas endovenosas, DST, uso de preservativos, relações homossexuais ou heterossexuais.

4.7.3. Episódios de Rejeição

A rejeição aguda do enxerto foi determinada pela presença de sinais clínicos incluindo febre, dor no enxerto, diminuição do volume urinário e aumento da creatinina. Todos os casos foram confirmados por biópsia e classificados de acordo com os critérios de Banff de 1997[211]. O tratamento inicial de rejeição aguda consistiu em 3 a 5 doses diárias de metilprednisolona endovenosa (500 e 1000 mg/dia).

A rejeição aguda córtico-resistente foi diagnosticada através da ausência de resposta clínica ao tratamento inicial com metilprednisolona e na persistência de critérios de rejeição aguda numa biópsia renal subseqüente. Pacientes com rejeição aguda

córtico-resistente foram tratados com anticorpo monoclonal anti CD3 (OKT3®, Ortho Pharmaceutical Corp, Raritan, NJ), ou com anticorpo antilinfocítico policlonal (ATG ou ALG).

Categorias diagnósticas para biópsias de enxerto renal, de acordo com a 4ª Conferência de Banff 97[211]

1. Normal
2. Rejeição mediada por anticorpo:
   A. Hiperaguda
   B. Aguda acelerada
3. Bordeline: suspeita de rejeição aguda: sem arterite intimal, porém, existe foco de tubulite leve (1- 4 células mononucleares / corte tubular) e pelo menos 10-25% do parênquima acometido pela inflamação.
4. Rejeição Aguda / ativa

Tipo/grau	Achados histopatológicos
IA	Casos com infiltrado mononuclear intersticial (>25% do parênquima) e foco de tubulite moderada (> 4 células mononucleares/ corte histológico tubular)
IB	Casos com infiltrado mononuclear intersticial (>25% do parênquima) e foco de tubulite grave (> 10 células mononucleares/ corte histológico tubular)
IIA	Casos com arterite intimal leve a moderada em pelo menos um corte histológico com artéria
IIB	Casos com arterite intimal grave, comprometendo >25% da área luminal, em pelo menos um corte histológico com artéria.
III	Casos com arterite transmural e/ou alteração fibrinóide arterial e necrose da camada média de células musculares lisas, com infiltrado linfocítico em vasos.

5. Nefropatia crônica / esclerosante do enxerto

Grau	Achados histopatológicos
I (Leve)	Fibrose intersticial leve e atrofia tubular
II (Moderada)	Fibrose intersticial moderada e atrofia tubular
III(Grave)	Fibrose intersticial grave e atrofia tubular

6. Outros (por exemplo: nefrite túbulo-intersticial-NTI)

4.7.4. Hemodiálise e transfusão após o transplante

Foi pesquisada a presença ou não de terapia dialítica pós-transplante e também terapia com hemoderivados, que foram avaliados através do prontuário do paciente.

4.7.5. Avaliações laboratoriais

Avaliação hematológica e bioquímica (creatinina).

4.7.6. Infecções

Todas as complicações infecciosas presumidas ou as confirmadas através de exames subsidiários foram avaliadas.

a. Sinusite obteve o diagnóstico clínico, através do aumento de secreção, cefaléia na área do seio da face mais comprometido (seio frontal, maxilar, etmoidal e esfenoidal), obstrução nasal com presença de secreção amarela ou esverdeada, sanguinolenta, que dificulta a respiração. Febre, cansaço, coriza, tosse, dores musculares e perda de apetite poderiam estar presentes. A traqueobronquite foi diagnosticada clinicamente através da presença de tosse persistente, podendo ser seca ou produtiva, com expectoração de secreção, e eventualmente acompanhada de febre baixa e dor no peito, falta de ar e chiado no peito.

b. Nas infecções pulmonares[212,213,214,215,216] o diagnóstico foi feito através de vários métodos diagnósticos como: **hemoculturas** (consideradas positivas quando encontradas colônias de bactérias com contagem superior a 10^4/mL), **escarro**: com contagem de células epiteliais < 10 células / campo; contagem de polimorfonucleares > 25 células/

campo, pesquisa de: bacterioscopia (Gram), pesquisa de fungos e *P. jiroveci*, BAAR (bacilo álcool -ácido resistente), cultura para aeróbios com antibiograma, cultura para *Legionella spp*, para micobactérias (com teste de sensibilidade), pesquisa de *Strongyloides spp.* **Aspirado traqueal** – cultura semi-quantitativa ≥ 10^5 colônias/mL, obtendo-se uma investigação de agentes similares aos utilizados no escarro. Métodos invasivos também foram solicitados como: a) Lavado bronco-alveolar: cultura ≥ 10^4 colônias/mL; b) Biópsia transbrônquica; c) Biópsia a céu aberto (todas com cultura de tecido).

A broncoscopia[214,215] com a análise do lavado bronco-alveolar, biópsia transbrônquica ou a céu aberto são os métodos diagnósticos utilizados neste hospital para a investigação de patologias pulmonares. De maneira geral, a obtenção de fragmentos de pulmão aumenta a capacidade diagnóstica em relação ao lavado bronco-alveolar, principalmente para CMV, *M. tuberculosis* e fungos, não parecendo haver vantagens apenas para *P. jiroveci.* Em relação à opção por biópsia a céu aberto ou por broncoscopia, esta escolha dependeu da situação clínica do paciente.

A biópsia a céu aberto foi um recurso destinado para investigação dos casos onde existiu contra-indicação para a realização de broncoscopia (plaquetopenia, PEEP >12mmHg, distúrbios da coagulação, evidência de sangramento ou outra contra-indicação evidenciada pelo broncoscopista) e, quando o recurso broncoscópico não foi suficiente para o diagnóstico nos pacientes que evoluíram com piora do quadro clínico.

A tomografia computadorizada de alta resolução foi solicitada para ajudar na diferenciação entre doença infecciosa pulmonar e outras afecções como hemorragia alveolar ou congestão pulmonar.

O antígeno urinário para *Legionella spp* foi solicitado para todos os casos de pneumonia hospitalar sendo associada à ventilação mecânica (pneumonia que se desenvolve após 48 horas de intubação oro-traqueal e ventilação mecânica) ou não, como instrumento diagnóstico na presença de consolidações pulmonares com ou sem apresentação para cavitação.

c. As infecções urinárias[217] foram diagnosticadas quando a urocultura foi positiva na vigência de sintomatologia urinária, ou quando havia suspeita devido ao aumento da creatinina. Foram definidas da seguinte maneira:

- Bacteriúria assintomática: pacientes sem sintomas e com contagem de colônias igual ou maior que 10^5 UFC/mL; foram considerados nas seguintes situações: pacientes em uso de OKT-3 (neste caso, foi indicado tratamento com crescimento de 10^4 ou mais UFC/mL); e em pacientes com menos de 6 meses de transplante e 10^5 ou mais UFC/mL.
- Infecção urinária: pacientes com sintomas (como disúria, polaciúria, febre) e contagem de colônias 10^3/mL ou maior.
- Pielonefrite histológica: Biópsia renal mostrando microabscessos (pielonefrite histológica), mesmo que com culturas negativas.

d. As infecções de sítio cirúrgico foram diagnosticadas através dos critérios diagnósticos do CDC de 1999 descritos abaixo[218]:

Infecção incisional superficial – ocorre nos primeiros 30 dias após o procedimento e envolve epiderme, derme ou tecido celular subcutâneo e, pelo menos, 1 dos seguintes achados: 1. Drenagem purulenta, com ou sem confirmação microbiológica, da incisão superficial; 2. Organismos isolados na cultura de fluidos ou tecidos coletados de forma asséptica da incisão; 3. Pelo menos 1 dos sinais ou sintomas: dor, calor, rubor, edema e a incisão é aberta pelo cirurgião de propósito, a menos que a incisão tenha cultura negativa;
Infecção incisional profunda – ocorre nos primeiros 30 dias de pós-operatório se não existir implante no local, caso contrário, 1 ano após cirurgia, envolvendo fáscia e tecido muscular, com pelo menos 1 dos seguintes achados: 1. Drenagem purulenta, mas não do componente órgão ou espaço específico; 2. Deiscência de sutura ou abertura de ferida cirúrgica pelo cirurgião quando existe pelo menos 1 dos sintomas: febre (>38º C), dor, a menos que a cultura do local seja negativa; 3. Abscessos no exame direto, intra-operatório ou observados por métodos radiológicos;
Infecção órgão e espaço específico: ocorre nos primeiros 30 dias de pós-operatório se não existir implante no local, caso contrário, 1 ano após cirurgia, envolvendo qualquer órgão ou espaço anatômico que foi aberto ou manipulado durante o ato cirúrgico e pelo menos 1 dos seguintes achados: 1. Drenagem purulenta do dreno locado no órgão ou espaço específico; 2. Organismos isolados em culturas de fluidos ou tecidos obtidos de forma asséptica no órgão ou espaço específico; 3. Abscesso ou outra evidência de infecção observada no exame direto, histopatológico, ou radiologia do órgão ou espaço específico;

e. Infecções virais como herpes simples oral ou genital, varicela e herpes zoster uni ou multidermatômico foram diagnosticadas clinicamente através da presença de vesículas ou úlceras. As doenças herpéticas invasivas tiveram diagnósticos através de exames invasivos.

A doença causada pelo CMV[219,220,221] foi definida como infecção sintomática quando o paciente possuía febre, leucopenia, trombocitopenia associada à detecção do antígeno CMV-pp65 no sangue. Doença invasiva pelo CMV foi definida com a detecção de inclusão citomegálica em espécime de tecidos obtidos por biópsia.

- **Infecção**: isolamento do vírus ou detecção de proteína viral ou ácido nucléico a partir de qualquer fluido ou tecido do corpo. A infecção pode ser definida como assintomática ou sintomática (doença por CMV).

1) **Infecção assintomática**: infecção ativa evidenciada através de exames (antigenemia e PCR), na ausência de sintomas atribuídos à infecção.
2) **Infecção primária**: detecção do CMV em indivíduos previamente soronegativos. Foram utilizados métodos como antigenemia do pp65 e PCR (quantitativa) para maior rapidez do diagnóstico.
3) **Infecção secundária**: infecção ativa ou doença pelo CMV em receptores com sorologia positiva para CMV prévio ao transplante.
4) **Síndrome viral**: febre (>38ºC) por pelo menos dois dias em um período de 4 dias, neutropenia ou trombocitopenia e a detecção de CMV no sangue. Podem estar presentes sintomas constitucionais como astenia e artralgia.
5) **Doença invasiva** (doença em órgão alvo): sinais e/ou sintomas relacionados ao órgão alvo e achado do vírus em amostra de determinados fluidos (lavado broncoalveolar, LCR) ou tecido.

- Métodos diagnósticos específicos para detecção CMV[219,220,221]:

1) **Antigenemia**: detecção do pp65 através de anticorpos monoclonais; método simples, rápido, alta acurácia. Positividade em média 7 a 9 dias antes dos sintomas.
2) **PCR quantitativo**: bastante empregado para detecção e quantificação viral. Alta sensibilidade, sendo útil no diagnóstico precoce de infecção. Devido à sua capacidade de detecção de DNA latente, podem ocorrer resultados falso-positivos, devendo-se ter cuidado na interpretação do resultado.

Outras viroses também foram avaliadas como HHV-6, HHV-7, poliomavírus, parvovírus e Epstein-baar, sendo diagnosticados através de sorologias, biópsias de tecidos e análise de PCR específico.

f. Doenças endêmicas ocorridas nos pacientes transplantados renais como tuberculose, leishmaniose, esquistossomose, estrongiloidose, leptospirose, toxoplasmose, dengue, ascaridiose foram utilizados os métodos sorológicos, pesquisa direta ou anatomopatológico na vigência de sinais e sintomas relacionados à doença.

g. Micoses profundas como paracoccidioidomicose, criptococcose, aspergilose, mucormicose, feohifomicose e candidíase invasiva foram avaliadas através de pesquisa direta dos agentes, culturas em meios específicos e anátomo patológico.

4.7.7. Neoplasias

Na definição de neoplasia após o transplante, foi incluída a ocorrência de doença linfoproliferativa, bem como outra neoplasia ocorrida ao longo dos 48 meses de seguimento, incluindo Sarcoma de Kaposi. O diagnóstico foi feito através da análise histopatológica do material analisado.

4.7.8. Perda do enxerto

Foi considerada como perda física do órgão por nefrectomia ou perda funcional com necessidade de tratamento dialítico pelo período de pelo menos 8 semanas.

4.7.9. Perda de seguimento

Foi considerada como a transferência do acompanhamento do paciente com rim funcionante para o serviço de origem ou outro local.

4.7.10. Perda do paciente

Foi avaliada a causa do óbito do paciente.

4.8. Análise Estatística

As variáveis numéricas foram descritas por médias e um desvio padrão. As variáveis categóricas foram descritas por freqüências percentuais.

Os testes estatísticos aplicados foram[222]:

- Análise de variância, para a comparação das variáveis numéricas de dois ou mais grupos;

- Teste do Qui-quadrado, para a comparação das variáveis categóricas de dois ou mais grupos;

- Teste exato de Fisher, para a comparação das variáveis categóricas de dois ou mais grupos, entre amostras de pequeno tamanho.

Em todos os testes o limite máximo do nível descritivo para a rejeição da hipótese nula foi fixado em 0,05 ou 5 %. Os testes foram realizados através do programa estatístico SPSS versão 7,5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) para Windows.

5. RESULTADOS

No período de 25 de abril de 2001 a 12 de dezembro de 2001 foram realizados 325 transplantes renais e destes, foram selecionados 200 doadores e 200 receptores respectivos para transplante renal, no Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP/EPM.

5.1. Características da amostra estudada

Dos 200 doadores de transplante renal 59,5% pertenciam ao sexo feminino e 40,5% do sexo masculino. A idade variou de 14 a 77 anos e a média foi de 43 anos com desvio-padrão de ± 11,6 anos.

Dos 200 receptores de transplante renal estudados, 76 (38%) eram do sexo feminino e 124 (62%) do sexo masculino. A idade deles variou de 7 a 75 anos e a média foi de 39,8 anos com desvio-padrão de ± 12,7 anos.

Entre os 200 receptores apenas 5 (2,50%) relataram já terem feito uso de drogas endovenosas e 23 (11,5%) relataram diagnóstico prévio de doença sexualmente transmissível, tendo sido adequadamente tratados. Todos os pacientes sexualmente ativos referiam um comportamento heterossexual e se classificavam como monogâmicos. Não houve nenhum caso relatado de homossexualismo. Nenhum paciente referiu à prática do uso de preservativos nas relações sexuais.

Nenhum doador ou receptor era portador do vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Quanto ao vírus da hepatite B, apenas cinco (2,5%) pacientes receptores de transplante renal eram portadores crônicos (HBsAg+) do vírus.

Em relação à hepatite C, treze (6,5%) dos receptores apresentaram sorologia para hepatite C positiva.

Neste estudo, 126 (63%) pacientes receptores de transplante renal receberam transfusão sangüínea antes do transplante. A média geral dessas transfusões foi de 1,92 unidades por paciente e o desvio-padrão de ± 2,78. Considerando apenas os pacientes que haviam recebido transfusões sangüíneas, a média de unidades administradas foi de 3,04 e o desvio-padrão ± 2,97.

Setenta e quatro receptores (37%) nunca haviam recebido transfusões prévias.

Dos 200 receptores, 14 (7%) pacientes realizavam diálise peritoneal antes do transplante, em um período que variava de 6 a 48 meses, média de 23,5 meses. A hemodiálise foi o tratamento dialítico mais freqüente, 177 (88,5%) pacientes foram

submetidos a este tratamento por um período de 1 a 96 meses, média de 27,83 meses. Nove (4,5%) receptores não haviam sido submetidos a nenhum método dialítico e permaneciam em tratamento conservador.

Destes 200 receptores que foram submetidos a transplante renal, a maioria [171 (85,5%) receptores] recebeu o órgão de doadores vivos e 29 (14,5%) de doadores falecidos.

Dos pacientes que receberam transplante com doador vivo**,** a maioria destes era HLA II (94 pacientes), 42 HLA I e 35 HLA III.

5.2. Etiologia da Insuficiência Renal

Em relação à etiologia da insuficiência renal dos 200 pacientes receptores de transplante renal estudados, a 46 pacientes foi atribuída a nefropatia secundária a hipertensão arterial sistêmica (HAS), a 50 a glomerulonefrite crônica (GNC), a 11 a diabetes mellitus, a 6 a pielonefrite crônica (PNC) e em 87 pacientes não se pode identificar a causa da insuficiência renal **(Figura 9)**.

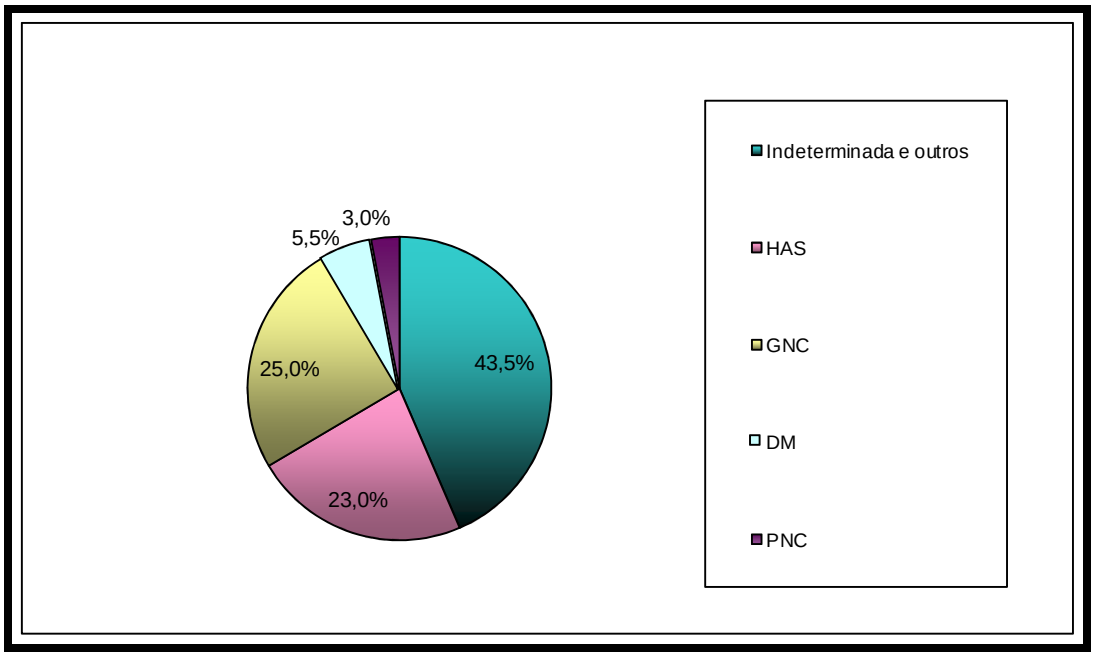


Figura 9. Diagnósticos que motivaram o transplante renal.

5.3. Prevalência da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal

Foram considerados infectados pelo HHV-8 os indivíduos que apresentavam anticorpos anti HHV-8 por qualquer um dos métodos sorológicos utilizados.

Entre os 400 pacientes estudados, 52 apresentaram anticorpos contra o HHV-8 em pelo menos um dos três métodos sorológicos utilizados, resultando em uma prevalência geral da infecção pelo HHV-8 de 13%. A tabela 2 apresenta a prevalência da infecção pelo HHV-8 entre os receptores e os doadores no momento do transplante renal.

Tabela 2. Prevalência de anticorpos anti-HHV-8 em doadores e receptores antes do transplante renal.

Pacientes	N	Média de Idade (a)	Sexo Feminino	Sexo Masculino	HHV-8 Positivo*
Doadores	200	43,02	59,5%	40,5%	19 (9,5%)
Receptores	200	44,41	38%	62%	33(16,5%)

(a)= anos

* = número e porcentagem de pacientes

Nos receptores foi encontrada uma taxa de soroprevalência antes do transplante de 16,5% (33 pacientes com anticorpos anti-HHV-8 positivos em 200 receptores estudados) e nos doadores de 9,5% (19 pacientes com anticorpos anti-HHV-8 positivos em 200 doadores).

5.3.1. Prevalência da Infecção pelo HHV-8 entre Doadores e Receptores associada à diversas variáveis

De 81 doadores de transplante renal do sexo masculino, 5 apresentavam sorologia positiva para HHV-8 e nas 119 doadoras do sexo feminino 14 apresentavam sorologia positiva para HHV-8.

Nas 76 receptoras de transplante renal do sexo feminino, 12 (36%) apresentavam sorologia positiva para HHV-8 e nos 124 receptores do sexo masculino 21 (64%) apresentavam sorologia positiva para HHV-8.

Nos pacientes receptores que apresentavam sorologia positiva para HHV-8 a idade variou de 13 anos a 75 anos, apresentando uma média de idade de 44,4 anos. Foi

analisada a diferença entre a média de idade dos pacientes soropositivos e dos soronegativos, através do teste t de Student foi encontrado um p =0,023.

Tabela 3. Prevalência da infecção pelo HHV-8 na amostra estudada de receptores de transplante renal de acordo com a variabilidade da idade sendo realizada pelo teste t de Student:

HHV-8	N	Média	Mínimo	Máximo
Positivos	33	44,4	13	75
Negativos	167	38,9	7	69

p<0,05.

Dos 33 receptores que eram HHV-8 soropositivos, 17 (52%) já haviam recebido pelo menos uma transfusão sangüínea pré-transplante com uma média de 2,1 transfusões e desvio padrão de ± 1. Dos 167 pacientes receptores soronegativos para HHV-8, 109 (65%) também já haviam recebido transfusão sangüínea, não foi observada diferença estatisticamente significante entre esses dois grupos. Nestes 33 receptores HHV-8 positivos pré-transplante as transfusões sangüíneas recebidas após o transplante também foram avaliadas, sendo encontradas em 12% dos receptores de transplante renal soropositivos e 6% dos receptores soronegativos, também sem diferença estatística nos dois grupos estudados (p=0,182) **(Tabela 4)**.

Em relação ao tratamento dialítico, também não foi encontrada significância estatística. Dos 33 receptores de transplante que apresentavam sorologia anti-HHV-8 positiva, 9% faziam diálise peritoneal e 85% dos pacientes eram submetidos à hemodiálise. Foi interessante observar que dos 9 pacientes que apresentavam insuficiência renal crônica mas permaneciam em tratamento conservador, 6,0% apresentavam anticorpos anti-HHV-8 positivos **(Tabela 4)**.

Quanto aos receptores que foram submetidos a transplante renal, dos 33 pacientes que eram soropositivos para HHV-8, 7% receberam o enxerto renal de doadores falecidos e 31 (94%) destes receberam rim de doador vivo, sendo que 15% eram HLA I, 54% eram HLA II e 24% eram HLA III **(Tabela 4)**.

Tabela 4. Análise das variáveis estudadas no grupo de receptores de transplante renal conforme a presença ou ausência da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal.

Variável	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	Valor p *
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	-
Idade	39,8±12,7 (7-75)	44,4±14,7 (13-75)	38,9±12,1 (7-69)	0,023
Sexo				
Masculino	124 (62)	21 (64)	103 (62)	0,848
Feminino	76 (38)	12 (36)	64 (38)	
Transfusão				
Pré-transplante				
Nº pacientes	126 (63)	17 (52)	109 (65)	
Nº sessão	3,1±3,0 (1-20)	2,1±1,0 (1-4)	3,2±3,1 (1-20)	0,138
Pós-transplante				
Nº pacientes	14 (07)	04 (12)	10 (06)	0,255
Tempo em diálise				
HD (n=177)	28,0±24,0 (1-96)	23,1±15,3 (2-60)	28,9±25,3 (1-96)	0,242
PD (n=14)	23,5±12,5 (6-48)	21,3±15,0 (7-37)	24,1±12,4 (6-48)	0,749
Tipos de Diálise				
Conservador	9 (4,5)	2 (06)	7 (04)	
Hemodiálise	177 (88,5)	28 (85)	149(89)	0,242
Peritoneal	14 (7)	3 (09)	11 (07)	0,749
Tipo de transplante				
HLA I	42 (21)	05 (15)	37 (22)	0,252
HLA II	94 (47)	18 (54)	76 (46)	
HLA III	35 (18)	08 (24)	27 (16)	
Falecido	29 (14)	02 (07)	27 (16)	
Etiologia IRC				
GNC	50 (25)	06 (18)	44 (26)	0,500
HAS	46 (23)	06 (18)	40 (24)	
DM	11 (06)	01 (03)	10 (06)	
PNC	06 (02)	01 (03)	05 (03)	
Outros e indet.	87 (44)	19 (58)	68 (41)	
UDEV	5 (2,5)	0 (00)	5 (03)	0,593
DST	23 (11,5)	5 (15)	18 (10)	0,549
CMV pré-tx positiva	180 (90)	31(94)	149 (89)	0,539
Hepatite B	5 (2,5)	1 (03)	4 (02)	1,00
Hepatite C	13 (6,5)	1(03)	12(07)	0,480
HIV positivo	00	00	00	

MÉDIA ± DESVIO PADRÃO (MÍNIMO – MÁXIMO)

***Valor p (HHV8 positivo vs. negativo)**

Em relação aos receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8, 5 (15%) relatavam já terem apresentado DST e dos soronegativos, 18 (10%) também apresentaram DST previamente, não sendo estatisticamente significante esta diferença. Nenhum paciente que havia sido usuário de drogas endovenosas (UDEV) apresentou sorologia positiva para HHV-8 e dos soronegativos para HHV-8, 5 (3%) relataram UDEV previamente **(Tabela 4)**.

Quanto a outras infecções virais avaliadas, nenhum paciente apresentou sorologia positiva para HIV. A hepatite C estava presente conjuntamente com o HHV-8 em 3,03% dos doentes, enquanto que 12 (7,18%) pacientes soronegativos para HHV-8 apresentavam sorologia positiva para hepatite C (p=0,480) **(Tabela 4)**.

Quando se analisou a freqüência da hepatite B, havia co-infecção pelo HHV-8 em 3,03% dos doentes, e nos pacientes que não possuíam sorologia positiva para HHV-8, o vírus da hepatite B foi encontrado em 2,39% destes, não sendo esta diferença estatisticamente significante (p=1,00) **(Tabela 4)**.

No pré-transplante foram avaliados todos os receptores em relação à sorologia para Citomegalovírus e foi encontrada uma soropositividade concomitante ao HHV-8 em 31 dos 33 pacientes (94%) **(Tabela 4)**.

Nos pacientes soropositivos antes do transplante renal para HHV-8 foi avaliado o esquema de imunossupressão inicial e não houve significância estatística entre os imunossupressores usados. Os imunossupressores mais utilizados foram a ciclosporina (15 pacientes), azatioprina (15 pacientes) e tacrolimo (15 pacientes). Seguidos do micofenolato mofetil (11 pacientes), rapamicina (5 pacientes), daclizumab (4 pacientes), basiliximab (3 pacientes) e FTY 720 (2 pacientes). Nenhum dos pacientes soropositivos para HHV-8 no período pré- transplante renal usou everolimo. Todos os pacientes receberam prednisona (Meticorten®). A tabela 5 mostra o esquema imunossupressor utilizado pelos receptores infectados e não infectados pelo HHV-8.

Tabela 5. Imunossupressão inicial nos receptores de transplante renais infectados e não infectados pelo HHV-8.

	Total de Receptores de transplante renal	HHV8 pré-tx positivo	HHV8 pré-tx negativo	Valor p
N (%)	200 (100)	33 (16)	167 (84)	---
Ciclosporina	113 (57)	15 (45)	98 (59)	0,182
Tacrolimo	63 (32)	15 (45)	48 (29)	0,067
Azatioprina	100 (50)	15 (45)	85 (51)	0,704
Micofenolato Mofetil	61 (31)	11 (33)	50 (30)	0,836
Rapamicina	22 (11)	05 (15)	17 (10)	0,541
Everolimo	10 (05)	00 (00)	10 (06)	0,220
FTY720	17 (09)	02 (06)	15 (09)	0,744
Basiliximab	14 (07)	03 (09)	11 (07)	0,707
Daclizumab	12 (06)	04 (12)	08 (05)	0,115

Após o transplante renal foram avaliadas todas as infecções ocorridas nos receptores ao longo de dois anos. Em relação às infecções virais, 29 pacientes apresentaram diagnóstico clínico de herpes simples sendo que dois pacientes do grupo soropositivo para HHV-8 apresentaram herpes simples oral. O herpes zoster foi encontrado em 5 pacientes HHV-8+, principalmente o unidermatômico (três pacientes). Nenhum paciente soropositivo para HHV-8 apresentou quadro de varicela. Em relação a essas infecções virais analisadas não foi encontrada diferença estatisticamente significante **(Tabela 6)**.

Dois receptores soropositivos para HHV-8 apresentaram infecção primária pelo Citomegalovírus. Onze pacientes apresentaram infecção secundária pelo Citomegalovírus sendo que dois eram soropositivas também para HHV-8 **(Tabela 6)**.

As infecções invasivas pelo Citomegalovírus foram mais comuns ocorrendo em 10 pacientes, mas esta forma de doença ocorreu em apenas um paciente do grupo soropositivo para HHV-8 que apresentou doença invasiva no intestino. No grupo soronegativo, a doença foi encontrada no esôfago em dois doentes, no estômago em seis e no pulmão em um doente. Não foi encontrada nenhuma infecção por Citomegalovírus invasiva nos rins **(Tabela 6)**.

Em relação às outras infecções virais concomitantes ao HHV-8 foi encontrado apenas um caso de HPV. As infecções causadas por Adenovírus, Poliomavírus, Parvovírus e infecção pelo Epstein-Baar ocorreram apenas no grupo soronegativo para HHV-8. Não encontramos nenhum caso de infecção pelo HHV-6 e HHV-7 **(Tabela 6)**.

Tabela 6. Análise da presença das infecções virais em cada grupo de HHV-8.

	Total de receptores de transplante renal	**HHV8 positivo**	**HHV8 negativo**	**Valor p**
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Herpes Simples	29	2	27	0,685
Herpes Zoster	25	5	20	0,773
Varicela	3	0	3	1,000
Infecção por CMV				
Primário	4	2	2	0,128
Secundário	11	2	9	0,603
Invasivo	10	1	9	0,702
HPV	4	1	3	1,000
Adenovírus	1	0	1	1,000
Poliomavírus	1	0	1	1,000
Parvovirus	2	0	2	1,000
Epstein-Baar	1	0	1	1,000

Quanto às infecções bacterianas ocorridas no período pós-transplante, as urinárias foram mais comuns nos pacientes soropositivos para HHV-8 (48,5%) do que nos soronegativos (34,7%), sem diferença estatística (p=0,167). As pielonefrites histológicas com urocultura negativa foram encontradas em apenas um paciente do grupo soropositivo **(Tabela 7)**.

As pneumonias foram a segunda infecção mais freqüente, sendo encontradas em 29 pacientes. As pneumonias causadas por bactérias foram a etiologia mais comum em ambos os receptores positivos e negativos. Um receptor soropositivo para HHV-8 apresentou pneumonia pelo helminto ***Strongilóides stercoralis*** e outro soronegativo apresentou pneumonia por Citomegalovírus **(Tabela 7)**.

As infecções de sítio cirúrgico foram encontradas em quatro pacientes soropositivos para HHV-8 e em treze pacientes soronegativos para HHV-8. Também não houve diferença estatística (p=0,491) **(Tabela 7)**.

A sinusite foi diagnosticada em dois pacientes e a traqueobronquite em três pacientes soropositivos para HHV-8 **(Tabela 7)**.

Dezenove pacientes apresentaram diarréia após o transplante sem etiologia definida sendo quatro do grupo soropositivo para HHV-8 **(Tabela 7)**.

A tuberculose foi encontrada em 1,5% dos pacientes receptores de transplante renal. Não foi encontrado nenhum paciente com a forma pulmonar. Dois pacientes do grupo soronegativo apresentaram tuberculose na forma extra-pulmonar (peritôneo e meníngeo) e foi visto apenas um paciente com diagnóstico de tuberculose miliar no grupo soropositivo para HHV-8 **(Tabela 7).**

Tabela 7. Análise da freqüência da presença das infecções gerais em cada grupo de HHV-8.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	Valor p
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Infecções gerais				
ITU	74	16	58	0,167
PNA (histológica)	14	1	13	0,473
Pneumonia	29	4	25	0,866
CMV	1	0	1	1,000
Pneumocystis jiroveci	0	0	0	---
Fúngica	0	0	0	---
Bacteriana	27	3	24	0,580
Helminto (Strongilóides stercoralis)	1	1	0	0,420
Infecção de sítio cirúrgico	17	4	13	0,491
Sinusite	19	2	17	0,544
Traqueobronquite	20	3	17	1,000
Diarréia	19	4	15	1,000
Tuberculose	3	1	2	1,000

Quanto às infecções fúngicas analisadas, a candidíase oral foi diagnosticada em 20 pacientes, mas somente um paciente era do grupo soropositivo para HHV-8. Não foi encontrado nenhum paciente com candidíase invasiva. Feohifomicose e histoplasmose foram diagnosticadas apenas no grupo soronegativo. Não se obteve nenhum diagnóstico de criptococcose, aspergilose e mucormicose nos pacientes estudados **(Tabela 8)**.

Tabela 8. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções fúngicas em cada grupo de HHV-8.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	Valor p
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Fúngica				
Candidíase oral	20	1	19	0,208
Histoplasmose	1	0	1	1,000
Feohifomicose	1	0	1	1,000

Em relação às infecções endêmicas, a estrongiloidíase foi a infecção mais comum ocorrendo em três pacientes, mas apenas um paciente era do grupo soropositivo para HHV-8. As outras infecções endêmicas como esquistossomose, leishmaniose e paracoccidioidomicose foram diagnosticadas somente em paciente soronegativo para HHV-8. Não houve nenhum caso de ascaridiose, leptospirose, dengue e toxoplasmose **(Tabela 9)**.

Tabela 9. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções endêmicas em cada grupo de HHV-8.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	Valor p
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Endêmicas				
Estongiloidose	3	1	2	0,420
Esquistossomose	1	0	1	1,000
Leishmaniose	1	0	1	1,000
Paracoccidioidomicose	1	0	1	1,000

Os pacientes que apresentaram febre de origem indeterminada foram acompanhados até o diagnóstico definitivo. Foram encontrados 15% dos pacientes receptores de transplante renal com este diagnóstico sendo que a maioria dos pacientes

obteve os seguintes diagnósticos finais por ordem de freqüência: citomegalovirose, neoplasia, tuberculose e histoplasmose. Dos pacientes soropositivos para HHV-8 com febre de origem indeterminada, cinco apresentaram citomegalovirose como diagnóstico definitivo, três neoplasias após o transplante e um, tuberculose **(Tabela 10)**.

Tabela 10. Análise da freqüência de febre de origem indeterminada em cada grupo de HHV-8 e seu diagnóstico final.

	Total	**HHV8 positivo**	**HHV8 negativo**	**Valor p**
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Febre de origem indeterminada				
CMV	17	5	12	0,166
Tuberculose	3	1	2	0,420
Neoplasia e Doença linfoproliferativa	9	3	6	0,170
Histoplasmose	1	0	1	1,000

Cinqüenta e nove pacientes (30%) apresentaram episódios de rejeição aguda sendo que, 33% eram do grupo dos pacientes soropositivos e 29% no grupo dos soronegativos. Destes pacientes, a maioria (26%) foi tratada com Prednisolona 1g/dia por 3-5 dias (pulsoterapia com Solu-medrol®), seguidos do uso de OKT3 (3%). Somente um paciente recebeu timoglobulina. Não houve diferença estatística entra os grupos soropositivos e soronegativos para HHV-8. No pacientes soropositivos para HHV-8, 30% receberam como tratamento anti-rejeição, pulsoterapia com Solu-medrol® e 3% receberam OKT3. Nenhum paciente soropositivo recebeu timoglobulina **(Tabela 11)**.

Tabela 11. Avaliação de rejeição aguda nos pacientes soropositivos para HHV-8 pré-transplante.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	Valor p
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	---
Rejeição aguda	59 (30)	11 (33)	48 (29)	0,664
Solumedrol	52 (26)	10 (30)	42 (25)	0,644
Timoglobulina	1 (01)	0 (00)	1 (01)	1,000
OKT3	6 (03)	1 (03)	5 (03)	1,000

Neste estudo, vinte e quatro (12%) pacientes perderam o enxerto renal sendo que, 21% destes pertenciam ao grupo soropositivo para HHV-8 e somente 10% eram do grupo soronegativo. A análise deste dado mostrou uma tendência marginal à significância (p=0,084) **(Tabela 12)**.

Nove pacientes foram a óbito até o final do estudo e nenhum destes pacientes pertenciam ao grupo soropositivo **(Tabela 12)**.

Tabela 12. HHV8 pré-transplante e perda do enxerto e óbito após transplante renal.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	P
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	
Perda do enxerto *	24 (12)	7 (21)	17 (10)	P=0,084
Óbito	9 (05)	0 (00)	9 (05)	P=0,360

As neoplasias foram avaliadas após o transplante renal e foram diagnosticadas em 9% dos pacientes do grupo soropositivo e 3% no grupo soronegativo (p=0,128). Doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) foi diagnosticada em apenas um paciente soronegativo. Não houve nenhum caso de Sarcoma de Kaposi neste estudo **(Tabela 13)**.

Tabela 13. HHV8 pré-transplante e neoplasia após transplante renal.

	Total	HHV8 positivo	HHV8 negativo	P
N (%)	200	33 (16,5)	167 (83,5)	
Neoplasia pós-transplante	8 (04)	3 (09)	5 (03)	P=0,128
PTLD	1 (01)	0 (00)	1 (01)	P=1,00
Sarcoma de Kaposi	0 (00)	0 (00)	0 (00)	

5.4. Prevalência da infecção primária pelo HHV-8 após o transplante renal (soroconversão)

Dos 167 pacientes soronegativos para HHV-8 previamente ao transplante renal, onze (11/167 – 6,58%) soroconverteram. Ao final dos seis meses após o transplante obtivemos uma taxa global de 22% (44/200) de soropositividade nos receptores de transplante renal **(Tabela 14)**. A maioria dos pacientes (6/11) soroconverteu dentro dos três primeiros meses. Somente um dos pacientes que soroconverteu possuía o doador soropositivo **(Tabela 15)**.

Tabela 14. Soroprevalência pelo HHV-8 em 200 receptores antes e após o transplante renal.

Época da sorologia	HHV-8 POSITIVO	HHV-8 NEGATIVO	TOTAL
Sorologia pré-transplante	33(16,5%)	167	200
Sorologia após o transplante	11 (6,58%)	156	167
Soroprevalência após o transplante	44 (22%)	156	200

Tabela 15. Tempo de soroconversão após o transplante

Número de pacientes	Doador relacionado	Segunda amostra (3 meses após transplante)	Terceira amostra (seis meses após o transplante)
Paciente 1 (M.B.G.)	NEGATIVO	SIM	NÃO
Paciente 2 (J.V.S)	NEGATIVO	SIM	NÃO
Paciente 3 (A.C.C)	NEGATIVO	NÃO	SIM
Paciente 4(J.J.I)	NEGATIVO	NÃO	SIM
Paciente 5 (S.R.F)	NEGATIVO	SIM	NÃO
Paciente 6 (C.Q.S)	NEGATIVO	SIM	NÃO
Paciente 7(H.V)	NEGATIVO	SIM	NÃO
Paciente 8 (J.E.S)	NEGATIVO	NÃO	SIM
Paciente 9 (C.M)	**POSITIVO**	SIM	NÃO
Paciente 10 (C.F.C)	NEGATIVO	NÃO	SIM
Paciente 11 (M.A.S)	NEGATIVO	NÃO	SIM
TOTAL (11 Pacientes)	1 Paciente	6 Pacientes	5 Pacientes

5.4.1. Avaliação demográfica e de fatores de risco nos pacientes que soroconverteram

Destes onze pacientes que soroconverteram, 55% pertenciam ao sexo masculino e 45% eram do sexo feminino. A idade variou de 23 a 48 anos e a média foi de 35,5 anos com desvio-padrão de ± 8,4 anos.

Desta subpopulação, todos os pacientes se declaravam heterossexuais, nenhum relatou uso de preservativos durante relação sexual, somente um paciente apresentou DST e relatou uso de drogas endovenosas, antes do transplante. Nenhum dos onze pacientes apresentava sorologia positiva para HIV e Hepatite B. Em relação à hepatite C, somente um paciente apresentou sorologia positiva concomitante ao HHV-8, na avaliação realizada antes do transplante. Dez pacientes possuíam sorologia positiva pré-transplante para citomegalovírus **(Tabela 16)**.

Cinco dos pacientes que soroconverteram receberam transfusão pré- transplante e nenhum deles necessitou de transfusão após **(Tabela 16)**.

Todos os pacientes que apresentaram sorologia para HHV-8 após o transplante foram submetidos a tratamento hemodialítico antes do transplante em um período que

variou de um a 84 meses, média de 26,1 meses. Nenhum paciente foi submetido a tratamento dialítico após o transplante **(Tabela 16)**.

Dez (91%) destes receberam rim de doador vivo, sendo que 36% eram HLA I, 45% eram HLA II e 9% eram HLA III. Ao passo que, 9% dos receptores soropositivos haviam recebido transplante renal de doador falecido.

Tabela 16. Análise das variáveis estudadas no grupo de receptores de transplante renal que soroconverteram após o transplante renal.

	HHV8 pos-tx positivo	**HHV8 pos-tx negativo**	**Valor p**
N (%)	11 (07)	156 (93)	---
Idade	35.5±8.4 (23-48)	39.1±12.3 (7+69)	0,340
Sexo			
Masculino	6 (55)	97 (62)	0,750
Feminino	5 (45)	59 (38)	
Homossexual	0 (00)	00	---
Heterossexual	11 (100)	156 (93)	0,643
UDEV	1 (09)	04 (03)	0,292
DST	1 (09)	17 (11)	1,000
Uso de preservativo	0 (00)	00 (00)	---
Hepatite B	0 (00)	04 (03)	1,000
Hepatite C	1 (09)	11 (07)	1,000
HIV+	0 (00)	00 (00)	---
Sorologia CMV pré-tx positiva	10 (91)	139 (89)	1,000
Transfusão pré-transplante	5 (45)	104 (67)	0,193
Transfusão pós-transplante	00(00)	10(06)	0,629
Tempo em diálise	26.1 ± 25.4 (1-84)	28.8 ± 24.6 (1-96)	0,729
Hemodiálise	11 (100)	156 (93)	0,643
Tipo de doador			
VIVO HLAI	4(36)	33 (21)	0,695
HLAII	5 (45)	71 (45)	
HLAIII	1(9)	26 (16)	
FALECIDO	1(9)	26 (16)	

Na análise dos imunossupressores até o diagnóstico de soroconversão pelo HHV-8, a maioria dos pacientes recebeu ciclosporina (7 pacientes) seguidos da azatioprina (6 pacientes). Dois pacientes receberam tacrolimo, dois micofenolato mofetil, dois receberam FTY 720 e dois receberam daclizumab, havendo uma tendência marginal à positividade (p=0,089). Apenas um paciente recebeu os imunossupressores rapamicina e everolimo. Nenhum dos pacientes do grupo que soroconverteu recebeu basiliximab **(Tabela 17)**.

Tabela 17. Imunossupressão inicial e HHV8 pós-transplante.

	HHV8 pré-tx negativo	**HHV8 pós-tx positivo**	**HHV8 pós-tx negativo**	**Valor p**
N (%)	167 (100)	11 (07)	156 (93)	---
Ciclosporina	98 (59)	7 (64)	91 (58)	0,765
Tacrolimo	48 (29)	2 (18)	46 (30)	0,515
Azatioprina	85 (51)	6 (55)	79 (51)	1,000
Micofenolato Mofetil	50 (30)	2 (18)	48 (31)	0,508
Rapamicina	17 (10)	1 (09)	16 (10)	1,000
Everolimo	10 (06)	1 (09)	9 (06)	1,000
FTY720	15 (09)	2 (18)	13 (08)	0,258
Basiliximab	11 (07)	0 (00)	11 (07)	0,618
Daclizumab*	08 (05)	2 (18)	06 (04)	0,089

***** P=0,089

Em relação à sintomatologia relatada nestes pacientes no momento do diagnóstico de soroconversão, o paciente (número 3) sempre se queixava nas consultas de fraqueza principalmente no período da tarde, o paciente 4 relatou artralgia em joelhos, paciente 5 apresentou herpes zoster unidermatômico um mês antes da soroconversão, paciente 7 apresentou infecção do trato urinário por *Klebsiella pneumoniae* e infecção uretral por *Staphylococcus aureus* e finalmente o paciente número 8 apresentou rash cutâneo macropapular difuso sem nenhum outro sinal e sintoma associado como, por exemplo, febre, mal estar, linfoadenomegalias ou hepatoesplenomegalia, durando em torno de uma semana. Não foi encontrada a associação com CMV e também, com nenhuma reação

medicamentosa. Os outros pacientes não apresentaram sinais ou sintomas no momento da soroconversão **(Tabela 18)**.

Tabela 18. Avaliação clínica e evolutiva dos pacientes que soroconverteram.

PACIENTES QUE SORO CONVERTERAM	INFECÇÕES tempo após o transplante	SINTOMAS no período da soroconversão	NEOPLASIA tempo após o transplante	REJEIÇÃO tempo após o transplante	SOROLOGIA DOADOR	SOROLOGIA tempo após o transplante	PCR	PERDA DO ENXERTO
Paciente1 (M.B.G)	1 mês após o transplante (ISC por enterococcus e klebsiella ESBL)	Não	Não	Não	Negativo	Lítico/ 3 meses	Negativo	Não
Paciente 2 (J.V.S)	Não	Não	Não	Não	Negativo	Lítico/3 meses	Negativo	Não
Paciente 3 (A.C.C)	Não	Fraqueza no período da tarde	Não	Não	Negativo	Lítico/3 meses	Negativo	Não
Paciente 4 (J.J.I)	Não	Artralgia em joelhos	Neoplasia de mama (1 ano e 7 meses)	Não	Negativo	Lítico/3 meses	Negativo	Não
Paciente 5 (S.R.F)	Não	Herpes zoster (5M APÓS TX)	Não	Não	Negativo	Lítico/3 meses	Negativo	Não
Paciente 6 (C.Q.S)	Não	Não	Não	Não	Negativo	Lítico/LANA 6 meses	Negativo	Não
Paciente 7 (H.V)	PNA Histológica (15 DIAS) CMV primário (1MÊS)	ITU por Klebsiella Infecção uretral por Staphylococcus aureus	Não	Sim -solumedrol (6 dias) - OKT3 (12 dias)	Negativo	Lítico/6 meses	Negativo	Não
Paciente 8 (J.E.S)	Diarréia	Rash cutâneo macropapular difuso	Não	Sim -solumedrol (6 dias)	Negativo	Lítico/3 meses	Negativo	Não
Paciente 9 (C.M)	Não	Não	Não	Não	Lítico e ELISA Positivos	Lítico/6 meses	Negativo	Não
Paciente 10 (C.F.C)	Não	Não	Não	Sim -solumedrol (2 meses)	Negativo	Lítico/6 meses	Negativo	Sim (rejeição aguda vascular)
Paciente 11 (M.A.S)	PNA histológica (16 dias) ITU por Enterobacter (45 dias)	Não	Não	Sim -solumedrol (2 meses)	Negativo	Lítico/6 meses	Negativo	Não

Outras infecções ocorridas no pós-transplante foram investigadas até a soroconversão dos pacientes que eram previamente soronegativos para HHV-8. Dos onze pacientes que soroconveretram somente um apresentou infecção de sítio cirúrgico por *Klebsiella pneumoniae e Enterococcus SP* (Paciente 1), o paciente 7 que era previamente ao transplante soronegativo para CMV, apresentou doença primária por este vírus. Dois pacientes (número 7 e 11) apresentaram pielonefrite histológica com microabscessos, causadas por *Escherichia coli* e posteriormente, o mesmo paciente (número 11) apresentou infecção do trato urinário por *Enterobacter SP* e por último, o paciente número 8 apresentou quadro de diarréia aquosa sem agente definido. O restante dos pacientes que soroconverteram não apresentaram nenhuma das outras infecções investigadas **(Tabela 19)**.

Somente um dos pacientes que soroconverteu, apresentou neoplasia de mama um ano e sete meses após o transplante. Nenhum paciente apresentou SK até o acompanhamento final dos dois anos após o transplante **(Tabela 18)**.

Quatro pacientes que soroconverteram tiveram diagnóstico de rejeição aguda. Um dos pacientes recebeu tratamento inicial com pulsoterapia com prednisolona, e sendo uma rejeição cortico-resistente, recebeu posteriormente OKT3. Os outros três pacientes receberam tratamento com pulsoterapia com prednisolona. Todos apresentaram rejeição antes da soroconversão para HHV-8. Nenhum paciente recebeu timoglobulina (**Tabela 19)**.

Um paciente perdeu o enxerto por rejeição aguda vascular e nenhum paciente evoluiu para óbito **(Tabela 19)**.

Tabela 19. Avaliação de rejeição aguda, perda do enxerto, óbito e neoplasia nos pacientes que soroconverteram para HHV-8 após o transplante renal.

	HHV8 pós-tx positivo	HHV8 pós-tx negativo	Valor p
N (%)	11 (07)	156 (93)	---
Rejeição aguda	4 (36)	38 (24)	0,471
Pulsoterapia com prednisolona	4 (36)	38 (24)	0,471
OKT3	01 (09)	04 (03)	0,292
Timoglobulina	00 (00)	01 (01)	1,000
Perda do enxerto	01 (09)	16 (10)	1,000
Óbito	00 (00)	09 (06)	0,643
Neoplasia pós-transplante	01 (09)	04 (03)	0,292

5.5. Avaliação global de todos pacientes receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8 pré e pós o transplante.

Tabela 20. Dados comparativos entre 44 pacientes receptores soropositivos (pré-transplante e também, os que soroconverteram) para HHV-8 versus os 156 pacientes que permaneceram com sorologia negativa após o transplante renal.

	HHV8 pré e pós-tx positivos	HHV8 pré-tx negativo	Valor p
N (%)	44	156	
Idade	42,2 ± 13,9	39,1 ± 12,3	0,161
Sexo			
Masculino	27 (61,4)	97 (62,2)	1,000
Feminino	17 (38,6)	59 (37,8)	
Transfusão Pré-transplante			
Nº pacientes	22 (50%)	104 (67%)	0,052
Nº sessão	1,9 ± 0,9	3,3 ± 3,2	0,046
Tipo de transplante			
HLA I	9 (20,5)	33 (21,1)	0,410
HLA II	23 (52,2)	71 (45,5)	
HLA III	9 (20,5)	26 (16,7)	
Falecido	3 (6,8)	26 (16,7)	
Etiologia IRC			
GNC	9 (20,5)	41 (26,3)	0,694
HAS	8 (18,2)	38 (24,4)	
DM	3 (6,8)	8 (5,1)	
PNC	1 (2,3)	5 (3,2)	
Outros e indet.	23 (52,2)	64 (41,0)	
Tratamento dialítico			
Hemodiálise	39 (88,6)	138 (88,5)	1,000
Peritonial	3 (6,8)	11 (7,0)	
Conservador	2 (4,6)	7 (4,5)	
Hepatite B	1 (2,3)	4 (2,6)	1,000
Hepatite C	2 (4,5)	11 (7,0)	0,737
DST	6 (13,6)	17 (10,9)	0,790
UDEV	1 (2,3)	4 (2,6)	1,000

Nas 76 receptoras de transplante renal do sexo feminino 17 apresentavam sorologias positivas para HHV-8 e nos 124 receptores do sexo masculino 27 apresentavam sorologias positivas para HHV-8 **(Tabela 20)**.

Nos pacientes receptores que apresentavam sorologias positivas para HHV-8 a idade variou de 13 anos a 75 anos, apresentando uma média de idade de 42,2 anos **(Tabela 20)**.

Dos 44 receptores que eram HHV-8 soropositivos **(Tabela 20)**, 22 (50%) já haviam recebido pelo menos uma transfusão sangüínea pré-transplante com uma média de 1,9 transfusões e desvio padrão de ± 0,9. Dos 156 pacientes receptores soronegativos para HHV-8, 104 (67%) também já haviam recebido transfusão sangüínea, sendo observada diferença estatística significante entre esses dois grupos (p=0,052 no número de pacientes que receberam transfusões e p= 0,046 na média de transfusões recebidas).

Em relação ao tratamento dialítico, não foi encontrada significância estatística. Dos 44 receptores de transplante que apresentavam sorologia anti-HHV-8 positiva, 6,8% faziam diálise peritoneal e 88,64% dos pacientes eram submetidos à hemodiálise e dois pacientes permaneciam em tratamento conservador **(Tabela 20)**.

Dos 44 pacientes que eram soropositivos para HHV-8, 3 receberam o transplante renal de doadores falecidos e 41 destes receberam rim de doadores vivos, sendo que 9 eram HLA I, 23 eram HLA II e 9 eram HLA III **(Tabela 20)**.

Apenas um paciente apresentava sorologia para Hepatite B antes do transplante e dois para Hepatite C, concomitante ao vírus HHV-8. Seis pacientes soropositivos relataram ter apresentado DSTs antes do transplante e apenas um paciente do grupo soropositivo para HHV-8 fez uso de drogas endovenosas **(Tabela 20)**.

Tabela 21. Imunossupressão inicial nos receptores de transplante renais infectados e não infectados pelo HHV-8.

	HHV8 pré e pós-tx positivo	HHV8 pré-tx negativo	Valor p
N (%)	44	156	
Ciclosporina	22	91	0,390
Tacrolimo	17	46	0,273
Azatioprina	21	79	0,865
Micofenolato Mofetil	13	48	1,000
Rapamicina	6	16	0,586
Everolimo	1	9	0,465
FTY720	4	13	1,000
Basiliximab	3	11	1,000
Daclizumab	6 (14%)	6 (4%)	0,026

Nos pacientes soropositivos para HHV-8 antes e após o transplante renal foi avaliado o esquema de imunossupressão inicial. Os imunossupressores mais utilizados foram a ciclosporina (22 pacientes), azatioprina (21 pacientes) e tacrolimo (17 pacientes). Seguidos do micofenolato mofetil (13 pacientes), rapamicina (6 pacientes), daclizumab (6 pacientes), basiliximab (3 pacientes), FTY 720 (4 pacientes) e everolimo (1%). Somente houve significância estatística quando o paciente recebeu daclizumab (p=0,026). Todos os pacientes receberam prednisona (Meticorten®). A tabela 21 mostra o esquema imunossupressor utilizado pelos receptores infectados e não infectados pelo HHV-8.

Tabela 22. Avaliação de rejeição aguda, perda do enxerto, óbito e neoplasia nos pacientes infectados e não infectados pelo HHV-8 após o transplante renal.

	HHV8 pré e pós-tx positivo	HHV8 pré-tx negativo	Valor p
N (%)	44	156	
Rejeição aguda	15	44	0,335
Solu-medrol®	14	38	0,416
Timoglobulina	0	1	1,000
OKT3	2	4	0,615
Perda do enxerto	8	16	0,188
Óbito	0	9	0,211

Cinqüenta e nove pacientes (30%) apresentaram episódios de rejeição aguda sendo que, 15 pacientes eram soropositivos e 44 soronegativos. Destes pacientes, a maioria (26%) foi tratada com Prednisolona 1g/dia por 3-5 dias (pulsoterapia com Solu-medrol®), seguidos do uso de OKT3 (3%). Somente um paciente recebeu timoglobulina. Não houve diferença estatística entra os grupos soropositivos e soronegativos para HHV-8. No pacientes soropositivos para HHV-8, 31,8% receberam como tratamento anti-rejeição, pulsoterapia com Solu-medrol® e 4,54% receberam OKT3. Nenhum paciente soropositivo recebeu timoglobulina **(Tabela 22)**. Nenhum paciente recebeu tratamento de indução com OKT3 ou timoglobulina.

Neste estudo, vinte e quatro (12%) pacientes perderam o enxerto renal sendo que, 18,2% destes pertenciam ao grupo soropositivo para HHV-8 e somente 10,25% eram do grupo soronegativo **(Tabela 22)**.

Nove pacientes foram a óbito até o final do estudo e nenhum destes pacientes pertencia ao grupo soropositivo **(Tabela 22)**.

Tabela 23. Pacientes soropositivos para HHV-8 e neoplasia após transplante renal.

	HHV8 pré e pós-tx positivo	HHV8 pré-tx negativo	Valor p
N (%)	44	156	
Neoplasia pós-tx	4 (9%)	4 (3%)	0,072
PTLD	0	1	1,000
SK	0	0	0

As neoplasias foram avaliadas após o transplante renal e foram diagnosticadas em 9% dos pacientes do grupo soropositivo e 3% no grupo soronegativo (p=0,072), tendo uma tendência a significância. Doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) foi diagnosticada em apenas um paciente soronegativo. Não houve nenhum caso de Sarcoma de Kaposi neste estudo **(Tabela 23)**.

Tabela 24. Infecções após o transplante renal nos receptores infectados e não infectados pelo HHV-8.

	HHV-8 positivo pré e pós tx	HHV-8 negativo pós tx	Valor p
N(%)	44	156	
Infecções Virais	14 (31,8)	69 (44,2)	0,655
Infecções Bacterianas	40 (90,9)	154 (98,7)	0,278
Infecções Fúngicas	3 (6,8)	19 (12,2)	0,367
Infecções Endêmicas	1 (2,3)	5 (3,2)	0,749

As infecções bacterianas **(Tabela 24)** foram as infecções mais comuns (90,9%) nos receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8, seguidas das infecções virais (31,8%), fúngicas (6,8%) e endêmicas (2,3%).

Das infecções virais, as infecções causadas pelos herpes foram as mais encontradas nos pacientes soropositivos (18,2%), seguidas das citomegaloviroses (11,3%). O HPV foi encontrado em apenas uma paciente **(Tabela 24)**.

As infecções urinárias foram as infecções bacterianas mais diagnosticadas nos receptores de transplante renal HHV8 positivo (45,5%), as infecções de vias aéreas foram encontradas em torno de 20% e as infecções de sítio cirúrgico e diarréias em 11, 4% dos pacientes. Tuberculose foi diagnosticada em apenas um paciente dos receptores soropositivos **(Tabela 24)**.

A candidíase oral foi a infecção fúngica mais encontrada (6,8%) nos pacientes soropositivos e 10,9% nos soronegativos **(Tabela24)**.

Somente um paciente apresentou estrogiloidíase, não sendo encontrada outra infecção endêmica nos pacientes soropositivos para HHV-8 **(Tabela 24)**.

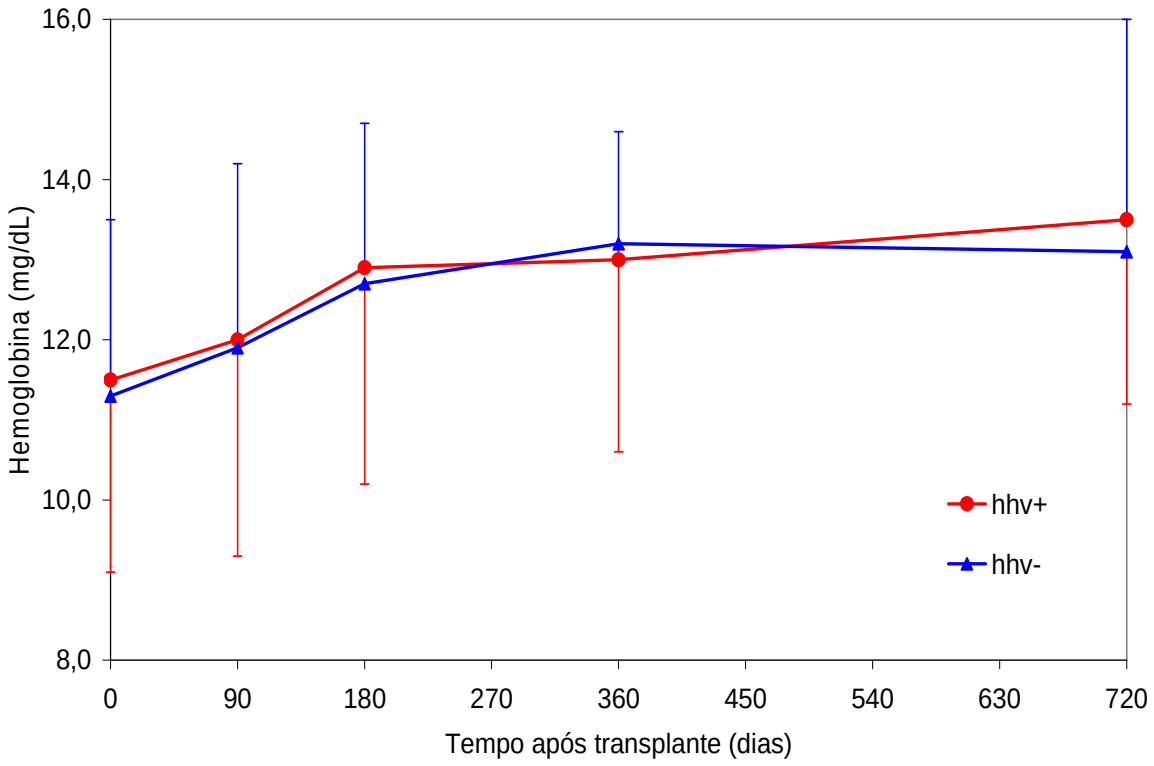
Tabela 25. Análise da freqüência e porcentagem da presença das infecções gerais em cada grupo de HHV-8.

	HHV-8 POSITIVO PRÉ E PÓS TX	HHV-8 NEGATIVO PÓS TX	VALOR p
N(%)	44	156	
INFECÇÕES VIRAIS			
-HERPES (Simples+ Zoster+Varicela)	8 (18,2)	50 (32,0)	0,346
-CMV	5 (11,3)	11 (7,1)	0,650
-OUTROS (HPV+ Adenovírus+Poliomavírus+ Parvovírus+EBV)	1 (2,3)	8 (5,1)	0,508
INFECÇÕES BACTERIANAS			
-ITU (ITU+PNA)	20 (45,5)	68 (43,5)	0,496
-INFECÇÕES DE VIAS AÉREAS (Pneumonia+ Sinusite+Traqueobronquite)	9 (20,5)	58 (37,2)	0,233
-DIARRÉIA	5 (11,4)	14 (8,9)	0,535
-INFECÇÃO DE SÍTIO CIRÚRGICO	5 (11,4)	12 (7,7)	0,539
-TUBERCULOSE	1 (2,3)	2 (1,3)	0,633
INFECÇÕES FÚNGICAS			
-CANDIDÍASE	3 (6,8)	17 (10,9)	0,426
-OUTRAS	0	2 (1,3)	0,450
INFECÇÕES ENDÊMICAS (TODAS)	1 (2,3)	5 (3,2)	0,749

5.5.1. Análise laboratorial do hemograma completo e também da creatinina nos pacientes soropositivos e negativos para HHV-8 após o transplante renal.

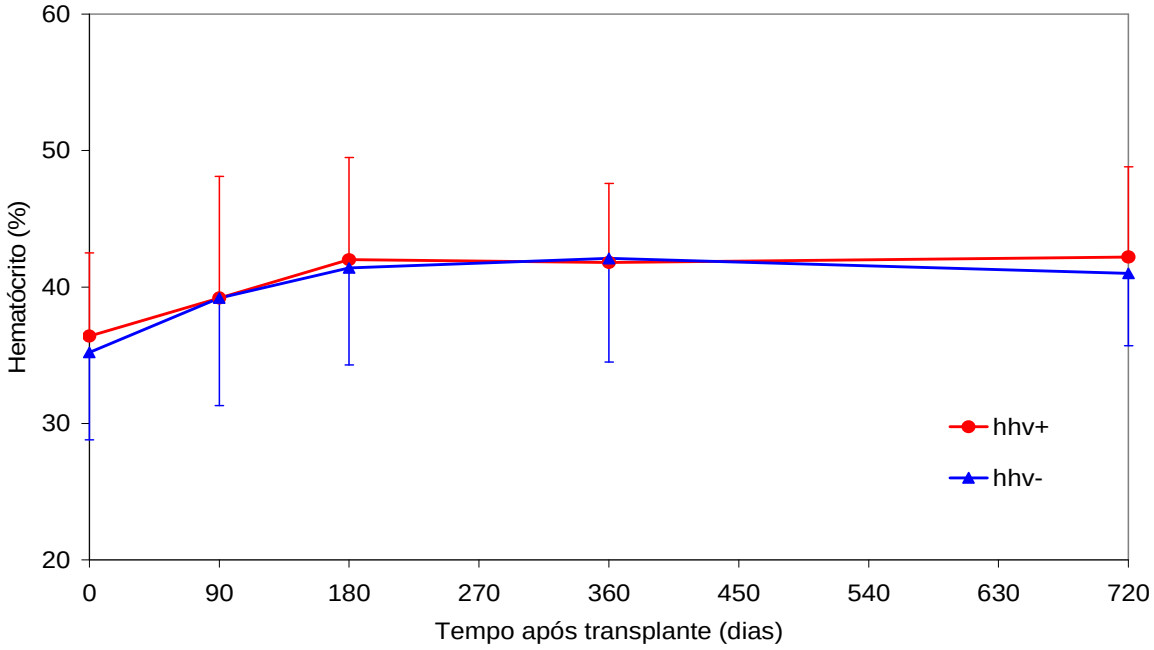
Avaliou-se dados laboratoriais como hemoglobina, hematócrito, leucograma geral, plaquetas e creatinina durante a avaliação pré-transplante, três e seis meses após o transplante e também após um e dois anos nos pacientes previamente soropositivos e nos soronegativos. Não foi encontrada diferença estatística em todas as análises (vide figuras abaixo).

Figura 10. Nível sanguíneo de hemoglobina após transplante renal.



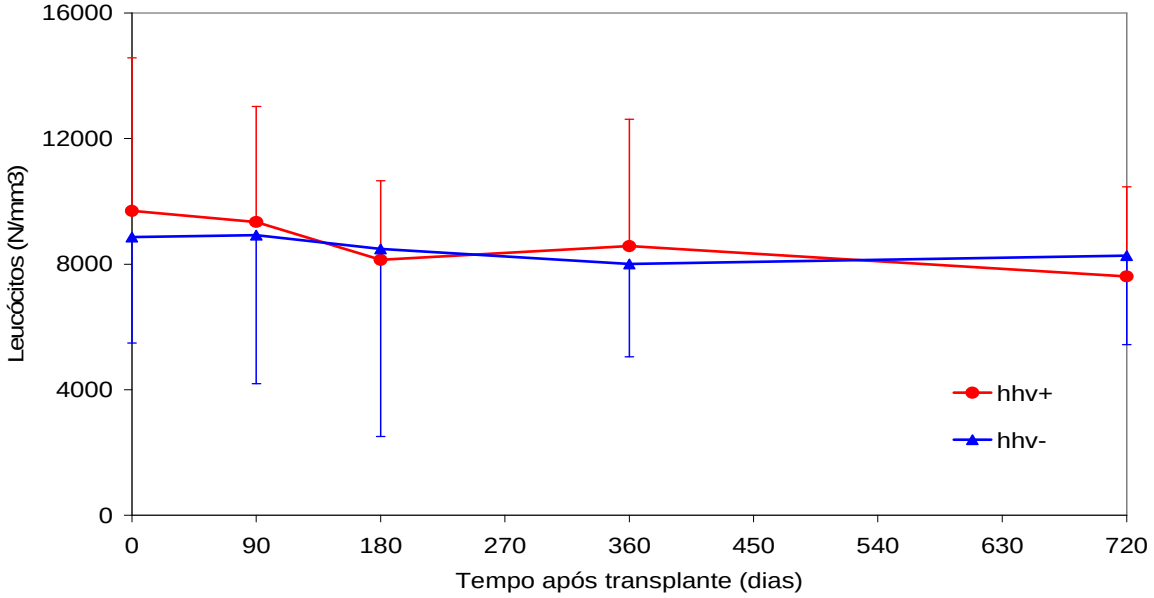
p>0,05 hhv+ vs. hhv- em todas as visitas de estudo

Figura 11. Nível sanguíneo de hematócrito após transplante renal.



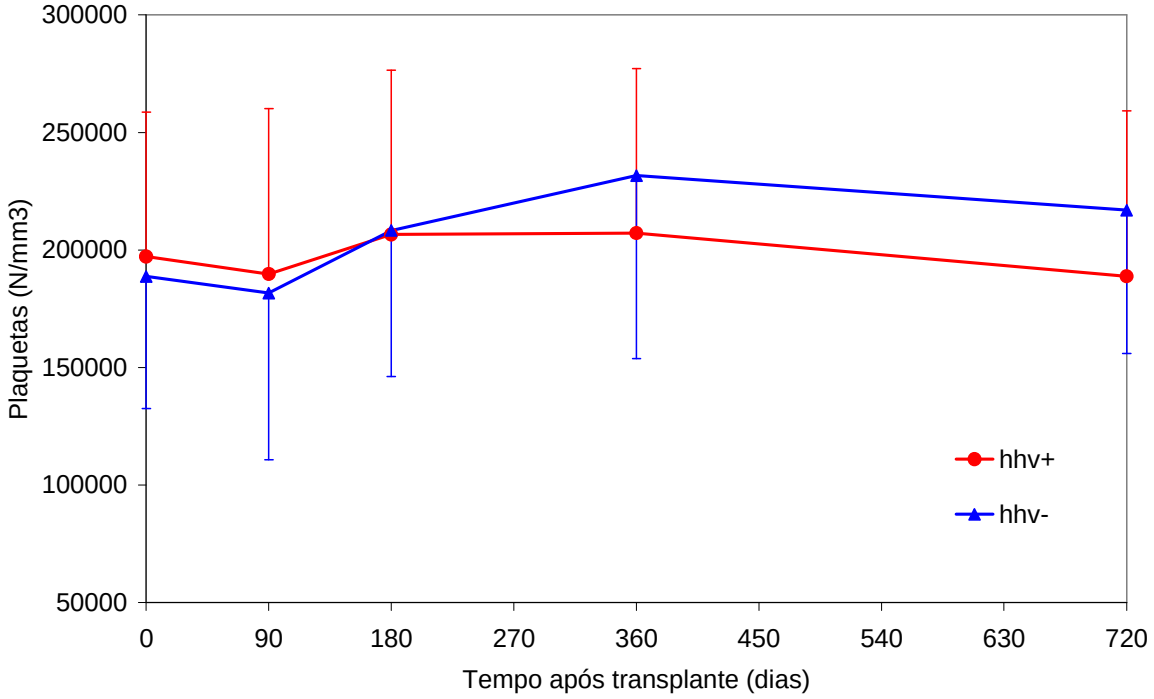
p>0,05 hhv+ vs. hhv- em todas as visitas de estudo

Figura 12. Nível sanguíneo de leucócitos após transplante renal.



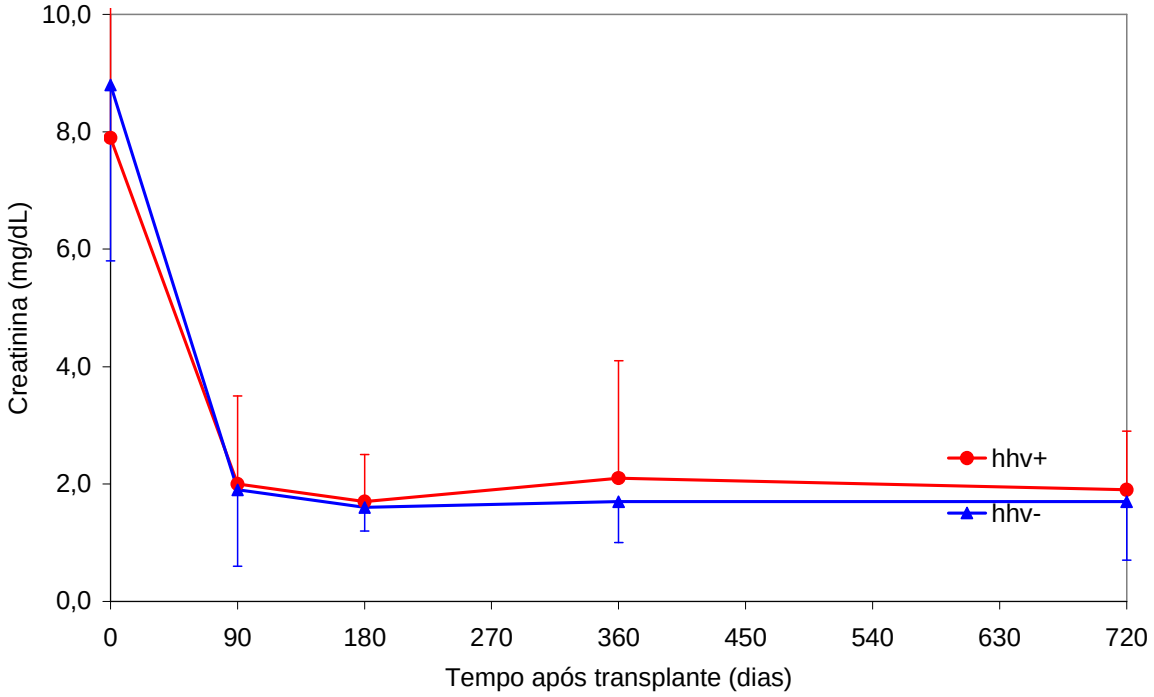
p>0,05 hhv+ vs. hhv- em todas as visitas de estudo

Figura 13. Nível sanguíneo de plaquetas após transplante renal.



p>0,05 hhv+ vs. hhv- em todas as visitas de estudo

Figura 14. Nível sérico de creatinina após transplante renal.



p>0,05 hhv+ vs. hhv- em todas as visitas de estudo

5.6. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8.

5.6.1. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 antes do transplante renal.

O método IFA, para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA), detectou nos receptores e doadores de transplante renal 1,75% de positividade e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica 11% de positividade.

Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus 2,75% dos soros foram reagentes.

Nos doadores de transplante renal, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) detectou 2,0% de positividade e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica 7,5% de positividade. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus 3% dos soros foram reagentes.

Nos receptores de transplante renal, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) detectou 1,5% de positividade e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica 14,5% de positividade. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus 3,5% dos soros foram reagentes.

Tabela 26. Análise global dos resultados obtidos com os ensaios de IFA-LÍTICO, IFA-LANA e ELISA-LÍTICO para a pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em população de pacientes doadores e receptores antes do transplante renal.

Pacientes	N	IFA-LÍTICO	IFA-LANA	ELISA-LÍTICO
Doadores	200	15 (7,5%)	4 (2%)	6 (3,0%)
Receptores	200	29 (14,5%)	3 (1,5%)	7 (3,5%)

N= número total de pacientes

O teste IFA-LÍTICO apresentou, isoladamente, o melhor desempenho, sendo positivo em 44 amostras estudadas (70% do total das amostras consideradas positivas neste estudo).

Figura 15. Número de amostras soropositivas ao HHV-8 nos pacientes receptores de transplante renal de acordo com os testes sorológicos utilizados.

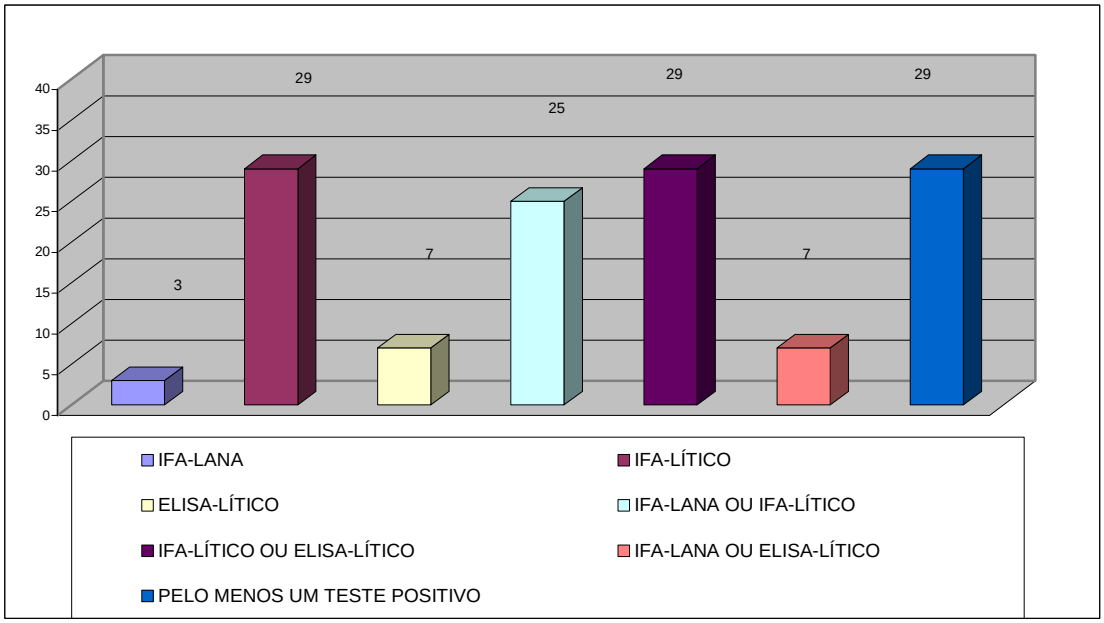
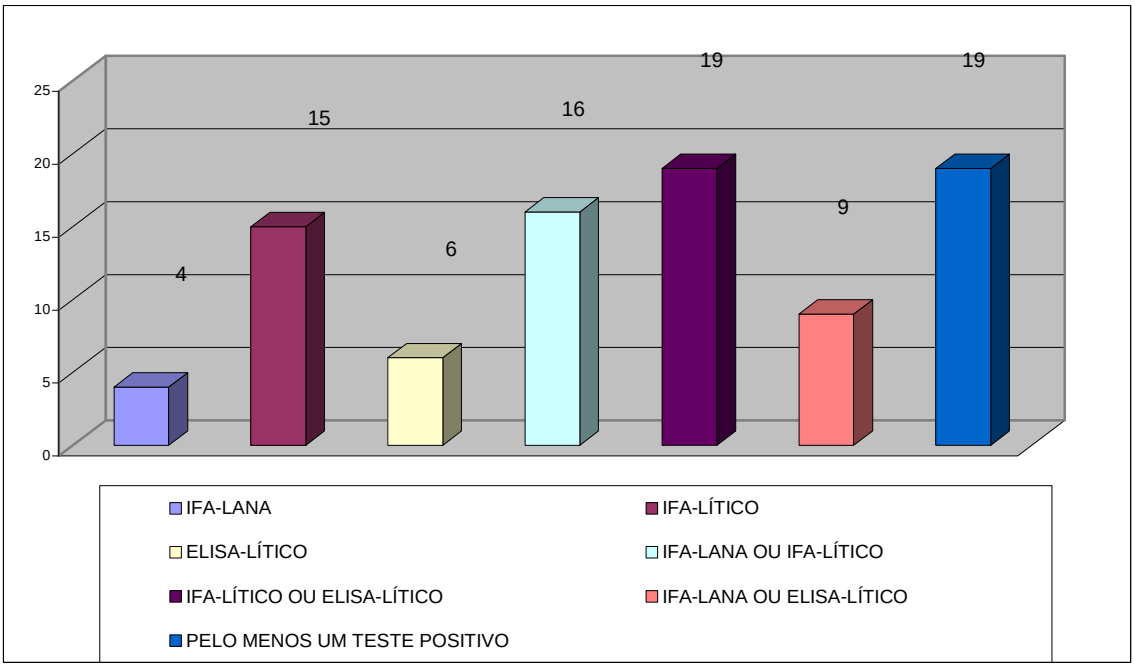


Figura 16. Número de amostras soropositivas ao HHV-8 nos pacientes doadores de transplante renal de acordo com os testes sorológicos utilizados.



Os doadores de transplante renal somente obtiveram uma única amostra sorológica no dia do transplante e dos 19 pacientes que foram soropositivos 5 receptores relacionados já apresentavam soropositividade para HHV-8 no dia do transplante. Todos os receptores que apresentavam doador soropositivo para HHV-8 foram acompanhados mensalmente através dos três métodos sorológicos e apenas um receptor soroconverteu nos primeiros seis meses após o transplante.

Tabela 27. Acompanhamento dos receptores que possuíam doador soropositivo antes do transplante.

DOADORES SOROPOSITIVOS	Receptores relacionados aos doadores soropositivos pré-transplante	Receptores relacionados aos doadores soropositivos pós-transplante
19 PACIENTES	4 PACIENTES	1 PACIENTE

Os receptores previamente soropositivos ao transplante se mantiveram soropositivos para HHV-8 após o transplante, durante os seis meses de avaliação sorológica.

5.6.2. Desempenho dos métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 após o transplante renal.

Nos onze receptores que se tornaram soropositivos após o transplante renal, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) foi detectado em apenas um paciente e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica em onze pacientes. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus nenhum dos soros foi reagente.

Tabela 28. Análise global dos resultados obtidos com os ensaios de IFA-LÍTICO, IFA-LANA e ELISA-LÍTICO para a pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em população de pacientes receptores após o transplante renal

NÚMERO DE PACIENTES	DOADOR RELACIONADO	IFA-LÍTICO	IFA-LANA	ELISA-LÍTICO
PACIENTE 1 (M.B.G.)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 2 (J.V.S)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 3 (A.C.C)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 4 (J.J.I)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 5 (S.R.F)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 6 (C.Q.S)	NEGATIVO	SIM	SIM	NÃO
PACIENTE 7 (H.V)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 8 (J.E.S)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 9 (C.M)	**LÍTICO E ELISA POSITIVOS**	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 10 (C.F.C)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
PACIENTE 11 (M.A.S)	NEGATIVO	SIM	NÃO	NÃO
TOTAL (11 PACIENTES)	1 PACIENTE	11 PACIENTES	1 PACIENTE	O PACIENTE

5.6.3. Desempenho do método de PCR para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8.

Foram avaliadas, no total, 139 amostras de soros dos pacientes receptores e doadores de transplantes renais infectados pelo HHV-8 ou com possibilidade de tê-lo. De todas as amostras analisadas apenas uma foi positiva, sendo uma amostra de um dos doadores soropositivos. Duas amostras foram fracamente positivas (receptor relacionado a um doador soropositivo para HHV-8 e de um paciente que soroconverteu), mas estas amostras não foram consideradas. Em todas as amostras dos receptores soropositivos pré-transplante foram realizadas a PCR, sendo que em nenhuma foi positiva.

Nos doadores de transplante renal soropositivos foram realizadas somente uma única amostra coletada no dia do transplante sendo encontrada apenas uma amostra positiva. Seus receptores relacionados foram avaliados através da PCR no dia do transplante e após, no terceiro e sexto mês, nenhuma amostra foi positiva **(Tabela 29)**.

Tabela 29. Análise da PCR nos doadores soropositivos para HHV-8 e seus receptores relacionados

PACIENTE DOADOR	PCR-HHV-8 (1 AMOSTRA)	RECEPTORES RELACIONADOS	PCR-HHV-8 (3 AMOSTRAS)
PACIENTE 1	NEGATIVO	PACIENTE 1	NEGATIVO
PACIENTE 2	NEGATIVO	PACIENTE 2	NEGATIVO
PACIENTE 3	NEGATIVO	PACIENTE 3	NEGATIVO
PACIENTE 4	NEGATIVO	PACIENTE 4	NEGATIVO
PACIENTE 5	POSITIVO	PACIENTE 5	NEGATIVO
PACIENTE 6	NEGATIVO	PACIENTE 6	NEGATIVO
PACIENTE 7	NEGATIVO	PACIENTE 7	NEGATIVO
PACIENTE 8	NEGATIVO	PACIENTE 8	NEGATIVO
PACIENTE 9	NEGATIVO	PACIENTE 9	NEGATIVO
PACIENTE 10	NEGATIVO	PACIENTE 10	NEGATIVO
PACIENTE 11	NEGATIVO	PACIENTE 11	NEGATIVO
PACIENTE 12	NEGATIVO	PACIENTE12	NEGATIVO
PACIENTE 13	NEGATIVO	PACIENTE 13	Fracamente positivo
PACIENTE 14	NEGATIVO	PACIENTE 14	NEGATIVO
PACIENTE 15	NEGATIVO	PACIENTE 15	NEGATIVO
PACIENTE 16	NEGATIVO	PACIENTE 16	NEGATIVO
PACIENTE 17	NEGATIVO	PACIENTE 17	NEGATIVO
PACIENTE 18	NEGATIVO	PACIENTE 18	NEGATIVO
PACIENTE 19	NEGATIVO	PACIENTE 19	NEGATIVO

Todas as amostras dos pacientes que soroconverteram coletadas no dia do transplante, e também, com três e seis meses após, foram feitas as análises da PCR e nenhuma amostra foi positiva **(Tabela 30)**.

Tabela 30. Análise da PCR nos pacientes que soroconverteram para HHV-8 após o transplante renal

NÚMERO DE PACIENTES	DOADOR RELACIONADO (PCR)	PCR HHV-8
PACIENTE 1 (M.B.G.)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE2 (J.V.S)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 3 (A.C.C)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 4(J.J.I)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 5 (S.R.F)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 6 (C.Q.S)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 7(H.V)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 8 (J.E.S)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 9 (C.M)	NEGATIVO	NEGATIVO
PACIENTE 10 (C.F.C)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO
PACIENTE 11 (M.A.S)	NÃO REALIZADO	NEGATIVO

5.6.3.a. Controle externo das amostras de PCR

Avaliando a quantidade de DNA o nosso controle tem 1,38 ng/uL de DNA (diluído 1/10) e a média das amostras deste estudo foi de 1,62 ng/uL; portanto, a quantidade de DNA não interferiu nos resultados.

Foi realizado um controle externo interlaboratorial, realizado no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo do Dr. Cláudio Pannuti onde 2 amostras (143 - 3,47 ng/uL de DNA e 117B - 9,40 ng/mL de DNA confirmaram negativas) e nosso controle positivo 1/10 deu 4.936 cópias/uL em técnica de PCR por Real time.

6. DISCUSSÃO DO DOUTORADO

A soroprevalência do HHV-8 na população geral não é elevada quando comparada com os outros vírus da família *Herpesviridae.* A infecção pelo HHV-8 apresenta freqüência e distribuição variáveis, de acordo com a região geográfica e os grupos populacionais estudados. A soroprevalência é mais elevada em países da África (acima de 50%), moderada na Itália e menor em outros países ocidentais[97].

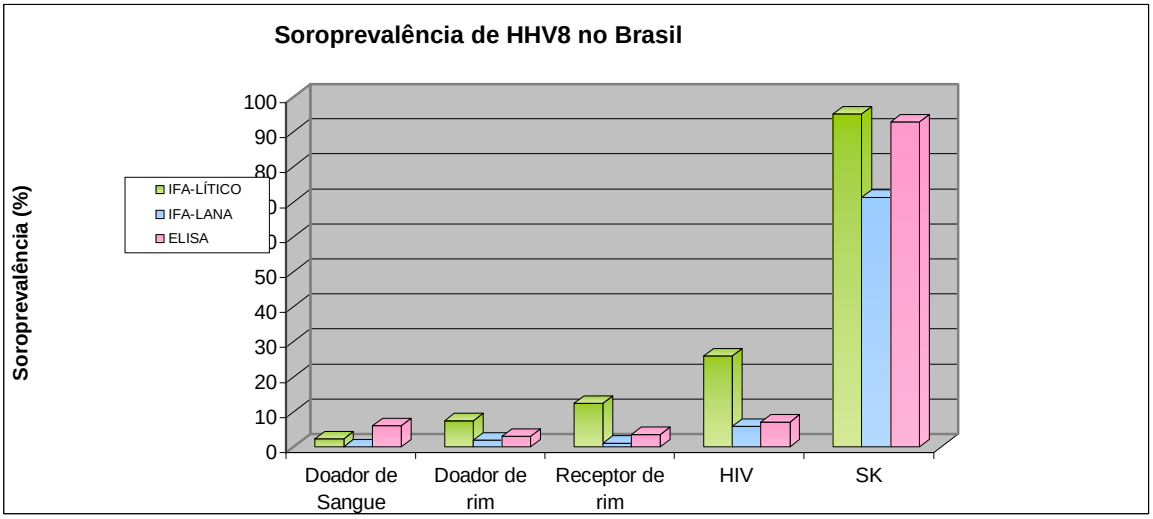
No Brasil, a prevalência do HHV-8 é variável dependendo da população estudada e do método sorológico utilizado. Estudo realizado em pacientes HIV-negativo/SK-negativo mostrou prevalência de 3,7% e em doadores de sangue de 4,6%[102]. Caterino-De-Araújo et al.[103] analisaram 81 amostras de soros de Banco de Sangue e 81 soros de indivíduos infectados pelo HIV e relataram 7,4% e 30,4% de soroprevalência respectivamente.

Souza et al[104] descreveram que a prevalência da infecção causada pelo HHV-8 em São Paulo foi de 88% nos casos de SK, 18% na população infectada pelo HIV e de 2,2% no grupo de DSTs, através dos métodos ELISA ORF 65 e IFI-LANA, utilizando a linhagem celular BCBL-1.

Outro estudo realizado no Brasil, com pacientes HIV+ com e sem SK, mostrou soroprevalência de 97,4% e 26% respectivamente[223]. Pierroti et al.[60] avaliaram a prevalência da infecção pelo HHV-8 em pacientes infectados pelo HIV no município de Santos e encontraram uma taxa de 13,9%, sendo significantemente maior no sexo masculino e entre HSH.

No estudo atual, realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da UNIFESP/EPM foram avaliados 400 pacientes (200 receptores e 200 doadores respectivos), sendo encontrada uma taxa de prevalência da infecção pelo HHV-8, antes do transplante, de 16,5% (33 positivos em 200 pacientes receptores) nos receptores de transplante renal e 9,5% (19 em 200 doadores) nos doadores.

Figura 17. Dados gerais de HHV-8 no Brasil de acordo com diversos estudos sorológicos (60,104,209)



A figura 17 ilustra a comparação da soroprevalência do HHV-8 nas diversas populações estudadas utilizando três métodos distintos e nota-se que na população de doadores de sangue o método que mais identificou o vírus foi o Elisa (6,1%), seguido do IFA-LÍTICO (2,4%), e em nenhum paciente foi detectado vírus através do LANA. Nos receptores e doadores de transplante renal o método com maior soropositividade foi o IFA-LÍTICO (14,5% e 7,5% respectivamente), seguido do Elisa (3,5% e 3%) e por último o IFA-LANA (1,5% e 2%). Nos pacientes co-infectados pelo HIV e HHV-8 encontrou-se 26% de soropositividade com IFA-LÍTICO, 7,2% com Elisa e 5,8% com IFA-LANA. Por último, o trabalho realizado nos pacientes com SK, o IFA-LÍTICO foi positivo em 95,2%%, Elisa em 92,8% e o IFA-LANA em 71,4% dos pacientes.

Quando se compara a taxa encontrada neste estudo de soroprevalência do HHV-8 que foi realizada nos pacientes transplantados renais (16,5% nos receptores e 9,5% nos doadores), em relação à população de doadores de sangue no Brasil (que é variável de 1,8% a 7,4% devido aos diferentes métodos sorológicos utilizados)[103,104], encontra-se uma taxa bastante elevada de soroprevalência em relação à população geral. Pode-se sugerir que esta população de doadores de transplantes renais possua um risco maior para adquirir o HHV-8, principalmente quando são doadores falecidos por ser uma população mais exposta a riscos[57].

a. Soroprevalência da infecção pelo HHV-8 nos receptores de transplante renal

A literatura relata que a soroprevalência do HHV-8 nos pacientes transplantados é muito variável desde 1,1% na Polônia[224] até 25% no Irã[225] .

No estudo sobre a soroprevalência de anticorpos anti-HHV-8 em receptores de transplante renal em Johanesburgo, na África do Sul, foram analisadas amostras de 430 receptores HIV negativos e a prevalência encontrada foi de 7,3%[226].

Por outro lado, na Suíça[91] a soroprevalência antes do transplante renal em 220 receptores foi de 6,4%.

Na França, durante seis anos de avaliação de 400 pacientes transplantados renais, a sorologia também foi coletada antes do dia do transplante e 32 (8%) destes, já apresentavam anticorpos positivos para HHV-8[81].

Outro estudo também francês[110], através do uso da IFA anti-antígenos da fase lítica, analisou 559 pacientes doadores de sangue, no qual encontraram uma soroprevalência para HHV-8 de 3,2% e em 100 pacientes do grupo de doadores falecidos, do transplante renal, foi encontrada 8% de soropositividade. Os autores atribuem este grande número de doadores de transplantes renais soropositivos, comparados aos doadores de sangue, a uma alta prevalência de outras infecções virais nesta mesma população como, por exemplo, HIV e os vírus das hepatites[57]. Neste mesmo estudo, também foram avaliados 99 receptores de transplante renal encontrando 15,1% de positividade para HHV-8, sendo mais elevada do que no estudo de Francès C. et al[81]. Essa diferença de prevalência ocorrida no mesmo país, provavelmente se deve ao uso de um método sorológico mais sensível na investigação da infecção pelo HHV-8 como, a IFA contra antígenos da fase lítica.

Na Itália, região endêmica do HHV-8, foram analisados 175 receptores de transplante renal obtendo-se uma soroprevalência no pré-transplante de 14,8%, porém a prevalência encontrada na população geral é em torno de 14,9%[93,227].

Outro estudo[228] também realizado na Itália, analisou 97 pacientes transplantados renais antes do transplante, encontrando uma positividade para HHV-8 de 16,5% (16 pacientes em 97).

Em relação a outros tipos de transplante de órgãos sólidos, um estudo recente realizado na França[229], em receptores de transplante cardíaco, analisou 150 pacientes encontrando uma soroprevalência de 2,7% antes do transplante.

Marcelin et al.[230], na França, avaliaram 122 doadores e seus respectivos receptores de transplante de fígado no dia do transplante e encontraram uma

soroprevalência para HHV-8 de 3,3% nos doadores (4 pacientes) e de 2,5% nos receptores (3 pacientes). E na Itália, encontrou-se 15,1% de soropositividade para HHV-8 nos receptores de transplante de fígado, antes do transplante[228].

Em pacientes transplantados de medula óssea na Suíça, foi encontrada uma soroprevalência antes do transplante de 24%[170]. Na França, outro estudo realizado através do LANA, em 200 pares de pacientes (doadores e receptores) transplantados de medula óssea foi observada a soroprevalência no pré-transplante de 14,5% e 10% respectivamente[114].

Quando se comparam os dados deste estudo com os trabalhos realizados na França[81,110] e na Itália[93,227,228], observamos que estas prevalências encontradas nos doadores de transplante renal de 9,5% e de 16,5% nos receptores são muito semelhantes, principalmente, quando se analisa os dados da população de doadores e receptores franceses (8% e 15,1% respectivamente) em relação a sua população geral, que também, apresenta uma soroprevalência muito baixa (3,2%)[110]. Diferentemente do que observamos na população geral italiana, que já apresenta uma soroprevalência elevada em torno de 7 a 25% dependendo da região estudada[180], pois a Itália é um país endêmico em relação ao HHV-8 e conseqüentemente, a população de transplantados também apresentará uma soropositividade para HHV-8 elevada.

b. Soroconversão da infecção pelo HHV-8 nos receptores de transplante renal

Como pouco se sabe sobre a soroconversão da infecção pelo HHV-8 em populações de pacientes transplantados renais no Brasil, este trabalho teve a finalidade de determinar a soroconversão no Hospital do Rim e Hipertensão – UNIFESP/EPM, no período de 25 de abril de 2001 a junho de 2004.

Foi avaliada a soroconversão através da análise dos três métodos sorológicos utilizados previamente como os anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA), anticorpos contra antígenos da fase lítica, e também, o ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus. Estes métodos sorológicos foram realizados no terceiro e sexto mês após o transplante renal, nos receptores que eram previamente ao transplante, soronegativos e possuíam doadores soronegativos para HHV-8. Também foram analisados todos os receptores soronegativos de doadores soropositivos. Dos 167 receptores que eram soronegativos antes do transplante, onze deles se tornaram soropositivos, perfazendo uma taxa de soroconversão de 6,58%. Apenas um dos

receptores que soroconverteu apresentava doador soropositivo antes do transplante. Ao final de seis meses após o transplante renal, obteve-se uma taxa global de soropositividade para o HHV-8 de 22%. A maioria dos pacientes soroconverteu dentro dos três primeiros meses após o transplante (6 em 11 pacientes).

Na Suíça[91], os receptores de transplante renal foram acompanhados no pós transplante, sendo realizada nova sorologia após o primeiro ano de transplante, na maioria dos pacientes (66,5%) enquanto que no restante dos doentes, as sorologias foram feitas entre 4 até 98 meses (média de 16,1 meses) após o transplante, encontrando uma taxa de soroconversão para HHV-8 nestes pacientes de 12% (25 em 206 pacientes). Esta soropositividade aumentou para 17, 7% (soropositivos pré e pós-transplante) em um ano, através do método sorológico ELISA-LÍTICO. Dez receptores que soroconverteram e possuíam mais de uma amostra sorológica foram avaliados em relação ao tempo da soroconversão, sendo observado que a soroconversão ocorreu dentro dos três primeiros meses após o transplante renal, na maioria dos pacientes (oito em dez). Neste estudo foram avaliados apenas seis doadores dos 25 pacientes que soroconverteram e encontraram soropositividade para HHV-8 em 5 deles. Enquanto no estudo atual, apenas um doador era soropositivo para HHV-8 nos onze pacientes que soroconverteram, o que pode significar que haja outras formas de transmissão do HHV-8 após o transplante.

A taxa de soroconversão provavelmente pode ter sido mais elevada no estudo suíço[91] do que no presente estudo devido a vários fatores. Dos vinte e cinco pacientes que soroconverteram, 13 receberam transfusão sangüínea. Doze receptores eram previamente soronegativos para CMV apresentando, desta maneira, doença primária pelo CMV. Agentes infecciosos como citomegalovírus, Epstein-Barr, vírus das hepatites B e C, HIV e herpesvírus 6 e 7 têm efeito imunomodulador, podendo aumentar a suscetibilidade do hospedeiro a outros patógenos[231]. Além de terem recebido uma imunossupressão mais potente, sendo que 52% dos que soroconverteram, receberam pulsoterapia com solumedrol e 32% receberam OKT3[91]. Diferentemente, neste estudo nenhum paciente recebeu transfusão sangüínea após o transplante, 91% apresentavam sorologia para CMV positiva no pré-transplante, 36% receberam tratamento anti-rejeição com solumedrol e apenas um paciente recebeu OKT3.

Milliancourt et al.[96], avaliaram retrospectivamente na França, 287 receptores de transplantes renais previamente soronegativos para HHV-8 e encontraram uma taxa de soroconversão de 2,09% (6 pacientes em 287) no primeiro ano de transplante, sendo mais freqüente no sexo masculino e nos receptores de doadores falecidos. Os doadores

não foram avaliados sorologicamente. Nenhum dos pacientes apresentou manifestações clínicas no período da soroconversão ou desenvolveu SK nos três anos de seguimento[96]. Eles relacionaram a baixa taxa de soroconversão, a falta de sintomatologia e também, a ausência de SK, devido à baixa soroprevalência de HHV-8 da população geral e conseqüentemente, da população de doadores na região estudada.

Na Itália[93,227], em um acompanhamento realizado após o transplante renal, ao longo de dez anos, foi encontrada uma taxa de soroconversão de 9,39% (14 pacientes em 149). As amostras sorológicas (IFA-LÍTICO) dos receptores foram coletadas entre 3 meses e dez anos após o transplante e apenas dois dos 14 pacientes soroconverteram dentro dos seis primeiros meses. Nenhum doador foi estudado. Sete pacientes evoluíram com SK sendo que, seis deles possuíam sorologia positiva antes do transplante e um (7,1%) pertencia ao grupo que soroconverteu.

Outro estudo[228] italiano, onde foram avaliados pacientes transplantados renais e de fígado, as amostras foram coletadas um ano após o transplante em 109 receptores, sendo que 81 pacientes obtiveram uma amostra adicional no primeiro mês após o transplante. Encontrou-se uma taxa de soroconversão de 8,6% (7 pacientes em 81) nos receptores de transplante renal e de 21,4% (6 pacientes em 28) nos receptores de transplante de fígado. Dos 13 pacientes que soroconverteram, 9 tinham uma amostra adicional no primeiro mês após o transplante e em 77,8% (7 pacientes em 9) deles, já possuíam sorologia positiva para anticorpos anti antígenos líticos, neste período após o transplante. Somente oito doadores soronegativos para HHV-8 e seus respectivos receptores também soronegativos foram estudados, permanecendo soronegativos durante o período de avaliação. Neste estudo italiano, 4 (4,1%) receptores de transplante renal apresentaram SK após o transplante e três destes pacientes já possuíam sorologia positiva para HHV-8 pré transplante, sendo estatisticamente significante ($p=0,03$) e nenhum receptor de transplante de fígado apresentou SK.

Marcelin et al.[230], na França, avaliaram 122 doadores e seus respectivos receptores no dia do transplante de fígado e encontraram uma soroprevalência para HHV-8 de 3,3% nos doadores (4 pacientes) e de 2,5% nos receptores (3 pacientes). Nenhum doador ou receptor que possuía a sorologia positiva apresentou PCR positivo no dia do transplante. Todos os 4 receptores dos doadores soropositivos eram previamente soronegativos para HHV-8 e, após uma avaliação no quarto e no sexto mês após o transplante, foi observada uma soroconversão em todos estes receptores, através da sorologia dos anticorpos do antígeno Lítico e todas as sorologias relacionadas ao LANA

foram negativas. Em relação aos receptores de transplante de fígado soropositivos no pré-transplante estes permaneceram soropositivos até seis meses após o transplante. Nenhum dos receptores de transplante de fígado soropositivos pré-transplante apresentou SK ou sintomatologia relacionada ao HHV-8 em um período de dois anos, após o transplante.

No atual estudo, a taxa de soroconversão de 6,58% encontrada nos receptores de transplante renal nos primeiros seis meses após o transplante, comparada à taxa encontrada por outros países como 12% na Suíça[71], de 8,6 a 9,39% na Itália[93,227,228] e de 2,09% na França[96] também realizadas nos transplantados renais, foi considerada intermediária. Isto se deve, primeiramente, devido à baixa soroprevalência de HHV-8 na população geral e conseqüentemente, na população de doadores na região estudada. Outro fator importante foi o tempo curto de avaliação da soroconversão onde todos os receptores soronegativos foram avaliados sorologicamente até seis meses após o transplante, quando comparado ao trabalho realizado previamente na Suíça [91] e na França[96] onde o período de avaliação foi superior a um ano do transplante renal e também, em relação aos trabalhos italianos[93,227] nos quais a soroconversão foi avaliada ao longo de dez anos, podendo desta forma, os dados deste estudo estarem subestimados.

O terceiro fator determinante foi em relação à imunossupressão, pois dos onze pacientes que soroconverteram, apenas 4 (36,4%) apresentaram rejeição aguda, recebendo desta forma, imunossupressão mais potente como pulsoterapia com solumedrol, e um destes pacientes evoluiu com rejeição córtico-resistente, necessitando posteriormente, receber OKT3 (9%). Situação diferente ocorreu com os receptores que soroconverteram na Suíça[91] que receberam uma imunossupressão mais intensa. Foi observado que dos 25 receptores que soroconverteram, 52% receberam pulsoterapia com solumedrol e 32% receberam OKT3.

c. Infecção Primária pelo HHV-8

Até o momento não existem relatos, na literatura, sobre fatores de risco para doença primária pelo HHV-8 nos pacientes transplantados renais. O modo de transmissão do HHV-8 ainda não está claro apesar da maioria dos estudos relacionados ao transplante concordar que a prevalência do HHV-8 varia de acordo com a região geográfica e os diferentes países. Também não está claro se o SK pós-transplante é

devido à reativação do HHV-8 como resultado do tratamento imunossupressivo ou se é uma infecção primária decorrente da transmissão do órgão transplantado.

Durante a infecção primária pelo HHV-8, o tempo entre a replicação viral e o aparecimento de anticorpos varia de 3 a 12 meses[232], sendo similar a outras infecções virais primárias, como por exemplo, o HHV-6[233, 234].

Em um relato recente[158], foram avaliadas 86 crianças imunocompetentes com síndrome febril no Egito (região de elevada prevalência para HHV-8). Foram coletadas amostras de sangue e saliva sendo realizadas a PCR no plasma e na saliva, além de duas sorologias (IFA-LANA e IFA-LÍTICO). A criança foi considerada infectada pelo HHV-8 se o resultado de pelo menos um destes testes havia sido positivo. Crianças que apresentavam PCR positivo e sorologia negativa foram classificadas como infecção primária pelo HHV-8.

A taxa de positividade para HHV-8 foi de 41,9% (36 em 86 crianças apresentavam anticorpos anti-lítico). Quatorze destas 36 crianças (38,9%) apresentaram seqüência de DNA do HHV-8 na saliva ou plasma. O DNA do HHV-8 foi encontrado em saliva de aproximadamente 30% (11 das 36 crianças) indicando que o HHV-8 é excretado pela saliva freqüentemente[158]. Esses achados fazem com que se torne plausível a hipótese de transmissão horizontal entre crianças[69, 71, 235]. O principal fator de risco para a infecção foi o contato em ambientes fechados com outras crianças[158].

Seqüência de DNA do HHV-8 foi detectada em seis (12%) crianças de 50 que eram soronegativas para HHV-8 (todas as seis detectadas em saliva e 2 também apresentavam no plasma), sugerindo que estas crianças apresentaram infecção primária pelo HHV-8. Para confirmar a ocorrência de infecção primária pelo HHV-8 nestas seis crianças, foram obtidas novas amostras de sangue, seis meses após a infecção aguda sendo repetida a análise sorológica. Amostras de três destas crianças mostraram soroconversão para HHV-8. Clinicamente foi visualizado um rash cutâneo maculopapular (em cinco de seis crianças), que iniciava na face e gradualmente disseminava para tronco, braços e pernas. Inicialmente consistia de discretas máculas hiperemiadas que se tornavam esbranquiçadas à digito pressão e posteriormente, se tornavam papulares. As crianças persistiam com febre por 10 dias e quatro delas apresentavam febre alta (temperatura $\geq$ 39°C) associada ao envolvimento de mucosa faríngea, sem úlceras ou linfoadenopatia submandibular. A criança sem rash apresentou convulsões e vômitos, os quais ocorreram 48 após o início dos primeiros sintomas clínicos[158].

Em outro estudo recente, foram caracterizados parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos de infecção primária pelo HHV-8, em cinco pacientes imunocompetentes (HSH/HIV negativo), mostrando que sinais e sintomas benignos e não específicos como diarréia, fadiga, rash localizado e linfadenopatia foram evidências clínicas em conseqüência desta infecção viral[236].

Outro relato de infecção primária por HHV-8 ocorreu em um paciente HIV positivo, o qual apresentou febre, diarréia, esplenomegalia e linfoadenopatia cervical, caracterizada por hiperplasia angiolinfóide com resolução espontânea após dois meses[159,160].

Apenas recentemente surgiram os primeiros relatos de manifestações clínicas associadas à doença aguda ou reativadas em pacientes transplantados. Luppi et al.[95] relataram o curso da doença em dois pacientes que desenvolveram infecção primária pelo HHV-8 após transplante de rim recebido do mesmo doador falecido portador do HHV-8 e também, um paciente que reativou infecção pelo HHV-8 após o transplante de medula óssea. Os achados nos três pacientes mostraram que a infecção primária pelo HHV-8 ou a reativação da infecção podem ser associadas com doenças não malignas após o transplante.

O primeiro receptor de transplante renal (Doador HHV-8+/Receptor HHV8-), 4 meses após o transplante, iniciou um quadro súbito de febre persistente, esplenomegalia, e citopenia sugerindo a presença de doença infecciosa aguda. Estudos subseqüentes mostraram a soroconversão e altos níveis de viremia, indicando infecção primária recente pelo HHV-8[95]. Encontraram LANA HHV-8, o qual é expresso em células infectadas persistentemente latentes[237], dentro de células imaturas da medula óssea, sugerindo uma relação causal entre infecção primária pelo HHV-8 e depressão da medula óssea neste paciente.

No outro receptor de transplante renal soronegativo para HHV-8 que também recebeu o rim de doador soropositivo para HHV-8, houve o desenvolvimento de SK disseminado após quatro meses do transplante renal. Um mês após o diagnóstico, este paciente desenvolveu pancitopenia[95].

Nestes casos, documentou-se a transmissão do vírus do doador para os dois receptores transplantados. A soroconversão ocorreu quase simultaneamente nos dois. A ocorrência simultânea de SK disseminado em um receptor do transplante renal e depressão da medula óssea em outro sugere que o mesmo vírus possa ter um potencial patogênico diferente[95].

No trabalho realizado por Marcelin et al.[230], na França, onde avaliaram 122 doadores e seus respectivos receptores de transplante de fígado no dia do transplante, e também, no quarto e sexto mês após o transplante, foram encontrados 4 pacientes que soroconverteram após terem recebido órgãos de doadores soropositivos para HHV-8.

O primeiro receptor de transplante de fígado soroconverteu após seis meses e o segundo após o quarto mês sendo diagnosticado através da sorologia para anticorpos anti-antígenos da fase lítica, mas a PCR em células polimorfonucleares permaneceu negativo. Nenhum dos dois pacientes apresentou sintomatologia ou SK após o transplante, em um período de dois anos de acompanhamento[230].

O terceiro receptor de transplante de fígado que soroconverteu apresentou dois episódios de rejeição sendo tratado com pulsoterapia no primeiro e no segundo mês após o transplante. No quinto mês apresentou rash cutâneo, linfoadenomegalia, febre, anemia, plaquetopenia. Biópsia de medula óssea mostrou ausência de eritroblastos, megacariócitos normais e excessiva taxa de plasmócitos (11%), sugestivo de infecção viral. A biópsia de linfonodo mostrou necrose hemorrágica e “spindle células” positivas para HHV-8. A PCR (Reação da polimerase em cadeia) para HHV-8 foi detectada em linfonodo, soro, células polimorfonucleares e também, no lavado broncoalveolar após uma infecção pulmonar. O paciente evoluiu para óbito e na necropsia foi encontrado SK disseminado[230].

O quarto paciente que soroconverteu para HHV-8, apresentou no primeiro mês após o transplante viremia por CMV e também HHV-8 sendo resolvido espontaneamente. Após seis meses do transplante foi diagnosticada pneumonia por CMV evoluindo para óbito. A PCR para HHV-8 foi detectada em amostras de células polimorfonucleares, plasma e biópsia pulmonar. Na necropsia também foi detectado SK disseminado[230].

Neste atual estudo foram avaliadas as infecções ocorridas no pós-transplante até o momento da soroconversão, sendo observado que dos onze pacientes que soroconverteram, somente um apresentou rash cutâneo maculopapular difuso durando em torno de uma semana, com regressão espontânea, sem nenhum outro sinal e sintoma associado como, por exemplo, febre, mal estar, diarréia, linfoadenomegalia ou hepatoesplenomegalia, e também, nenhuma alteração hematológica. Não foi diagnosticada nenhuma outra doença viral concomitante neste período. Nenhum paciente apresentou SK no período avaliado.

Foi descrito neste trabalho um padrão de infecção primária diferente do que se vê em literatura, sendo um quadro benigno e oligossintomático.

Quando comparado este estudo com o trabalho realizado por Milliancourt e col. na França[96], observou-se um padrão de soroconversão semelhante, pois durante o acompanhamento dos receptores que soroconverteram também não houve sintomatologia e tão pouco desenvolvimento de SK ao longo de três anos. No trabalho descrito por Marcelin et al.[230] em transplantados de fígado, também na França, dos quatro pacientes que soroconverteram após terem recebido órgãos de doadores soropositivos para HHV-8, dois receptores não apresentaram nenhum quadro clínico relacionado à soroconversão, mas os outros dois, desenvolveram SK agudo e disseminado. Luppi et al.[95], descreveram dois pacientes que soroconverteram após receberem os rins de um doador falecido infectado pelo HHV-8, sendo que um deles desenvolveu SK disseminado e o outro apresentou depressão medular.

Estes estudos prévios mostram quadros clínicos diversos na infecção primária causada pelo HHV-8 nos pacientes imunossuprimidos (transplantados e HIV+)[95,96,159,160,230] e também, nos imunocompetentes[158,236] . Comparando estes relatos com a descrição ocorrida neste trabalho, onde apenas um paciente apresentou um quadro oligossintomático, mostra que, o mesmo vírus possa ter um potencial patogênico diferente. Ocorrendo desta forma, devido à imunidade dos pacientes frente a esta nova infecção, podendo ou não, estar associada a uma maior imunodepressão através do uso de drogas imunodepressoras mais potentes, o uso de alguma destas drogas (OKT3, Timoglobulina e pulsoterapia com Solumedrol) foi visto em apenas 34% (15 pacientes dos 44 soropositivos) dos doentes soropositivos para HHV-8 os quais utilizaram frente ao diagnóstico de rejeição.

Outro fator importante foi o desenho deste estudo, onde foi feito o acompanhamento longitudinal e a avaliação de todos os pacientes soronegativos inclusive, os que não possuíam doadores soropositivos para HHV-8. Desta maneira, todos estes doentes inclusive os que soroconverteram foram avaliados clinicamente ao longo de dois anos. Não há até o momento, nenhum relato na literatura de acompanhamento sistemático nesta população específica. Somente o trabalho realizado por Milliancourt e col. na França[96], no qual houve avaliação retrospectiva de 287 receptores de transplantes renais, onde nenhum doador foi avaliado sorologicamente, encontrou-se dados similares a este trabalho, pois ao longo de três anos de acompanhamento não foi encontrada sintomatologia ou casos de SK. O que há de diferente na descrição clínica realizada neste estudo, comparando aos outros trabalhos já descritos previamente em literatura é que neste houve o acompanhamento sistemático de todos os pacientes

receptores de transplante soronegativos e positivos com a intenção de descrever a história natural desta infecção nesta população específica, para análise das conseqüências no transplante. Enquanto os outros estudos iniciam sua análise de maneira retrospectiva, a partir da doença como o SK, realizando a análise sorológica retrospectiva dos receptores e raramente dos doadores.

d. Fatores de risco para HHV-8

Vias de transmissão do HHV-8 após o transplante

Em relação às formas de transmissão do HHV-8, ao contrário do que ocorre nas regiões onde o SK é epidêmico e a via sexual de transmissão a mais importante, nas regiões de SK endêmico ou clássico, outras formas de transmissão foram descritas como responsáveis pela disseminação do HHV-8.

O HHV-8 é incomum na população geral, mas é muito mais freqüente em populações expostas a DSTs, como sífilis e HIV, independente de terem ou não história de contato homo ou bissexual[78,99,100]. A transmissão do HHV-8 através da via sexual é a forma de transmissão mais conhecida, principalmente em pacientes que são HIV positivos e possuem maior relato de promiscuidade. Mas nos pacientes transplantados renais, a importância deste meio de transmissão pode ser menor, pois todos os pacientes deste estudo se classificavam como heterossexuais e monogâmicos. Relatavam ter poucas relações sexuais por diminuição da libido, provavelmente devido ao quadro clínico que geralmente apresentavam associados a outras doenças de base (exemplo: HAS, DM, ICC, anemia crônica, entre outras). Nenhum paciente deste estudo relatava o uso de preservativos durante as relações sexuais. Dos pacientes soropositivos para o HHV-8 antes do transplante, 15% relataram já terem apresentado algum tipo de DST e dos 167 soronegativos, 10% já haviam apresentado DST. Apesar de não haver diferença estatisticamente significante (p=0,549), encontrou-se um número mais elevado de pacientes que relatavam DSTs entre os pacientes que eram soropositivos para HHV-8. Apenas um paciente apresentou DST antes do transplante no grupo que soroconverteu.

A via sangüínea não parece ser um modo importante de transmissão do vírus, pois a soroprevalência de anticorpos para o HHV-8 em pacientes com AIDS hemofílicos e usuários de drogas endovenosas é bastante baixa[78,79]. Marcelin et al.[80] registraram baixa prevalência de anticorpos contra o HHV-8 (1,4%) entre 74 crianças infectadas pelo HIV por via sangüínea, com alta soropositividade para hepatite B e hepatite C. Challine et al. [110] em um amplo trabalho realizado na França estudaram 1431 pacientes de baixo e

alto risco para adquirir infecção pelo HHV-8 e encontraram uma soropositividade de 2,4% em usuários de drogas endovenosas, 0% em pacientes que recebiam múltiplas transfusões com talassemia major, corroborando a hipótese da baixa transmissão por via sangüínea do HHV-8. Isto também foi observado através dos dados deste estudo, onde foi encontrada uma taxa de 2,27% nos usuários de drogas endovenosas nos pacientes soropositivos para HHV-8.

Quando analisada a transmissão do vírus através de transfusões sangüíneas encontrou-se que, dos 44 receptores que eram HHV-8 soropositivos, 22 (50%) já haviam recebido pelo menos uma transfusão sangüínea pré-transplante com uma média de 1,9 transfusões e desvio padrão de ± 0,9. Dos 156 pacientes receptores soronegativos para HHV-8, 104 (67%) também já haviam recebido transfusão sangüínea, sendo observada diferença estatística significante entre esses dois grupos (p=0,052 número de pacientes que receberam transfusões e p= 0,046 na média de transfusões recebidas). Nenhum paciente que soroconverteu recebeu transfusão sangüínea após o transplante.

No México[109], foram investigados alguns fatores de risco significantes associados com a presença do HHV-8 nos pacientes transplantados renais. Na análise multivariada realizada nestes pacientes, demonstrou-se que a transfusão apresentou certa tendência para a significância estatística (p=0,06). Através da análise univariada, a transfusão sangüínea foi significante (p=0,04).

Entretanto a via sanguínea tem sido evidenciada principalmente nos estudos mais recentes[84,86] realizados por Dollard et al. nos Estados Unidos.[84] e Hladik et al. na Uganda[86], onde foram avaliadas populações de baixa e alta prevalência para HHV-8 respectivamente, sendo encontradas evidências de transmissão por esta via. Mesmo assim, ainda não está bem estabelecido como se dá e qual a importância desta via de transmissão na disseminação da doença, sendo necessário mais estudos, principalmente em pacientes imunossuprimidos que necessitam de receber transfusões[226].

Quando se compara o transplante renal a outro transplante de órgão sólido, como o transplante cardíaco, por exemplo, observa-se uma prevalência para HHV-8 um pouco mais elevada nestes receptores de transplante renal[228,229]. Uma hipótese para este acontecimento é que os pacientes com insuficiência renal crônica que irão receber o transplante renal, ao contrário dos outros receptores de órgãos sólidos, geralmente são submetidos a alguma forma de tratamento dialítico, sendo diálise peritoneal ou hemodiálise. Raros são os pacientes que permanecem em tratamento conservador

quando chegam a esta forma terminal da doença renal. Uma forma de transmissão do HHV-8 nestes pacientes renais crônicos, que pode ser sugerida é através da diálise.

Estudo realizado na Arábia Saudita, região onde a incidência de SK é 10 vezes maior do que nos Estados Unidos e na região ocidental da Europa, analisou 201 pacientes renais crônicos onde foi detectada uma soroprevalência para HHV-8 em torno de 7%, comparado a 3,9% em pacientes sem doenças[107].

Outro estudo também realizado na Arábia Saudita, observou infecção pelo HHV-8 em 93% dos pacientes com SK após transplante, em 28% de receptores de transplante sem SK, e em 29% dos pacientes renais crônicos em hemodiálise, e somente em 7% dos voluntários saudáveis ou pacientes com neoplasias não-SK[108].

No México, a soroprevalência do HHV-8 foi de 3,8% em pacientes renais crônicos e 3,4% em pacientes transplantados renais (após o transplante), sendo investigado através da pesquisa de anticorpos para IgG usando ELISA[109]. A observação da soroprevalência ser discretamente mais elevada entre os pacientes renais crônicos, os quais não eram receptores de transplante, sugere que o risco de infecção não foi diretamente associado com o uso das drogas imunossupressoras usadas para prevenir rejeição do enxerto, porque a soroprevalência maior de anticorpos HHV-8 já existia nesta população antes do transplante. Foram investigados também alguns fatores de risco significantes associados com a presença do HHV-8 nos pacientes transplantados renais e nos renais crônicos. Na análise multivariada realizada nos pacientes transplantados renais, demonstrou-se que a hemodiálise pode ser um significante fator de risco (p=0,03). Através da análise univariada, a transfusão sangüínea foi significante (p=0,04) e hemodiálise mostrou uma tendência (p=0,089). Por outro lado, no grupo dos pacientes renais crônicos não houve fator de risco com significância estatística.

Em um relato recente de Taiwan[88], foram coletadas 77 amostras de soros dos pacientes em hemodiálise e 207 amostras de doadores de sangue, sendo testadas para imunoglobulina G específica do HHV-8 pela análise da imunofluorescência. Quinze de 77 pacientes em hemodiálise (19,5%) apresentavam anticorpos anti HHV-8. Seis de 207 (3,0%) dos doadores de sangue apresentaram anticorpos anti HHV-8.

Na Itália, foram avaliados 123 pacientes que eram submetidos à hemodiálise há pelo menos três anos e com no mínimo uma transfusão sanguínea, sendo encontrada uma soroprevalência para o HHV-8 de 27,0%. O grupo controle foi composto por 100 gestantes e 100 doadores de sangue obtendo-se uma prevalência de 24,5%, não

havendo diferença estatisticamente significante entre os dois grupos. O tempo de duração da hemodiálise e a idade não influenciaram nos resultados de soroprevalência. [238].

Nos Estados Unidos, um grupo de 470 indivíduos comparou pacientes sob hemodiálise há pouco tempo (até 3 anos) e pacientes sob hemodiálise há mais de 10 anos, e nenhum caso de SK foi encontrado, evidenciando também que o tempo de duração da hemodiálise não é um fator de risco para o desenvolvimento de SK[239].

Herr et al. [240], relataram dois casos de pacientes que eram submetidos à tratamento dialítico há menos de três anos, um sob hemodiálise e o outro sob diálise peritoneal e que desenvolveram SK clássico. Foi realizada PCR para pesquisa do HHV-8 sendo positiva apenas no paciente sob diálise peritoneal. Desta forma não foi evidenciado que o tratamento dialítico seja responsável pelo desenvolvimento do SK.

Na Grécia[241], foi relatado o caso de um paciente idoso em hemodiálise o qual evoluiu com SK. A RT-PCR (reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa) foi feita no sangue e na lesão de SK, indicando atividade de replicação do HHV-8 no paciente. Neste paciente, o desenvolvimento do SK foi mais associado à idade avançada do que à hemodiálise.

Outro estudo também realizado na Grécia, em 2006[89], a soroconversão para HHV-8 foi demonstrada em somente dois pacientes de 485 que eram submetidos à hemodiálise, mostrando evidências indiretas de transmissão do HHV-8 através da hemodiálise.

Recentemente em São Paulo, foi realizado por Mariana e col.[242] um estudo transversal para avaliação da prevalência de anticorpos anti-HHV-8 em 456 amostras de soro provenientes de pacientes com IRC (insuficiência renal crônica) sem terapia renal substitutiva (TRS) e também, 349 amostras de soro provenientes de pacientes com IRC submetidos à hemodiálise ou à diálise peritoneal, através de dois métodos sorológicos IFA-LÍTICO e IFA-LANA. Foi encontrado um percentual de positividade de 18,9% nos pacientes em hemodiálise, 14,8% nos que se encontrava em diálise peritoneal e 17,7% nos pacientes sem TRS, com uma taxa geral nos pacientes com IRC de 18% (145/805). Os fatores de risco associados à soropositividade ao HHV-8 foram o aumento da idade, transplante prévio (renal ou cardíaco) e também as DSTs principalmente, a sífilis (57% de soropositividade). O melhor método sorológico utilizado foi o IFA-LÍTICO (69%) em todas as análises.

Alguns destes trabalhos sugerem a hipótese de transmissão do HHV-8 através da diálise. Neste estudo, não foi encontrada significância estatística em relação ao método

dialítico. Dos 33 pacientes que apresentavam anticorpos anti-HHV-8, 9% faziam diálise peritoneal e 85% hemodiálise. Quando se compara o grupo de pacientes soronegativos para HHV-8 encontramos, 7% de pacientes em diálise peritoneal e 89% em hemodiálise. Dos 11 pacientes que soroconverteram, todos já haviam sido submetidos à hemodiálise antes do transplante e nenhum recebeu tratamento dialítico após o transplante. Esses fatores de risco analisados não foram estatisticamente significantes, mas o método utilizado para avaliar a transmissão através da diálise possa ter subestimado os dados. Pode ser que a melhor maneira de se avaliar o risco de transmissão do vírus através da diálise, seja o seguimento horizontal dos pacientes tanto em hemodiálise quanto em diálise peritoneal, em uma mesma instituição, como relatado por Cendoroglo et al.[243].

A falta de associação estatisticamente significante entre soropositividade para HHV-8 e transfusão de sangue ou anos de diálise sugere que a transmissão do HHV-8 pode envolver outras formas[99,177,200,244,245,246].

O SK em paciente transplantado renal pode ser causado pela reativação da infecção latente pelo HHV-8 (receptores soropositivos), ou pela infecção primária (receptores soronegativos) sendo transmitida através do enxerto[81,91,93,94,95,96,158,247,248]. O primeiro relato sugerindo transmissão do HHV-8 através do transplante renal ocorreu em 1997[90], em um paciente que soroconverteu após 13 meses do transplante, o qual evoluiu com doença de Castleman. Regamey et al.[91], em 1998, avaliaram 220 receptores no dia do transplante renal, sendo encontrada uma soroprevalência de 6,4% de soropositividade para HHV-8 (14 em 220 receptores de transplante renal). A soroconversão ocorreu dentro do primeiro ano do transplante em 25 pacientes de 206 (12,1%). Entre seis pacientes que soroconverteram e nos quais as amostras dos doadores estavam disponíveis, os testes de cinco doadores foram positivos para HHV-8. Em contraste, nenhum do grupo controle dos oito pacientes com doadores soronegativos se tornou positivo, sugerindo desta maneira, a hipótese de transmissão da infecção pelo HHV-8 através do enxerto.

Outros estudos também sugeriram a transmissão do HHV-8 através do enxerto, onde mostraram a taxa de soroconversão após o transplante renal de 2% e 5% na França e Espanha, respectivamente[96,249]. Além disso, a infecção primária tem sido descrita em dois pacientes que receberam o transplante de rim de um doador falecido infectado pelo HHV-8[95]. Em um estudo recente, marcadores genéticos específicos do doador foram detectados nas células neoplásicas infectadas pelo HHV-8 em lesões com SK de pacientes transplantados renais. Estes achados sugerem que não somente o HHV-8, mas

também, as células progenitoras do SK podem ser disseminadas após o transplante de órgão sólido, permanecendo no receptor e sofrendo transformações neoplásicas[250].

A proporção de casos relacionados a cada um destes mecanismos varia, significantemente, de acordo com a prevalência dos anticorpos encontrados na população estudada. Na população com alta prevalência da infecção pelo HHV-8, como a Itália, o SK pós-transplante pode ser causado principalmente pela reativação do HHV-8, entretanto, em áreas de baixa prevalência, tais como a Suíça, podem ocorrer devido à infecção primária[91,161].

No presente estudo, a transmissão do HHV-8 através do enxerto do doador infectado para o receptor HHV-8 soronegativo foi diagnosticada em apenas um paciente. As outras formas de transmissão do HHV-8 já avaliadas em outros estudos como, por exemplo, a sexual, transfusão e diálise, também não se apresentaram como formas de transmissão importantes nestes pacientes estudados. O HHV-8 também pode estar presente na urina, podendo ser esta mais uma via de transmissão[251,252].

Recentemente tem-se avaliado um meio de transmissão importante do HHV-8 que é através da saliva[56], principalmente em regiões de baixa prevalência[253,254,255]. Há a hipótese de que o HHV-8 tenha a capacidade de replicação na orofaringe e que a partícula viral esteja presente na saliva[56]. Outros herpesvírus, incluindo CMV, HSV e provavelmente o HHV-6 e 7, também podem ser transmitidos pela saliva. É um meio de transmissão importante nos HSH[73,74,75,256], sendo provável que esse modo de transmissão também ocorra entre indivíduos heterossexuais[256].

A prevalência de HHV-8 entre familiares de paciente com SK clássico e de regiões endêmicas[257] e, também, entre indivíduos mais susceptíveis de áreas com baixa endemicidade[255] indica alto risco de exposição, em contato estreito, sugerindo que possa ocorrer a transmissão horizontal, principalmente através da saliva. O número de cópias de DNA do HHV-8 encontrado na saliva é muito mais alto do que em outros tecidos, demonstrando assim, que a saliva pode ser um fator de risco para infecção[177].

Neste estudo, vários meios de transmissão do HHV-8 foram analisados e em nenhum se obteve significância estatística. O enxerto renal não se mostrou como uma via de transmissão significativa em nosso meio, pois apenas um dos pacientes que soroconverteu apresentava doador soropositivo no pré-transplante. Isto se deve, provavelmente, a baixa soroprevalência encontrada na população geral (1,8 a 7,4%)[103,104] e também, nesta população de doadores de transplante renal (9,5%).

A maior taxa de soroconversão ocorreu dentro dos primeiros meses após o transplante. Neste período é utilizada uma maior imunossupressão, sendo assim não é necessária uma carga infectante maior do vírus, pois o paciente se encontra mais imunodeprimido.

Esses trabalhos realizados previamente nos pacientes transplantados sugerem a transmissão através do enxerto, mas poucos descrevem o doador transmitindo para o receptor. Alguns citam apenas a soroconversão como uma maneira de transmissão não sendo explicado o meio pelo qual os receptores adquirem o vírus após o transplante. Neste trabalho em que todos os receptores de doadores soropositivos para HHV-8 foram acompanhados, apenas um receptor se tornou soropositivo, mostrando assim que estes pacientes necessitam de um acompanhamento sorológico mais prolongado para que se confirme ou não a soroconversão.

As salivas dos pacientes doadores e receptores de transplantes renais não foram avaliadas, por ter sido um método mais expressivo no diagnóstico do HHV-8 descrito recentemente, não sendo introduzido no desenho inicial do estudo. O HHV-8 presente na saliva possibilita uma via não sexual de transmissão, podendo ter sido uma forma importante na análise da transmissão horizontal do vírus nesta população tão específica, devido ao contato entre membros da família infectados pelo HHV-8, ou através da relação heterossexual (sexo oral e anal, pelo contato direto com a saliva) e, também, entre indivíduos mais susceptíveis de áreas com baixa endemicidade.

e. HHV-8 e SK

O SK iatrogênico está relacionado com o uso de terapia imunossupressora, em pacientes receptores de órgãos transplantados, nos quais constitui 4,1% de todas as malignidades[131]. Sabe-se que a incidência de SK é 400 a 500 vezes maior em relação à população geral[2,106], ocorrendo em 0,2 a 5% dos transplantados renais[131,132,133,134]. A incidência varia de acordo com o grupo racial e étnico e com os diferentes regimes imunossupressores[133]. É encontrada com maior freqüência em receptores de transplante oriundos do Mediterrâneo e Oriente Médio[106]. O intervalo médio entre o transplante e o diagnóstico de SK é em torno de 20 meses, variando de poucos meses a 18 anos[257]. Entretanto, casos precoces de SK têm sido relatados, principalmente nas infecções primárias ou em pacientes recebendo altas doses de corticóides[95,258,259]. Não está claro se a soroconversão recente conduz a um aumento do risco para desenvolvimento do SK em relação aos pacientes que já apresentam anticorpos prévios como resultado da

imunossupressão[90,91,92]. Apesar de já ter sido mostrado que o HHV-8 pode ser transmitido através do enxerto[91], os títulos de anticorpos mais elevados para HHV-8 foram encontrados em receptores de transplante renal soropositivos sugerindo uma reativação viral[260]. Provavelmente o SK ocorre através da reativação do HHV-8 em populações com alta prevalência da infecção, como a Itália[90,94] e a infecção primária ocorre em população de baixa prevalência para HHV-8, como a Suíça[91].

Farge et al.[261] estudaram alguns fatores de risco para o desenvolvimento de SK nos pacientes transplantados renais. Numa análise estatística univariada, mostraram que grupos étnicos originários da África e do Oriente Médio, infecção prévia por hepatite B, e o uso de anticorpos antilinfócitos policlonais na indução, foram fatores de riscos estatisticamente significantes para o início do SK após o transplante. O nível de hemoglobina inferior a 12 g/dL e a contagem de linfócitos inferior a 750/mm³ na época do diagnóstico de SK foram significativamente associados com SK. A análise multivariada mostrou dois fatores de risco independentes para SK: origem africana e do oriente médio e o uso de anticorpos antilinfócitos policlonais. Em relação à infecção pelo HHV-8 e o risco de desenvolver SK após o transplante, neste estudo foram disponíveis soros de 22 dos 30 pacientes estudados (13 pacientes já com diagnóstico de SK e 9 que durante o estudo desenvolveram SK). Somente soros de 5 pacientes foram disponíveis pré transplante e subseqüentemente, desenvolveram SK.

A detecção de DNA viral e a soropositividade através de anticorpos anti-HHV-8 antes ou após o transplante é fator preditivo independente para a ocorrência posterior de SK, aumentando o risco em 28 vezes[91,93,94,130,176,261]. Estes fatores de risco são semelhantes àqueles observados em relação à ocorrência de linfomas associados ao EBV após transplantes de órgãos[91,261,262].

Os trabalhos mostram que os pacientes soropositivos para HHV-8 no período pré-transplante, têm mais chance de desenvolver Sarcoma de Kaposi no pós transplante por reativação viral[90,228]. Esses achados são consistentes com outros estudos mostrando que o HHV-8 é provavelmente reativado após o transplante[93,227,260,263].

No estudo realizado por Francès et al.[81], encontrou-se uma taxa de SK após o transplante de 2,3% em 400 pacientes avaliados e quando se analisou somente os pacientes soropositivos pré transplante para HHV-8 esta taxa aumentou para 28%.

Na Itália, foi detectada soroprevalência de 14,8% para o HHV-8 em 175 pacientes antes do transplante. De 3 meses a 10 anos após o transplante, sete (4,0%) deles desenvolveram SK, sendo que seis já eram soropositivos antes do transplante. Portanto,

23,0% dos pacientes que eram positivos antes do transplante desenvolveram o SK e em 0,7% houve soroconversão após o transplante, sendo observado que a sorologia positiva para o HHV-8 no pré-transplante renal é um fator de alto risco para o desenvolvimento do SK[93]. Outro estudo retrospectivo italiano mostrou que 10 de 11 receptores de transplante renal (91%) que desenvolveram SK eram soropositivos para HHV-8 antes do transplante [90]. Andreoni et al.[228] relataram o desenvolvimento de SK em 14,3% dos pacientes transplantados renais os quais possuíam sorologia para HHV-8 no pré transplante.

De maneira geral, os receptores de transplante de órgão, sob terapia imunossupressora, são mais susceptíveis a neoplasias do que a população em geral[264], e 1/3 deles desenvolvem infecções após transplante[265]. A freqüência do SK é maior nos receptores de transplante renal quando comparada com a população em geral. Isso, em parte, pode estar associado com o esquema imunossupressor utilizado[266].

A apresentação clínica do SK em pacientes transplantados é freqüentemente limitada à pele ou nas regiões de extremidades principalmente em membros inferiores. O envolvimento cutâneo difuso não é comum e o envolvimento visceral tem sido relatado em alguns casos. A mortalidade associada ao SK é relacionada à forma de apresentação e a extensão da doença. O SK é raro no sistema nervoso central (SNC)[267] e geralmente é associado à doença metastática[268,269]. Num relato de três casos (dois dos pacientes eram HIV positivos), os pacientes apresentaram na biópsia cerebral, presença do DNA do HHV-8, sendo que a pesquisa para outros herpesvírus havia sido negativa[270]. Qualquer que seja a apresentação inicial, a principal conduta no SK associado ao transplante é a redução da imunossupressão ou se necessário, a suspensão da terapia imunossupressora. Esta medida geralmente evolui para a regressão das lesões cutâneas, apesar do risco de rejeição aguda. Pode ocorrer a recorrência do SK quando a terapia imunossupressora é reintroduzida ou após a realização de um segundo transplante[271,272].

Neste trabalho não foi encontrado nenhum caso de SK nos pacientes transplantados renais até o momento. Pode-se, entretanto, comentar alguns pontos diferentes nesta população comparando com os outros trabalhos realizados em pacientes transplantados renais. Em primeiro lugar, no trabalho realizado na França [81], dos nove pacientes que desenvolveram SK após o transplante, 7 eram africanos, 1 italiano e um francês. Esta alta prevalência é provavelmente explicada pela origem geográfica dos receptores de transplante. Diferentemente do que ocorre na nossa população que não é um país endêmico em relação ao HHV-8.

Outro fator que pode sugerir um aumento em relação à prevalência do SK nestes pacientes avaliados na França foi o uso sistemático de anticorpo antilinfócitos globulina (ALG). Ao contrário dos pacientes deste estudo, os anticorpos somente foram utilizados quando havia diagnóstico de rejeição córtico-resistente[81].

Estudo realizado por Regamey e col.[91]no qual 220 pacientes transplantados renais foram avaliados por seis anos, somente dois pacientes que soroconverteram apresentaram SK após 24 meses de acompanhamento. Os dois pacientes haviam recebido OKT3 de imunossupressão.

Em terceiro lugar, neste estudo houve pouco tempo de acompanhamento (total de dois anos) principalmente, quando se compara ao tempo de acompanhamento encontrado em outros estudos em transplantes como, por exemplo, os que foram realizados nos Estados Unidos e na Itália onde o acompanhamento dos pacientes foi de 10 anos. Cattani et al.[93,227], avaliaram 175 receptores de transplante renal na Itália não havendo relato de sintomatologia clínica ou SK nos três primeiros anos de seguimento inicial, somente 7 (4%) casos de SK surgiram posteriormente.

f. HHV-8 e idade

Foi analisada a relação entre a faixa etária dos receptores soropositivos para HHV-8 antes do transplante renal que variou de 13 a 75 anos, associada à prevalência do HHV-8, encontrando-se significância estatística (p=0,023), pois o vírus é mais freqüente em uma faixa etária mais avançada.

Esse risco mais elevado nesta população também pode ser devido ao aumento da idade, pois, foi encontrada uma média de idade elevada nestes pacientes de 44,41 anos, diferentemente do que se encontrou em relação aos doadores de sangue que geralmente são indivíduos mais jovens e de baixo risco para doenças infecciosas. O risco da exposição ao HHV-8 é geralmente constante e com o aumento da idade, existe o risco cumulativo de exposição para a infecção pelo HHV-8[107,177,227]. Esta significância estatística não se manteve quando analisados os 44 receptores soropositivos, mas a média de idade se manteve elevada (42,2 anos) em relação aos soronegativos.

Estudos realizados na Itália e Holanda em pacientes HIV negativos[77,151], monstraram um aumento crescente da prevalência do HHV-8 com a idade.

Na Itália, Cattani et al.[93,227], observaram ao longo de 10 anos de acompanhamento, em 175 receptores de transplante renal que as taxas de soropositividade para HHV-8, aumentaram paralelamente com a idade.

Essa observação também foi encontrada em um trabalho realizado na Arábia Saudita[107], que analisou 201 pacientes renais crônicos onde foi detectada uma soroprevalência para HHV-8 em torno de 7%, comparado a 3,9%, em pacientes sem doenças. Este estudo mostrou um aumento da soropositividade de HHV-8 de acordo com o aumento da idade, concluindo que provavelmente o risco da exposição ao HHV-8 é geralmente constante e com o aumento da idade, existe ainda um risco cumulativo para a infecção.

Outro estudo realizado na Arábia Saudita, onde foram avaliados 76 pacientes (14 transplantados renais com SK, 18 também transplantados sem SK, 14 pacientes com insuficiência renal crônica, 15 com neoplasias e 15 indivíduos saudáveis), quando realizada a regressão logística, somente a idade foi um fator independente na associação da positividade do HHV-8[108].

g. HHV-8 e outras infecções

Com relação à ocorrência de outras infecções concomitantes ao herpesvírus humano tipo 8 nesta casuística, observou-se que nenhum paciente HHV-8 positivo apresentava-se soropositivo para HIV. Apenas dois pacientes possuíam hepatite C concomitante ao HHV-8 e somente um paciente era portador do vírus da hepatite B, indicando uma amostra com baixa exposição a doenças de transmissão sangüínea, apesar do tratamento dialítico.

Em relação às outras infecções associadas ao HHV-8, as infecções bacterianas foram as infecções mais comuns (90,9%) nos receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8, seguidas das infecções virais (31,8%), fúngicas (6,8%) e endêmicas (2,3%), mas não havendo significância estatística em relação a ocorrência destas infecções nos pacientes soronegativos.

Até o momento não se conhece trabalhos onde foram feitos acompanhamentos longitudinais de pacientes receptores de transplante soropositivos pelo HHV-8 e várias infecções associadas, como foi realizado neste estudo.

h. HHV-8 e imunossupressão

Os receptores de transplante de órgão são mais susceptíveis as infecções e neoplasias do que a população em geral e também os pacientes que se mantém em hemodiálise, devido à terapia imunossupressora[108,264,273].

Não está claro como o uso de diferentes agentes imunossupressores influenciam o desenvolvimento do SK. Foi demonstrado in vitro que a hidrocortisona age diretamente na

ativação do ciclo lítico das células infectadas latentemente pelo HHV-8[274]. Em 2001, Marcelin et al.[275] relataram que a hidrocortisona e a ciclosporina in vitro promovem a progressão para neoplasia através do efeito celular direto. Entretanto, a administração de mais de dez pulsoterapias com corticosteróides tem sido associada com o aumento de doenças. Em estudo experimental se evidenciou que a ciclosporina aumenta as células neoplásicas[276], inibindo os mecanismos de reparo do DNA[277]. Alguns pesquisadores acreditam que o MMF aumente o risco de SK[278].

Em Portugal[279] os autores avaliaram o desenvolvimento de SK em 11 pacientes dos 416 receptores de transplante renal. Desses 11 pacientes, apenas oito possuíam amostras de soro pré-transplante disponíveis, sendo analisadas quanto à presença de anticorpos anti-HHV-8 e seis resultaram positivas e somente um paciente apresentou DNA para HHV-8. Todas as sete amostras dos doadores tanto sorológica quanto para DNA/HHV-8 foram negativas. Houve associação entre o uso de imunossupressores potentes, como o ATG (globulina anti-timócito) e o OKT3 (anticorpo monoclonal) e o desenvolvimento do SK.

Na Coréia, estudo realizado com 10029 receptores de transplante renal, no período de 24 anos, 21 (10,7%) receptores desenvolveram SK. O esquema imunossupressor utilizado foi ciclosporina, e/ou azatioprina e prednisona. Dos 21 pacientes, 10 obtiveram diminuição das lesões do SK apenas com a diminuição da terapia imunossupressora e 11 foram submetidos à quimioterapia ou radioterapia sendo que cinco deles foram a óbito. Foi observado que nos pacientes tratados com ciclosporina tiveram desenvolvimento mais rápido do SK do que, aqueles em uso de apenas azatioprina e/ ou prednisona sendo estatisticamente significante[273]. Também sendo observado em outros estudos[280, 281, 282]

Em um estudo[278] onde foram analisados 1835 pacientes transplantados renais na Alemanha durante pelo menos dez anos, cinco destes pacientes desenvolveram SK. Desta maneira, observou-se que os pacientes (3/371) que receberam micofenolato mofetil (MMF) apresentavam mais casos de SK do que os outros pacientes (2/1464) que recebiam outros esquemas de imunossupressão (Exemplo: CSA+PRED±AZT ou FK+PRED±AZT). Também foi descrito[283] um receptor de transplante renal que recebia terapia imunossupressora incluindo MMF e desenvolveu SK seis meses após o transplante.

Marcelin et al. em 2004[230], relataram doença grave causada pelo HHV-8 em dois receptores que receberam transplante de fígado de um doador soropositivo para HHV-8 e

que receberam uma imunossupressão mais potente comparada à recebida por outros receptores como altos níveis de tacrolimus e o uso de pulsoterapia com solumedrol.

O Sirolimus (rapamicina)[271] é um novo e potente agente imunossupressor que tem sido introduzido no transplante de órgãos em geral. Diferentemente do outros imunossupressores (ciclosporina, tacrolimus, azatioprina e micofenolato mofetil), o sirolimus tem uma potente atividade antitumor in vitro e in vivo. Estas duas propriedades oferecem um novo tipo de tratamento para as neoplasias e também, para o SK após o transplante.

O sirolimus[284,285] inibe a ativação e a proliferação do linfócito T que ocorrem em resposta ao estímulo de antígenos e de citocinas (Interleucina [IL]-2, IL-4 e IL-15) por meio de um mecanismo diferente do observado em outros imunossupressores. O sirolimus também inibe a produção de anticorpos. Nas células, o sirolimus liga-se à imunofilina, proteína de ligação FK 12 (FKBP-12), para formar um complexo imunossupressor. O complexo sirolimus/FKBP-12 não apresenta efeito sobre a atividade da calcineurina. Esse complexo liga-se à mTOR (Mammalian Target of Rapamycin), uma quinase regulatória importante, inibindo sua atividade. Essa inibição suprime a proliferação de células T induzida por citocina, inibindo a progressão da fase G 1 para a fase S do ciclo celular. A inibição da mTOR previne rejeição aguda através da inibição da interleucina II, o que induz a proliferação de células T causando um bloqueio da carcinogênese e também, progressão de lesões metastáticas. O sirolimus impede o crescimento de muitas células tumorais in vitro e tem atividade antitumor em ratos[276].

Guba et al.[286] demonstraram em ratos que o sirolimus apresenta efeito antineoplásico pois, inibe a progressão dos tumores através da atividade antiangiogênica, efeito devido a supressão da produção do VEGF (fator de crescimento endotélio vascular).

Em um estudo realizado por Stallone e col na Itália[272], foram avaliados 15 receptores de transplante renal com doadores falecidos os quais, apresentavam biópsias com SK. A partir do diagnóstico feito foram suspensos a ciclosporina e o micofenolato mofetil e iniciado sirolimus. Três meses após o início do sirolimus, as lesões cutâneas do SK desapareceram. Após seis meses do tratamento com o sirolimus foram realizadas novas biópsias nos mesmos locais das biópsias realizadas no momento do diagnóstico, para confirmar regressão histológica do tumor, sendo que todas as biópsias foram negativas para SK.

Campistol e col.[271] relataram dois pacientes transplantados renais com diagnóstico de SK e que apresentaram regressão das lesões após o uso de sirolimus e suspensão da imunossupressão inicialmente utilizada.

Neste estudo, nenhum imunossupressor mostrou ser mais agressivo em relação ao desenvolvimento de SK ou causador de maior número de infecções até o acompanhamento final dos dois grupos de pacientes soropositivos antes e após o transplante. A rapamicina (Sirolimo) foi utilizada por um paciente do grupo que soroconverteu e em cinco dos receptores previamente positivos, não podendo desta maneira, ser conferido o seu fator protetor por ser um número baixo de pacientes que utilizou este imunossupressor.

Quando se comparou o grupo de pacientes soropositivos para HHV-8 (44 pacientes) aos 156 soronegativos encontrou-se significância (p=0,026) em relação ao uso de Daclizumab.

O Daclizumab (Zenapax@)[210] é um Anticorpo anti-Tac IgG1 humanizado, recombinante, produzido a partir de uma linhagem de células de mieloma murino NSO utilizando um sistema de expressão (NS_GSO) de glutamina sintetase (GS) por tecnologia de ADN recombinante, que atua como antagonista do receptor da interleucina 2 (IL-2). Zenapax está indicado na profilaxia da rejeição aguda do órgão, em doentes submetidos a transplante renal, sendo utilizado concomitantemente com um regime imunossupressor que pode incluir ciclosporina e corticosteróides em doentes que não se encontrem hiperimunizados. Não se tem relatos de aumentos de infecções ou neoplasias com o uso de Daclizumab.

i. Sobrevida do enxerto e do paciente em relação ao HHV-8

Recentemente na França, foi sugerida a correlação entre infecção pelo HHV-8 e a baixa taxa de sobrevida do enxerto[81]. Francès et al.[81] encontraram uma alta taxa de mortalidade de 9,4% em um ano após o transplante nos pacientes previamente soropositivos para HHV-8, aumentando em três anos para 18,8%. E também, uma taxa de sobrevida do enxerto de 84,4% em um ano e de 72% em três anos. As taxas de sobrevida dos pacientes e do enxerto que apresentavam infecção pelo HHV-8 foram muito menores do que as observadas neste mesmo centro, durante o mesmo período nos outros pacientes que não possuíam HHV-8.

A morbidade e mortalidade estão associadas ao diagnóstico de SK entre os receptores de transplante renal. Em um grande registro de neoplasia em transplantes, 143

(40,2%) de 356 pacientes com SK tinham envolvimento visceral, e 61 (17,1%) de 356 tinham o SK como a causa do óbito. Apesar da redução ou suspensão do tratamento imunossupressor levar a uma remissão completa do SK, entre os pacientes que evoluíram para a remissão, 65% deles perderam o enxerto ou se mantiveram com disfunção do enxerto[132], comparando com 21% da população geral dos receptores de transplante.

No Kuwait[264], de 1171 receptores de transplante renal, nove desenvolveram SK. Desses nove, quatro (44%) permaneceram vivos com o órgão transplantado funcionante, um (11%) excluiu-se do programa do hospital, dois (22%) perderam o enxerto, e dois (22%) evoluíram para óbito.

Na Turquia[287], um estudo conduzido com 772 receptores de transplante renal mostrou que 25 (3,2%) desenvolveram o SK. Dois pacientes evoluíram para óbito por causa de SK generalizado e sete pacientes retornaram para a hemodiálise 36 meses após o diagnóstico do SK.

Estudo italiano, realizado em 459 pacientes submetidos a transplante de fígado, relataram o acompanhamento de 5 pacientes que desenvolveram SK após o transplante. Quatro destes faleceram devido ao SK sendo uma alta taxa (80%) de mortalidade nesta população [288].

Neste estudo, o HHV-8 não demonstrou uma atividade imunomoduladora em relação ao enxerto renal, pois os receptores de transplante não apresentaram mais rejeições comparando ao outro grupo. Oito (18,2%) pacientes soropositivos para HHV-8 perderam o enxerto e somente 10,25% dos soronegativos não sendo estatisticamente significante. Nenhum paciente soropositivo evoluiu para óbito.

j. HHV-8 e alterações hematológicas

As alterações hematológicas foram analisadas ao longo de dois anos nestes receptores de transplante renal soropositivos para HHV-8 e não foi encontrada significância estatística quando comparadas ao grupo dos pacientes soronegativos. Nenhum paciente apresentou pancitopenia no momento da soroconversão como foi descrito por Luppi et al[95]. Farge et al.[261] encontraram a hemoglobina abaixo de 12 g/dl e também, os linfócitos abaixo de 750 mm³, como fatores de risco para o desenvolvimento de SK. Os pacientes soropositivos para HHV-8 neste estudo não apresentaram alterações hematológicas significativas como descrito nestes trabalhos citados.

k. HHV-8 e sorologias

O HHV-8 não é um vírus comum na população geral, portanto as sorologias são mais úteis do que outros métodos para detectar infecções primárias[289]. As análises sorológicas mais utilizadas são as imunofluorescências usando células B infectadas pelo HHV-8 e o ELISA que usa proteínas ou peptídeos isolados do HHV-8, detectando anticorpos relacionados à fase de replicação e também, à latente.

Não há dados definitivos sobre o melhor método sorológico para diagnosticar infecção pelo HHV-8. Numerosos estudos de soroprevalência do HHV-8 têm sido realizados confirmando soropositividade de 80-100% dos pacientes com SK[78,97,99,100,178]. Em contraste, esses mesmos relatos não mostram consenso na soroprevalência para HHV-8 em indivíduos sem SK. Os métodos publicados foram todos validados em pacientes com SK e HIV, sendo indivíduos com alta prevalência de anticorpos anti HHV-8, mas são discordantes nos estudos comparativos realizados na população geral que possui relativamente baixa soroprevalência.

Entre os testes sorológicos geralmente empregados no diagnóstico da infecção pelo HHV-8, resultados discrepantes vêm sendo relatados na literatura[163,178]. Recentemente, a pesquisa de anticorpos de fase lítica tem sido indicada como marcador da infecção pelo HHV-8[170]. Devido a esta falta de um método padrão ouro para o diagnóstico dessa infecção até o momento, considerou-se, neste estudo, como critério diagnóstico da infecção pelo HHV-8, a positividade em qualquer uma das técnicas sorológicas utilizadas.

Os testes sorológicos empregados nesse estudo foram previamente validados por Sumita et al.[209] e Pierroti[60] no Brasil. Sumita et al.[209] analisaram os soros de pacientes com SK e doadores de sangue, encontrando 71,4% e 0% de positividade para IFA-LANA, 95,2% e 2,4% para IFA-LÍTICO e finalmente, 92,8% e 6,1% para ELISA-LÍTICO pORF 65, respectivamente. Pierroti[60] encontrou na análise sorológica de pacientes HIV/AIDS uma soropositividade maior através do IFA-LÍTICO (85,5%), seguido do ELISA-LÍTICO (59,4%) e do IFA-LANA (44,9%).

Neste estudo, obteve-se melhor desempenho do método de IFA-LÍTICO (11% de soropositividade das amostras), seguido pelos métodos ELISA-LÍTICO (2,75% de soropositividade) e IFA-LANA (1,75% de soropositividade).

Nos doadores de transplante renal, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) detectou 2% de positividade e para pesquisa de

anticorpos contra a fase lítica 7,5% de positividade. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus 3% dos soros foram reagentes.

Nos receptores de transplante renal, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) detectou 1,5% de positividade e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica 14,5% de positividade. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus 3,5% dos soros foram reagentes.

Os pacientes permaneceram soropositivos para HHV-8 após o transplante durante seis meses, apenas com o método IFA-LÍTICO, as outras sorologias se tornaram negativas já na segunda amostra.

Considerando dois testes diagnósticos, a combinação IFA-LÍTICO e ELISA-LÍTICO foi a de melhor desempenho, seguida pela combinação IFA-LÍTICO e IFA-LANA. Não encontramos associação entre os métodos IFA-LANA e ELISA-LÍTICO.

Em relação aos onze receptores de transplante renal que soroconverteram, o método IFA para a pesquisa de anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA) foi detectado em apenas um paciente e para pesquisa de anticorpos contra a fase lítica em onze pacientes. Pelo método de ELISA para anticorpos contra antígenos da fase lítica do vírus nenhum dos soros foi reagente.

Os trabalhos têm mostrado a baixa sensibilidade do uso de anticorpos anti-LANA em detectar a infecção pelo HHV-8 nos casos de SK-AIDS, pois dependem do estado imunológico dos pacientes avaliados. Lennete et al.[(100)], usando células BCBL-1 detectaram 52% de casos positivos, Pierrotti et al.[(60)] encontraram 66,6% de soropositividade, enquanto Sumita et al.[(209)] 71,4% em pacientes com SK e Simpson et al.[(78)], empregando células BCP-1 encontram valores de positividade de 82%. Zhu et al.[(163)], usando células BCP-1 encontraram 82%, Perna et al.[(173)], 84% através das células BCBL-1 e Chandran et al.[(192)] encontrou 93% de positividade.

Comparando os trabalhos acima que avaliaram a soropositividade através do IFA-LANA, os trabalhos a seguir, mostram uma soropositividade maior usando o IFA-LÍTICO nos pacientes com SK. Lennette et al.[(100)], através de antígeno viral da fase lítica encontraram 96% de positividade nestes pacientes com SK enquanto, Sumita et al.[(209)] 95,2%, Pierrotti et al.[(60)] encontrou 100% de soropositividade (utilizando células BCBL-1), Chandran et al.[(192)] 98% de soropositividade, Zhu et al.[(163)] (usando células BCP-1) 99% de soropositividade em pacientes com SK. Observamos nestas análises que a soroprevalência encontrada foi acima de 90%, portanto sendo um bom método para investigação do HHV-8.

Em um estudo[170] comparando técnicas sorológicas para detecção de anticorpos anti HHV-8, foram analisados diversos grupos de pacientes desde doadores de sangue até pacientes com alto risco de apresentarem infecção pelo HHV-8. Os pacientes com SK apresentaram 88% de anticorpos positivos contra antígenos da fase latente e lítica através da imunofluorescência. Em todos os outros grupos, os anticorpos contra antígenos da fase latente foram raros (0-2,6%) e os anticorpos contra antígenos da fase lítica foram encontrados 20-30% de positividade em pacientes sem SK. Todos os pacientes com anticorpos antiantígenos da fase latente também apresentavam anticorpos anti antígenos líticos detectados. Para verificar a especificidade dos anticorpos contra antígenos da fase lítica, 170 amostras também foram testadas através de outros métodos como, por exemplo, o ELISA com duas proteínas recombinantes do HHV-8 (ORF 65/ vp 17 e K8.1/gp 35-37), virion ELISA e duas imunofluorescências para confirmação de anticorpos anti antígenos da fase lítica (MIFA, ABI IFA). A comparação de diferentes métodos sugeriu que o ELISA K8.1 foi altamente específico associado a concordância entre todas as outras análises sorológicas, mas poucas amostras foram positivas sendo neste caso pouco sensível. As duas IFAs e o MIFA por outro lado, detectaram um grande número de amostras positivas. Isto indica uma alta sensibilidade e uma baixa especificidade quando comparada a outras análises.

Os métodos sorológicos para o diagnóstico da infecção pelo HHV-8 empregando antígenos da fase lítica do vírus têm apresentado melhor desempenho no diagnóstico da infecção pelo HHV-8 em relação aqueles empregando antígenos da fase latente do vírus[163], como também foi demonstrado neste estudo. O mesmo foi observado por outros pesquisadores que passaram a utilizá-lo inclusive como método único de triagem de soros para estudos de prevalência de infecção pelo HHV-8[60,69,70,164,167,187,188,190,223,290,291]. A maior detecção de anticorpos contra antígenos líticos em relação aos antígenos latentes pela IFA pode ser devido ao maior número de proteínas imunogênicas produzidas na fase lítica em relação à fase latente do vírus, assim como uma possível persistência de anticorpos contra os antígenos líticos. A ausência de anticorpos contra antígenos líticos em um soro positivo para anticorpos anti-LANA poderia representar infecção recente neste doador de transplante, já que o aparecimento destes anticorpos parece preceder os da fase lítica[232].

Quando se analisou o desempenho dos métodos sorológicos nesta população de pacientes doadores e receptores de transplante renal foi encontrada uma maior soropositividade nos receptores através do método IFA para pesquisa de anticorpos

contra a fase lítica, onde detectou-se 14,5% de positividade. Também foi o melhor método diagnóstico nos doadores de transplante renal, encontrando uma positividade de 7,5%. O IFA-LÍTICO foi detectado em 100% dos pacientes que soroconverteram e apenas um dos pacientes apresentava também, o IFA-LANA presente.

Comparando com os dados encontrados em outras populações de pacientes transplantados encontramos uma semelhança com os trabalhos realizados na França[110] e Itália[93,227], pois ambos também utilizaram a IFA contra antígenos da fase lítica, que é considerado um método bastante sensível. No estudo Francês[110], para a detecção do HHV-8 foi utilizada a linhagem celular KS-1 (linhagem celular latentemente infectada pelo HHV-8 derivada do linfoma de células B de cavidade, detectando anticorpos contra a estrutura do core e antígenos do envelope e não estrutura latente) sendo encontrada 8% de positividade utilizando IFA-LÍTICO nos doadores de transplante e 15,1% nos receptores. Estudo realizado por Cattani et al.[93] na Itália, utilizando a linhagem celular BC-3, sendo realizado IFA-LÍTICO encontrando 14,8% de soropositividade para HHV-8 nos receptores de transplante renal. Outro estudo italiano[228], utilizando a linhagem celular BCBL-1, no qual foi realizada a IFA-LÍTICO, encontrou-se soropositividade de 16,5% em pacientes transplantados renais.

Comparando o estudo francês realizado por Francès et al.[81] nesta população de transplantados renais onde foi utilizada a linhagem celular originada da PEL (latentemente infectada com HHV-8, mas não com EBV) sendo realizada a IFA-LANA encontrou-se 8% de soropositividade nos receptores pré-transplante renal e em outro estudo francês realizado por Challine et al.[110] onde foi utilizado o IFA-LÍTICO, encontrou-se uma soropositividade maior (15,1%) nesta mesma população. Provavelmente há esta diferença em estudos realizados no mesmo país devido à baixa sensibilidade do método diagnóstico utilizado no primeiro estudo, como já citado previamente e também observado nos dados deste estudo (IFA-LANA detectou 1,5% de positividade nos receptores de transplante renal).

Estudo realizado por Marcelin et al. [230] avaliaram 122 doadores e seus respectivos receptores de transplante de fígado no dia do transplante e encontraram uma soroprevalência para HHV-8 de 3,3% nos doadores e de 2,5% nos receptores através da análise da IFA para os anticorpos contra antígenos da fase latente (LANA). Nenhum doador ou receptor que possuía a sorologia positiva apresentou PCR positivo no dia do transplante. Todos os 4 receptores dos doadores soropositivos que eram, previamente ao transplante, soronegativos para HHV-8 após uma avaliação no quarto e no sexto mês

pós-transplante através das sorologias que avaliavam os anticorpos contra antígenos da fase lítica foi observada uma soroconversão em todos estes receptores e todos as sorologias relacionadas ao LANA foram negativas. Em relação aos receptores de transplante de fígado soropositivos no pré-transplante estes permaneceram soropositivos até seis meses após o transplante através da avaliação dos anticorpos contra a fase lítica. Estes achados podem estar relacionados ao fato que o alvo dos anticorpos contra antígenos líticos aparecem antes dos anticorpos dirigidos à fase latente. A ausência de soroconversão avaliada através do LANA indica que o melhor método para ser usado é a sorologia através da IFA contra antígenos líticos[96,228,229].

Apesar de existirem debates em relação ao melhor método utilizado, o IFA lítico parece ser o mais sensível[163,188]. Além disto, a taxa de soroconversão pode ser subestimada quando se faz apenas o uso do IFA-LANA. Isto foi ponto de destaque em um estudo realizado por Marcelin et al.[230], no qual, nenhuma soroconversão foi observada quando se utilizou o método sorológico de IFA-LANA em dois receptores de transplante de fígado que soroconverteram, desenvolvendo doença primária pelo HHV-8. Entretanto, através do uso do método sorológico de IFA-LÍTICO, todos os pacientes que receberam o enxerto de um doador infectado pelo HHV-8 e soroconverteram foram diagnosticados. Isto pode estar relacionado ao fato que, os anticorpos específicos contra antígenos da fase lítica aparecem antes que os anticorpos direcionados à fase latente. A baixa sensibilidade da IFA-LANA pode estar relacionada com a fase da infecção/doença HHV-8. Previamente foi mostrado que a soroprevalência de anticorpos contra antígenos da fase latente em populações de baixo risco é muito baixa[97,99]. Deste modo, o uso combinado dos métodos sorológicos IFA-LANA e IFA-LÍTICO para avaliar a soropositividade pelo HHV-8 deve-se evitar a posssibilidade de resultados falsos negativos e fornece uma avaliação exata da taxa de soroconversão após o transplante.

Neste estudo também foi realizado o método sorológico ELISA-LÍTICO com proteína recombinante onde foi encontrada uma soropositividade de 3% nos doadores e de 3,5% nos receptores de transplante renal. Um estudo Suíço[91], que também utilizou como método sorológico o ELISA recombinante utilizando a ORF65,2 na investigação da infecção pelo HHV-8 dos pacientes transplantados renais, encontrou uma positividade através deste método de 6,4% antes do transplante.

Recentemente foi observado em relação à utilização preferencial de determinada linhagem celular quando se deseja pesquisar anticorpos dirigidos a antígenos LANA e outra para antígenos líticos. A linhagem BCP-1 foi utilizada na IFI-LANA por vários

autores[72,98,177,292,293]. Já a linhagem BCBL-1 foi empregada no ensaio de IFI-LÍTICO em outros estudos[70,164,167,190]. Neste estudo foi utilizada apenas a linhagem celular BCBL-1 sendo o IFA-LÍTICO mais sensível.

Os métodos sorológicos hoje disponíveis têm mostrado boa sensibilidade para detecção de anticorpos em soros de pacientes com SK, porém em indivíduos sem a doença, a real prevalência da infecção não é conhecida. É possível que baixos títulos de anticorpos contra o HHV-8 não estejam sendo detectados pelos testes utilizados, já que mesmo pacientes com SK relacionado à AIDS podem ter baixos títulos de anticorpos específicos ao HHV-8[178]. Deste modo, indivíduos soropositivos ao HHV-8 podem ter sido classificados erroneamente como não infectados. Esta incerteza se deve ao fato que a resposta imunológica na infecção pelo HHV-8 ainda é muito pouco conhecida.

Alguns autores[183,185,188] mostraram que certos ensaios imunoenzimáticos sozinhos não foram suficientemente sensíveis para detectar infecção em amostras de soro obtidas da população geral e de banco de sangue, que apresentavam baixos títulos de anticorpos específicos. Sugeriram que o ideal seria utilizar várias técnicas sorológicas, com princípios diferentes e que reconhecessem antígenos de diversas fases da infecção viral.

I. HHV-8 e PCR

A demonstração do genoma do HHV-8 pela PCR é um método muito sensível e específico no diagnóstico diferencial das lesões angioproliferativas.

A boca e orofaringe são sítios dominantes de eliminação do HHV-8[54,56,61,68,152,254,294,295].

Pauk et al. [56]; avaliaram homens que eram sabidamente soropositivos para HHV-8 e faziam sexo com homens (HSH), foi detectado o DNA do HHV-8 através da PCR mais freqüentemente em fluidos orais. O DNA do HHV-8 também foi detectado em células polimorfonucleares e com freqüência menor, no plasma, sêmen, secreção prostática, swab uretral e anal.

Na Arábia Saudita[296], cinco pacientes receptores de transplante renal com SK foram avaliados em diversos sítios para a detecção do DNA viral, sendo este encontrado em todas as amostras de biópsias com SK e também, no plasma. Nas amostras da saliva o DNA viral foi detectado em 80%, 20% em outros tipos de amostras da cavidade oral (palato, parótida, etc) e em nenhuma amostra nos leucócitos.

Estudo realizado na França por Pellet et al.[297], avaliaram a viremia através do PCR quantitativo em 43 pacientes (37 receptores de transplante de rim e 8 pacientes em

diálise) com diagnóstico de SK e mostrou que a viremia está relacionada a progressão da doença. Previamente, foi utilizada a PCR padrão neste mesmo grupo onde não foi detectada viremia pelo HHV-8 em receptores de transplante sem SK[292].

Spira et al.[188] compararam o uso de sorologias e a PCR para diagnosticar infecção pelo HHV-8 em pacientes que eram HIV positivo com SK (30 pacientes), HIV positivo sem SK (25 pacientes), HIV positivo que desenvolveram SK posteriormente (13 pacientes) e doadores de sangue (20 pacientes). Na análise sorológica encontrou-se 80-97% de soropositividade nos pacientes HIV+/SK +, 54-100% nos pacientes HIV+ que desenvolveram SK posteriormente, 16-56% no grupo sem SK e de 0-10% no grupo controle (doadores de sangue). Em relação à análise da PCR poucos pacientes foram positivos para HHV-8. Nenhum paciente do grupo controle foi positivo. Aproximadamente 40-50% do grupo HIV+/SK+ foi positivo, no grupo de pacientes HIV+ e que desenvolveram SK posteriormente encontrou-se em torno de 30% de positividade e em apenas poucos pacientes (5-10%) dos que eram HIV+/ sem SK.

No Texas, Hudnall et al.[260] avaliaram 58 pacientes transplantados renais no pós-transplante e encontraram uma soropositividade para IFA-LÍTICO de 50% e de 7% nos doadores de sangue e quando foi analisada a PCR somente 3 de 33 receptores de transplante avaliados foram positivos e nenhum doador de sangue apresentou PCR positiva.

Estudo realizado em 122 pacientes receptores de transplante de fígado e seus respectivos doadores, a PCR para HHV-8 foi analisada no pré-transplante em todas as amostras que eram soropositivas para HHV-8 (total de sete pacientes) e também, posteriormente ao transplante, nos quatro pacientes que soroconverteram. Foi encontrada carga viral detectável para HHV-8, somente nos dois pacientes que se tornaram sintomáticos apresentando HHV-8 primário e SK disseminado. Foi observado através do método quantitativo que o DNA para HHV-8 nas células polimorfonucleares e plasma podem ser úteis para predizer o início de doenças graves relacionadas ao HHV-8[230].

O aumento do nível da viremia do HHV-8, tem sido mostrada ser associada com o início da doença relacionada ao HHV-8 em pacientes imunodeprimidos[297,298].

Em nosso estudo, a PCR no soro não mostrou ser um método diagnóstico útil, sendo positivo em apenas uma amostra das 139 amostras testadas. Isto pode estar relacionado ao fato que: 1) A PCR foi realizada em amostras do soro no lugar de células mononucleares periféricas. 2) A PCR de acordo com os trabalhos recentes é mais sensível em amostras de saliva nos pacientes infectados pelo HHV-8 do que em amostras

do sangue. 3) A PCR é mais sensível nos pacientes que possuem SK já estabelecido do que em pacientes que não tem a doença.

Estes resultados sugerem que a PCR para detectar a presença do HHV-8 no enxerto não é eficaz o suficiente para prevenir a contaminação do doador para o receptor.

Este estudo aumenta a questão da sistemática do screening dos doadores para o HHV-8, pois não se deve excluir o enxerto, mas deve-se conhecer o status sorológico do receptor e doador para HHV-8, a fim de monitorar o receptor adequadamente através da sorologia contra antígenos da fase lítica e nos casos de imunossupressão mais potente, utilizar a PCR quantitativa. Pois desta maneira, com o aumento progressivo da carga viral do HHV-8, poderemos tentar estratégias a fim de prevenir desenvolvimento de doenças graves como o SK, através da diminuição ou da modificação do esquema imunossupressor, como, por exemplo, a mudança para o sirolimus ou até mesmo, a suspensão total dos imunossupressores. Estas medidas fazem com que se diminua a carga viral e nos casos de lesões já estabelecidas pelo SK pode ocorrer a redução das lesões.

7. CONCLUSÕES

1. A taxa de soroconversão para HHV-8 nos pacientes receptores de transplante renal encontrada no Hospital do Rim e Hipertensão – UNIFESP/EPM foi de 6,58%, sendo uma taxa intermediária quando comparada à encontrada em outros países.

2. A infecção primária causada pelo HHV-8 apresentou-se como um quadro benigno e oligossintomático.

3. A via de transmissão do HHV-8 não foi relacionada ao enxerto na grande maioria dos pacientes, outras formas de transmissão são aventadas.

4. Não houve significância estatística quando se comparou a freqüência e tipo das infecções, a rejeição aguda, a perda do enxerto e a taxa de mortalidade nos pacientes infectados e não infectados pelo HHV-8 após o transplante renal, não houve significância estatística.

5. A incidência de neoplasias após o transplante nos pacientes soropositivos para HHV-8 mostrou-se com uma tendência a significância (p=0,072), em relação aos pacientes soronegativos.

6. O método sorológico isolado que apresentou melhor desempenho para o diagnóstico de infecção pelo HHV-8 foi o IFA-LÍTICO, identificando 83,34% das amostras soropositivas ao HHV-8. Considerando-se dois testes diagnósticos, a combinação IFA-LÍTICO e ELISA-LÍTICO foi a de melhor desempenho, identificando 100% das amostras soropositivas. A PCR não se mostrou um bom método diagnóstico nesta infecção, pois só foi positiva em 0,7% das amostras estudadas.

8. ANEXOS

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Está sendo realizada uma pesquisa no Hospital do Rim e Hipertensão que tem por objetivo determinar a soroprevalência de um vírus chamado herpes humano tipo-8, através de métodos laboratoriais chamados **sorologias**, e **PCR**. Estes métodos auxiliam o médico no diagnóstico da infecção por este vírus (HHV-8), que acomete pessoas submetidas a transplante de rim. Esta infecção pode causar febre, anemia, pancitopenia e, nos casos mais graves (que são a minoria), pode causar um tipo de câncer conhecido como Sarcoma de Kaposi. O título da pesquisa é: **"Avaliação da Soroprevalência de Herpesvírus Humano 8 (HHV-8, Vírus Associado ao Sarcoma de Kaposi) em doadores e receptores de transplante renal".**

A importância da pesquisa é descobrir qual a quantidade de pessoas que já apresentam esse vírus antes do transplante e quantos pacientes adquirem este vírus após o transplante renal.

Neste hospital o diagnóstico é feito a partir da coleta de 15 ml de sangue e através de um exame chamado **sorologia e PCR**. A **sorologia** é um exame que ajuda na identificação de anticorpos específicos contra o Herpesvírus Humano Tipo 8. O **PCR** é um exame que analisa o material genético deste vírus no sangue. Estes exames foram solicitados hoje para esclarecimento diagnóstico no seu caso.

Para a realização desta pesquisa é necessária a coleta de 10ml de sangue. Esta quantidade de sangue não é suficiente para causar problemas para o paciente, como por exemplo, anemia.

Não haverá qualquer custo para o Sr. (Sra.) para a realização dos exames.

Com estes exames poderemos avaliar qual é o melhor método para diagnóstico desta virose, o que resultará em benefício para futuros pacientes transplantados, possibilitando um tratamento mais rápido e adequado.

O Sr.(Sra.) tem total liberdade de não participar da pesquisa, não havendo qualquer prejuízo aos cuidados no seu tratamento.

O Sr.(Sra.) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa, podendo contactar Dra.Pollyane Sousa Gomes (fone 5087-8000 ou 9386-5979) ou Dr. Luís Fernando A. Camargo (fone 5087-8000 ou BIP 3887-7722 código 1289499), caso tenha dúvidas sobre o projeto. Caso tenha dúvidas sobre a ética do estudo, contactar o Comitê de Ética Médica da EPM no fone 5576-4567 ou 5571-1062.

O Sr.(Sra.) aceita ser submetido(a) à coleta de 15 ml de sangue para a realização dos exames citados?

O sangue coletado será utilizado somente para fins desta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou lidas para mim e concordo voluntariamente em participar desta pesquisa.

_____ Data:___/___/___

Assinatura do paciente ou representante legal

_____ Data:___/___/___

Assinatura da testemunha

Local: São Paulo – SP

ANEXO II

FICHA CLÍNICA DOS PACIENTES

TESE HHV-8 // RECEPTOR

DI: ___/____/____ Nº _____

Nome:_____

Data de nascimento:___/___/____ Idade:_____ Sexo: ( ) Masc ( ) Fem Cor: _____

Naturalidade: _____ Procedência:_____ Profissão:_____

Endereço_____

Fone:_____

Tx atual em: ____/____/____

Rim Doador Vivo ( ) HLA I( ) II( ) III( ). Obs.:_____

Doador Falecido ( )

Etiologia da IRC: _____

Diálise Prévia: ( ) Peritoneal ( ) Hemodiálise

Transfusões:_____

Antecedentes Pessoais:

( ) UDEV ( ) Uso de Preservativos ( ) DST _____

( ) Homossexual ( ) Heterossexual

IMUNOSSUPRESSORES	DOSE	PERÍODO
-prednisona		
-ciclosporina		
-azatioprina		
-anticorpo monoclonal		
-anticorpo policlonal		
-MMF		
-FK-506		
-rapamicina		
-RAD		
-FTY		

Transplante prévio em / /

Episódios de rejeição prévios	
DATA	TRATAMENTO

SOROLOGIAS	/ /	/ /	/ /
CMV	IgM IgG	IgM IgG	IgM IgG
Epstein-Barr	IgM IgG	IgM IgG	IgM IgG
Hepatite B -Anti-HbS -HbS-Ag -anti-HbC IgG -anti HbC-T -HbE Ag -anti-HbE			
Hepatite C			
Toxoplasmose	IgM IgG avidez	IgM IgG avidez	IgM IgG avidez
Sífilis -VDRL -treponêmico			
HIV			
HERPES-2			

SOROLOGIAS HHV-8			
Anticorpo Anti AG-lítico		// Anticorpo Anti-LANA	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	

ELISA		ELISA	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	
/ /		/ /	

Hemodiálise Pós-TX		// Transfusão Sg. Pós-TX	
/ /		/ /	
/ /		/ /	

EVOLUÇÃO PÓS-TRANSPLANTE

DATA / /
Q.C.=_____
_____
_____

EXAME FÍSICO= _____
_____
_____

DATA / /
Q.C.=_____
_____
_____

EXAME FÍSICO= _____
_____
_____

DATA / /
Q.C.=_____
_____
_____

EXAME FÍSICO= _____
_____
_____

DATA / /
Q.C.=_____
_____
_____

EXAME FÍSICO= _____
_____
_____

DATA / /
Q.C.=_____
_____
_____

EXAME FÍSICO= _____
_____
_____

TRATAMENTOS:

INFECÇÃO	DROGA	DOSE	PERÍODO

EXAMES LABORATORIAIS

RX						
HB/HT						
LEUCO						
Dif.						
PLAQ.						
CREAT.						
URÉIA						
Na/K						
TGO/TGP						
FA/γGT						
BD/BI						
AP/RNI						
DHL						
Urina1						

TESE HHV-8 // DOADOR

DI: ___/____/____ Nº _____

Nome:_____

Data de nascimento:___/___/____ Idade:_____ Sexo: ( ) Masc ( ) Fem Cor: _____

Naturalidade: _____ Procedência:_____ Profissão:_____

Endereço_____

Fone:_____

Tx atual em: ____/____/____

Rim Doador Vivo ( ) HLA I( ) II( ) III( )

Doador Falecido ( ) Causa: _____

Antecedentes Pessoais:

( ) UDEV ( ) Uso de Preservativos ( ) DST _____

( ) Homossexual ( ) Heterossexual

Sorologias	____/____/_____	____/____/_____	____/____/_____
CMV	IgM /IgG	IgM /IgG	IgM /IgG
Hepatite B			
Hepatite C			
HH HHV-8	LANA LÍTICO ELISA	LANA LÍTICO ELISA	LANA LÍTICO ELISA

ANEXO III
APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

75 anos UNIFESP

Universidade Federal de São Paulo *Comitê de Ética em Pesquisa*
Hospital São Paulo

São Paulo, 14 de novembro de 2008.
CEP 1863/08

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) POLLYANE SOUSA GOMES
Co-Investigadores: Celso Francisco Hernandes Granato, Luis Fernando Aranha Camargo (orientador)
Disciplina/Departamento: Doenças Infecciosas e Parasitárias/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença primária causada pelo Herpesvírus humano-8 após o transplante renal".**

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Observacional.
RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Sem risco, sem procedimento invasivo.
OBJETIVOS: Epidemiologia da doença primária ou reativada após transplante renal pelo HHV-8.
RESUMO: Trabalho realizado no Hospital do Rim e Hipertensão da Fundação Osvaldo Ramos. Foi realizado um estudo prospectivo aberto, não randomizado do tipo cohort, cujas informações foram coletadas de modo sucessivo e sistemático entre os meses de abril de 2001 a junho de 2004, em um único hospital. Este estudo consiste no acompanhamento dos pacientes receptores de transplante renal para avaliar a epidemiologia da doença primária ou reativada após transplante renal pelo HHV-8. Os pacientes foram entrevistados utilizando-se um questionário padronizado e pré-codificado. Foram coletadas informações sociodemográficas,, potenciais formas de exposição a agentes infecciosos de transmissão sanguínea e sexual, forma de diálise que o paciente era submetido, o tipo de doador do transplante renal e a imunossupressão. O acompanhamento dos pacientes foi realizado em duas fases: a) primeira fase: todos os receptores soropositovos para HHV-8 e previametne ao transplante e também os receptores soronegativos, mas que possuiam doadores soropositovos para HHV-8 foram seguidos mensalmente através de consultas, inicialmente durante 6 meses. B) na segunda fase, os prontuários de todos os pacientes foram avaliados após 1 e 2 anos após o transplante para verificar a ocorrência ou não de sarcoma de Kaposi, sobrevida do enxerto e do paciente. Foram analisados os ensaios laboratoriais e moleculares..
FUNDAMENTOS E RACIONAL: Não há na literatura, dados sobre epidemiologia da doença primária ou reativada do herpesvirus humano 8 na população de transplantados renais do Brasil e o impacto dessa infecção na sobrevida desse paciente e do enxerto renal..
MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos a serem realizados, sendo o estudo conduzido no centro onde são realizados grande número de transplantes renais..
TCLE: Adequado, de acordo com a resolução 196/96.

Rua Botucatu, 572 - 1º andar – conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

1

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **9/11/2009** e **9/11/2010**.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

1863/08

Rua Botucatu, 572 - 1º andar – conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

9. REFERÊNCIAS

1. KAPOSI, M. Idiopathisches multiples Pigmentsarkom der Haut. **Arch Derm Syph**. 1872; 4: 265-273.
2. HARWOOD, A. R.; OSABA, D.; HORFSTADER, S. L.; ET AL. Kaposi´s sarcoma in recipients of renal transplants. **Am J Med**. 1979; 67: 759-765.
3. CHANG, Y.; CESARMAN, E.; PESSIN, M. S.; ET AL. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi`s sarcoma. **Science**. 1994; 266: 1865-1869.
4. RENNE, R.; ZHONG, W.; HERNDIER, B.; ET AL. Lytic growth of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in culture. **Nature Medicine**. 1996; 2:342-347.
5. MOORE, P. S.; GAO, S. J.; DOMÍNGUEZ, G.; ET AL. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcoma. **J Virol**. 1996; 70:549-58.
6. BUBMAN, D. & CESARMAN, E. Pathogenesis of Kaposi's sarcoma. **Hematol. Oncol Clin. N. Am.** 2003; 17:717-745.
7. NEIPEL, F.; ALBRECHT, J.C.; FLECKENSTEIN, B. Human herpesvirus 8--the first human Rhadinovirus. J Natl Cancer Inst Monogr 1998; 73-7.
8. ARVANITAKIS, L.; MESRI, E. A.; NADOR, R. G.; ET AL. Establishment and characterization of a primary effusion (body cavity-based) lymphoma cell line (BC-3) harboring Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in the absence of Epstein-Barr virus. Blood 1996; 88:2648-54.
9. SAID, J. W.; CHIEN, K.; TAKEUCHI, S.; ET AL. Kaposi's sarcoma- associated herpesvirus (KSHV or HHV8) in primary effusion lymphoma: ultrastructural demonstration of herpesvirus in lymphoma cells. Blood 1996; 87:4937-43.
10. SAID, J. W.; CHIEN, K.; TASAKA, T.; ET AL. Ultrastructural characterization of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma - associated herpesvirus) in Kaposi's sarcoma lesions: Electron microscopy permits distinction from cytomegalovirus (CMV). **J Pathol** 1997; 182:273-281.
11. BOSHOFF, C., SCHULZ, T. F., KENNEDY, M. M., ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infects endothelial and spindle cells. **Nature Med** 1995; 1: 1274.

12. DECKER, L. L.; SHANKAR, P.; KHAN, G.; ET AL. The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) is present as an intact genome in KS tissue but replicates in the peripheral blood mononuclear cells of KS patients. **J Exp Med** 1996; 184: 283.
13. MESRI, E. A.; CESARMAN, E.; ARVANITAKIS, L.; ET AL. Human herpesvirus-8/Kaposi`s sarcoma-associated herpesvirus is a new transmissible virus that infects B cells. **J Exp Med** 1996; 183: 2385.
14. AMBROZIAK, J. A.; BLACKBOURN, D. J.; HERNDIER, B. G.; ET AL. A Herpes-like sequences in HIV-infected and unifected Kaposi's sarcoma patients. **Science** 1995; 268: 582-583.
15. FOREMAN, K. E. Kaposi's sarcoma: the role of HHV-8 and HIV-1 in pathogenesis. In: Reviews in molecular medicine. Ed. Cambridge, 2001.
16. SHARP, TV; BOSHOFF, C. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: from cell biology to pathogenesis. **IUBMB Life** 2000; 49:97-104.
17. RENNE, R.; LAGUNOFF, M.; ZHONG, W.; ET AL. The size and conformation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in infected cells and viruses. **J Virol** 1996 70: 8151.
18. NICHOLAS, J.; ZONG, J. C.; ALCENDOR, DJ., ET AL. Novel organizational features captured cellular genes, and strain variability within the genome of KSHV/ HHV8. **J Natl Cancer Inst Monogr** 1998; 23:79-88.
19. LEVY, J. A. Three new human herpesvirus (HHV-6, 7 and 8). **Lancet** 1997; 349:558-563.
20. LIN, S. F.; SUN, R.; HESTON, L.; ET AL. Identification, expression, and immunogenicity of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded small viral capsid antigen. **J Virol** 1997; 71:3069-76.
21. RUSSO, J. R.; BOHENZKY, R. A.; CHIEN, M. C.; ET AL. Nucleotide Sequence of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (HHV-8). **Proc Natl Acad Sci U.S.A** 1996; 93: 14.862-14.867.
22. NEIPEL, F.; ALBRECHT, J. C.; FLECKENSTEIN, B. Cell-homologous genes in the Kaposi's sarcoma-associated rhadinovirus human herpesvirus 8: Determinants of its pathogenicity? **J Virol** 1997; 71: 4187-4192.
23. HENGGE, U. R., RUZICKA, T., TYRING, S.K.; ET AL. Update on Kaposi's sarcoma and other HHV8 associated diseases. Part 2: pathogenesis, Castleman's disease, and pleural effusion lymphoma. **Lancet Infect Dis** 2002; 2:344-52.
24. EDELMAN D.C. Human herpesvirus 8 a novel human pathogen. **Virol J** 2005; 2:78.

25. ZONG, J. C.; METROKA, C.; REITZ, M. S. ET AL. Strain variability among Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) genomes: evidence that a large cohort of United States AIDS patients may have been infected by a single common isolate. **J. Virol** 1997; 71: 2505.
26. DI ALBERT, L.; NGUI, S. L.; PORTER, S. R. ET AL. Presence of human herpesvirus 8 variants in the oral tissues of human immunodeficiency virus- infected persons. **J Infect Dis** 1997; 175:703-707.
27. POOLE, L.J., ZONG, J.C., CIUFO, D.M.; ET AL. Comparison of genetic variability at multiple loci across the genomes of the major subtypes of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus reveals evidence for recombination and for two distinct types of open reading frame K15 alleles at the right-hand end. **J Virol** 1999; 73:6646-60.
28. ZONG, J.C., CIUFO, D.M., ALCENDOR, D.J.; ET AL. High-level variability in the ORF-K1 membrane protein gene at the left end of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus genome defines four major virus subtypes and multiple variants or clades in different human populations. **J Virol** 1999; 73:4156-70.
29. ALAGIOZOGLOU, L.; SITAS, F.; MORRIS, L. Phylogenetic analysis of human herpesvirus-8 in South Africa and identification of a novel subgroup. **J Gen Virol** 2000; 81:2029-38.
30. SCHULZ, T.F. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8): epidemiology and pathogenesis. **J Antimicrob Chemother** 2000; 45 Suppl T3:15-27.
31. DUKERS N.H.; REZZA, G. Human herpesvirus 8 epidemiology: what we do and do not know. **AIDS** 2003; 17:1717-30.
32. BIGGAR, R.J., WHITBY, D., MARSHALL, V.; ET AL. Human herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians: a hyperendemic population with a new subtype. **J Infect Dis** 2000; 181: 1562-8.
33. CATERINO-DE-ARAUJO, A. Human herpesvirus 8 group B and C variants circulating in São Paulo, Brazil. **J Infect Dis** 1998; 177:1136-1137.
34. CATERINO-DE-ARAÚJO, A.; CALABRO, M. L.; FÁVERO, A. ET AL. Detection of herpes virus (KSHV) DNA in Brazilian patients with AIDS-associated Kaposi's sarcoma**. Braz J Infect Dis** 1997; 1:256-9.

35. MOREIRA, A.A. Pesquisa de sítios de restrição enzimática em segmento da ORF K1 do genoma de herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) em isolados clínicos de São Paulo: relação com subtipos virais e implantação da técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses) para determinar subtipos virais. São Paulo, 2003. (Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo).
36. NASCIMENTO, M.C.,WILDER, N., PANNUTI, C.S., Molecular characterization of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) from patients with AIDS-associated Kaposi's sarcoma in Sao Paulo, Brazil. **Clin Virol** 2005;33:52-9.
37. CUNHA, A. M.; CATERINO-DE-ARAUJO, A.; COSTA, S. C.; ET. AL. Increasing seroprevalence of human herpesvirus 8 (HHV-8) with age confirms HHV-8 endemicity in Amazon Amerindians from Brazil. **J Gen Virol**. 2005; 86:2433-7.
38. BEYARI, M. M.; HODGSON, T. A.; COOK, R. D.; ET AL. Multiple human herpesvirus-8 infection. **J Infect Dis** 2003;188: 678-89.
39. STASKUS, K. A.; ZHONG, W.; GEBHARD, K. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpes-virus gene expression in endothelial (spindle) tumor cells. **L Virol** 1997; 71:715-719.
40. DAVIS, M. A.; STÜRZL, M. A.; BLASIG, C. ET AL. Expression of human herpesvirus 8-encoded cyclin D in Kaposi's sarcoma spindle cells. **J Natl Cancer Inst** 1997; 89:1868-74.
41. STÜRZL, M.; BLASIG, C.; SCHREIER, A. ET AL Expression of HHV-8 latency-associated T0.7 RNA in spindle cells and endothelial cells of AIDS-associated, classical and African Kaposi's sarcoma. **Int J Cancer** 1997; 72:68-71.
42. SARID, R.; SATO, T.; BOHENZKY, R. A. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encodes a functional bcl-2 homologue. **Nature Med** 1997; 3:293-8.
43. FOREMAN, K.E; BACON, P.E; HIS, E.D. ET AL. In situ polymerase chain reaction-based localization studies support role of human herpesvirus-8 as the cause of two AIDS-related neoplasms: Kaposi's sarcoma and body cavity lymphoma. **J Clin Invest** 1997; 99:2971-8.
44. MURALIDHAR, S.; PUMFERY, A. M.; HASSANI, M. ET AL. Identification of Kaposin (ORF K12) as a human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma associated herpesvirus) transforming gene**. J Virol** 1998; 72:4980-4988.
45. SWANTON, C.; MANN, D. J.; FLECKENSTEIN, B. ET AL. Herpes viral cyclin/Cdk6 complexes evade inhibition by CDK inhibitor proteins. **Nature** 1997;1390: 184-7.

46. FRIBORG, J. Jr.; KONG, W. P.; HOTTIGER, M. O. ET AL. p53 inhibition by the LANA protein of KSHV protects against cell death. **Nature** 1999; 402:889-94.
47. BLASIG, C.; ZIETZ, C.; HAAR, B. ET AL. Monocytes in Kaposi's sarcoma lesions are productively infected by human herpesvirus 8. **J Virol** 1997; 71: 7963-7968.
48. LEE, H.; VEAZEY, R.; WILLIAMS, K. ET AL. Deregulation of cell growth by the kl gene of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Nature med** 1998; 4:435-40.
49. LEE. H.; GUO, J.; LI, M. ET AL. Identification of an immunoreceptor tyrosine-based activation motif of K1 transforming protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Mol Cell Biol** 1998; 18:5219-28.
50. BAIS, C.; SANTOMASSO, B.; COSO, O. ET AL. G-protein-coupled receptor of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is a viral oncogene and angiogenesis activator. **Nature** 1998; 391:86-9.
51. BOSHOFF, C.; ENDO, Y.; COLLINS, P.D. ET AL. Angiogenic and HIV-inhibitory functions of KSHV-encoded chemokines. **Science** 1997; 278:290-4.
52. LUPPI, M.; BAROZZI, P.; SCHULZ, TF. ET AL. Nonmalignant disease associated with human herpesvirus 8 reactivation in patients who have undergone autologous peripheral blood stem cell transplantation. **Blood** 2000; 96: 2355-7.
53. HOWARD, M. R.; WHITBY, D.; BAHADUR, G. ET AL. Detection of human herpesvirus 8 DNA in semen from HIV- infected individuals but not healthy semen donors. **AIDS** 1997; 11:F15-19.
54. KOELLE, D. M.; HUANG, M. L.; CHANDRAN, B. ET AL. Frequent detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in saliva of human imunodeficiency virus-infected men: Clinical and imunologic correlates. **J Infect Dis** 1997; 176: 94-102.
55. LADUCA, J. R.; LOVE, J. L.; ABBOTT, L. Z. ET AL. Detection of human herpesvirus 8 DNA sequences in tissues and bodily fluids. **J Infect Dis** 1998; 178:1610-5.
56. PAUK, J.; HUANG, M. L.; BRODIE, S. J. ET AL. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. **N Engl J Med** 2000; 343:1369-1377.
57. WHITBY, D.; HOWARD, M. R.; TENANT-FLOWERS, M. ET AL. Detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in peripheral blood of HIV-infected individuals and progression to Kaposi s sarcoma. **Lancet** 1995; 346: 799-802.

58. GRANDADAM, M.; DUPIN, N.; CALVEZ, V. ET AL. Exacerbations of clinical symptoms in human immunodeficiency virus type 1-infected patients with multicentric Castleman's disease are associated with a high increase in Kaposi's sarcoma herpesvirus DNA load in peripheral blood mononuclear cells. **J Infect Dis** 1997; 175:1198-201.
59. HARRINGTON, W. J. JR.; BAGASRA, O.; SOSA, C.E. ET AL. Human herpesvirus type 8 DNA sequences in cell-free plasma and mononuclear cells of Kaposi's sarcoma patients. **J Infect Dis** 1996 ; 174:1101-5.
60. PIERROTTI, L. C.; SUMITA, L. M.; FREIRE, W. S. ET AL. Detection of human herpesvirus 8 DNA and antibodies to latent nuclear and lytic-phase antigens in serial samples from aids patients with Kaposi s sarcoma. **J Clin Virol** 2000; 16: 247-251.
61. BLACKBOURN, D.J.; AMBROZIAK, J.; LENNETTE, E. ET AL. Infectious human herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor. **Lancet** 1997; 349:609-11.
62. CALABRÒ, M.L.; FIORE, J.R.; FAVERO, A. ET AL. Detection of human herpesvirus 8 in cervicovaginal secretions and seroprevalence in human immunodeficiency virus type 1-seropositive and -seronegative women. **J Infect Dis** 1999; 179: 1534-7.
63. LISCO, A.; BARBIERATO, M.; FIORE, J.R. ET AL. Pregnancy and human herpesvirus 8 reactivation in human immunodeficiency virus type 1-infected women. **J Clin Microbiol** 2006; 44:3863-71.
64. CATERINO-DE-ARAUJO, A. & CIBELLA, S. E. L. Searching for antibodies to HHV-8 in children born to HIV-1 infected mothers from São Paulo, Brazil. Relationship to maternal infection. **J Trop Pediatr** 2003;49:247-50.
65. LUNARDI-ISKANDAR, Y.; BRYANT, J. L.; ZEMAN, R. A. ET AL. Tumorigenesis and metastasis of neoplastic Kaposi’s sarcoma cell line in immunodeficient mice blocked by a human pregnancy hormone. **Nature** 1995; 375:64-68.
66. MBULAITEYE, S.M.; PFEIFFER, R.M.; WHITBY, D.; ET AL. Human herpesvirus 8 infection within families in rural Tanzania. **J Infect Dis** 2003; 187:1780-5.
67. MBULAITEYE, S.; MARSHALL, V.; BAGNI, R.K. ET AL. Molecular evidence for mother-to-child transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in Uganda and K1 gene evolution within the host. **J Infect Dis** 2006; 193:1250-7.
68. MBULAITEYE, S.M.; PFEIFFER, R.M.; ENGELS, E.A.; ET AL. Detection of kaposi sarcoma-associated herpesvirus DNA in saliva and buffy-coat samples from children with sickle cell disease in Uganda. **J Infect Dis** 2004; 190:1382-6.

69. ANDREONI, M.; EL-SAWAF, G.; REZZA, G. ET AL. High seroprevalence of antibodies to human herpesvirus 8 in Egyptian children: Evidence of nonsexual transmission. **J Natl Cancer Inst** 1999; 91:465-469.
70. HE, J.; BHAT, G.; KANKASA, C. ET AL. Seroprevalence of human herpesvirus 8 among Zambian women of childbearing age without Kaposi's sarcoma (KS) and mother- child pairs with KS. **J Infect Dis** 1998; 178:1787-1790.
71. MAYAMA, S.; CUEVAS, L. E.; SHELDON, J. ET AL. Prevalence and transmission of Kaposi's sarcoma- associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in Ugandan children and adolescents. **Int. J. Cancer** 1998; 77:817-820.
72. PLANCOULAINE, S.; ABEL, L.; VAN BEVEREN, M. ET AL. Human herpesvirus 8 transmission from mother to child and between siblings in an endemic population. **Lancet** 2000; 356:1062-5.
73. GRULICH, A.E.; OLSEN, S.J.; LUO, K. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: a sexually transmissible infection? **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol** 1999; 20:387-93.7
74. MARTIN, J. N.; GANEM, D. E.; OSMOND, D. H. ET AL. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. **N Engl J Med** 1998; 338: 948-954.
75. MELBYE, M.; COOK, P. M.; HJALGRIM, H. ET AL. Risk factors for Kaposi's-sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) seropositivity in a cohort of homosexual men, 1981-1996. **Int J Cancer** 1998; 77: 543-8.
76. O'BRIEN, T.R.; KEDES, D.; GANEM, D. ET AL. Evidence for concurrent epidemics of human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus type 1 in US homosexual men: rates, risk factors, and relationship to Kaposi's sarcoma. **J Infect Dis** 1999; 180:1010-7.
77. DUKERS, N. H.; RENWICK, N.; PRINS, M. ET AL. Risk factors for human herpesvirus 8 seropositivity and seroconversion in a cohort of homosexual men. **Am J Epidemiol** 2000; 151:213-24.
78. SIMPSON, G. R.; SCHULZ, T. F.; WHITBY, D. ET AL. Prevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. **Lancet** 1996; 348:1133-8.
79. BERAL, V.; PETERMAN, T. A.; BERKELMAN, R. L. ET AL. Kaposi's sarcoma among persons with AIDS: a sexually transmitted infection? **Lancet** 1990; 335:123-8.
80. MARCELIN, A. G.; APETREI, C.; DUPIN, N. ET AL. Parenteral transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **AIDS** 1998; 12: 2351-63.

81. FRANCES, C.; MOUQUET, C.; MARCELIN, A. G. ET AL. Outcome of kidney transplant recipients with previous human herpesvirus - 8 infection. **Transplantation** 2000; 69:1776-1779.
82. CANNON, M.J.; DOLLARD, S.C.; SMITH, D.K. ET AL. Blood-borne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. **N Engl J Med** 2001; 344:637-43.
83. CANNON, M.J.; DOLLARD, S.C.; BLACK, J.B. ET AL. Risk factors for Kaposi's sarcoma in men seropositive for both human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus. **AIDS** 2003; 17: 215-22.
84. DOLLARD, S.C.; NELSON, K.E.; NESS, P.M. ET AL. Possible transmission of human herpesvirus-8 by blood transfusion in a historical United States cohort. **Transfusion** 2005; 45:500-3.
85. DODD RY. Human herpesvirus-8: what (not) to do? **Transfusion** 2005;45: 463-5.
86. HLADIK, W.; DOLLARD, S.C.; MERMIN, J.; ET AL. Transmission of human herpesvirus 8 by blood transfusion. **N Engl J Med** 2006; 355:1331-8.
87. FERREIRA, S.; SANABANI, S.; REIS, A.D. ET AL. Human herpesvirus type 8 among Brazilian blood donors. **Transfusion** 2003;43: 1764-5.
88. HSU, YH.; LIN, DY.; LIOU, HH. Human herpesvirus-8 infection in hemodialysis patients from eastern Taiwan--Hualien. **Kaohsiung J Med Sci** 2002; 18: 393-6.
89. ZAVITSANOU A, SYPSA V, PETRODASKALAKI M. ET AL. Human herpesvirus 8 infection in hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis** 2006; 47(1):167-70.
90. PARRAVICINI, C.; OLSEN, S. J.; CAPRA, M. ET AL. Risk of Kaposi s sarcoma-associated herpesvirus transmission from donor allografts among Italian posttransplant Kaposi s sarcoma patients. **Blood** 1997; 90: 2826
91. REGAMEY, R.; YAMM, M.; WERNLI, M. ET AL. Transmission of human herpesvirus 8 infection from renal transplants donors to recipients. **N Engl J Méd** 1998; 339: 1358.
92. NOCERA, A.; CORBELLINO, M.; VALENTE, U. ET AL. Posttransplant human herpesvirus 8 infection and Seroconvertion in a Kaposi’s sarcoma affected Kidney recipient transplanted from a human herpesvirus 8 positive living related donor. **Transplantation Proceedings** 1998; 30: 2095-2096.
93. CATTANI, P.; CAPUANO, M.; GRAFFEO, R. ET AL. Kaposi's sarcoma associated with previous human herpesvirus 8 infection in kidney transplant recipients. **J Clin Microbiol** 2001; 39: 506-508.

94. FRANCES, C.; MOUQUET, C.; CALVEZ, V. Human herpesvirus 8 and renal transplantation .**N Engl J Med** 1999; 340: 1045-1046.
95. LUPPI, M.; BAROZZI, P.; SCHULZ, T. F. ET AL. Bone marrow failure associated with human herpesvirus 8 infection after transplantation. **N Engl J Med** 2000; 343: 1378-1385.
96. MILLIANCOURT, C. S.; BARETE, A. G.; MARCELIN, C. ET AL. Human herpesvírus-8 seroconvertions after renal transplantation. **Transplantation** 2001; 72:1319- 1320.
97. GAO, S. J.; KINGSLEY, L.; LI, M. ET AL. KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. **Nature Med** 1996; 2: 925.
98. MARCELIN, A. G.; DUPIN, N.; BOSSI, P.; CALVEZ, V. Seroprevalence of human herpesvirus 8 in healthy subjects and patients with AIDS-associated and classical Kaposi s sarcoma in France. **AIDS** 1998; 12: 539.
99. KEDES, D. H.; OPERSKALSKI, E.; BUSCH, M. ET AL. The Seroepidemiology of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus): distribution of infection in KS risks groups and evidence for sexual transmission. **Nature Med** 1996; 2: 918-924.
100. LENNETTE, E. T.; BLACKBOURN, D. J.; LEVY, J. A. Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. **Lancet** 1996*;* 348: 858-861.
101. SMITH, N. A.; SABIN, C. A.; GOPAL, R. ET AL. Serologic evidence of human herpesvirus 8 by homosexual but not heterosexual sex. **J Infect Dis** 1999; 180: 600-606.
102. ZAGO, A.; BOURBOULIA, D.; VIANA, MC. ET AL. Seroprevalence of human herpesvirus 8 and its association with Kaposi sarcoma in Brazil. **Sex Transm Dis** 2000; 27:468-72.
103. CATERINO-DE-ARAUJO, A.; CALABRO, ML.; DE LOS SANTOS-FORTUNA, E. ET AL. Searching for human herpesvirus 8 antibodies in serum samples from patients infected with human immunodeficiency virus type 1 and blood donors from Sao Paulo, Brazil. **J Infect Dis** 1999 179:1591-2.
104. SOUZA, V. A. U. F.; CONSTANTINE, N.; NASCIMENTO, M. C. ET AL. Prevalence of antibodies to human herpesvirus type 8 (HHV-8) in high risk populations. **Virus Rev Res** 1998 (3) Suppl 1:115.

105. ZHANG, X. Q.; FITZPATRICK, L.; CAMPBELL, T. B. ET AL. Comparison of the prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 (Kaposí´s sarcoma- associated herpesvirus) in Brazil and Colorado. **J Infect Dis** 1998; 178:1488-91.

106. QUNIBI, A.; AKHTAR, M.; SHETH, K. ET AL. Kaposi's sarcoma: the most common tumor after transplantation in Saudi Arabia. **Am J Med** 1988; 84: 225.

107. ALMUNEEF, M.; NIMJEE, S.; KHOSHNOOD, K. ET AL. Prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 (HHV-8) in Saudi Arabian patients with and without renal failure. **Transplantation** 2001; 71:1120-1124

108. QUNIBI, W.; AL-FURAYH, O.; ALMESHARI, K. ET AL. Serologic association of human herpesvirus eight with posttransplant Kaposi's sarcoma in Saudi Arabia. **Transplantation** 1998; 65:583-5.

109. SOTO-RAMÍREZ, L. E.; SALAZAR, A.; FIGUEROA-GRANADOS, V. ET AL. Risk factors for human herpesvirus- 8 seropositivity in chronic renal failure patients and in Kidney transplant recipients. **Transplantation** 2002 (supplement) 74-4: 583.

110. CHALLINE, D.; ROUDOY-THORAVAL, F.; LAPERCHE, L. ET AL. Seroprevalence of Human Herpes Virus 8 antibody in population or low risk of transfusion, graft, or sexual transmission of virus. **Transfusion** 2001; 41:1120-1125.

111. DOTTI, G.; FIOCCHI, R.; MOTTA, T. ET AL. Primary effusion lymphoma after heart transplantation: a new entity associated with human herpesvirus-8. **Leukemia** 1999; 13:664-70.

112. FONSECA, R.; WITZIG, T. E.; OLSON, L. J. ET AL. Disseminated Kaposi's sarcoma after heart transplantation: association with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **J Heart Lung Transplant** 1998; 17:732-6.

113. JONES, D.; BALLESTAS, M. E.; KAYE, K. M. ET AL. Primary-effusion lymphoma and Kaposi's sarcoma in a cardiac-transplant recipient. **N Engl J Med** 1998; 339:444-449.

114. ROSENZWAJG, M.; FERY, N.; BONS, V. ET AL. Human herpes virus 8 (HHV8) serology in allogeneic bone marrow transplant recipients. **Bone Marrow Transplant** 1999; 24:351-4.

115. GOMES, P. S. Avaliação da soroprevalência de herpesvírus humano 8 (HHV-8, vírus associado ao sarcoma de Kaposi) em doadores e receptores de transplante renal. **Tese Mestrado- Universidade Federal de São Paulo (Escola Paulista de Medicina);** 2003**.**

116. CESARMAN, E., CHANG, Y., MOORE , P.S., ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity-based lymphomas. **N Engl J Med** 1995; 332:1186-91.

117. SOULIER, J.; GROLLET, L.; OKSENHENDLER, E. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated-like DNA sequences in Multicentric Castleman's disease. **Blood** 1995; 86:1276-1280.

118. PARRAVINCI, C.; CORBELLINO, M.; PAULLI, M. ET AL. Expression of a virus-derived cytokine, KSHV vIL-6, in HIV-seronegative Castleman's disease. **Am J Pathol** 1997; 151:1517-22.

119. RETTIG, M. B.; MA, H. J.; VESCIO, R. A. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of bone marrow dendritic cells from multiple myeloma patients. **Science**1997; 276: 1851- 1854.

120. SAID, J. W.; RETTING, M. R.; HEPPNER, K. ET AL. Localization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in bone marrow biopsy samples from patients with multiple myeloma. **Blood** 1997; 90:4278-4282.

121. CHAUHAN, D.; BHARTI, A.; RAJE, N. ET AL. Detection of Kaposi´s sarcoma herpesvirus DNA sequences in multiple myeloma bone marrow stromal cells. **Blood** 1999; 93: 1482-1486.

122. MACKENZIE, J.; SHELDON, J.; MORGAN, G. ET AL. HHV- 8 and multiple myeloma in the UK**. Lancet** 1997; 350: 1144- 1145.

123. TISDALE, J. F.; STEWART, A. K.; DICKSTEIN, B. ET AL. Molecular and serological examination of the relationship of human herpesvirus 8 to multiple myeloma: orf 26 sequences in bone marrow stroma are not restrictes to myeloma patients and other regions of the genome are not detected. **Blood** 1998; 92: 2681-2687.

124. RADY, P. L.; YEN, A.; ROLLEFSON, J. L. ET AL. Herpesvirus-like DNA sequences in non-Kaposi s sarcoma skin lesions of transplant patients. **Lancet** 1995; 345: 1339.

125. HENGGE, U. R., RUZICKA, T., TYRING, S.K.; ET AL. Update on Kaposi's sarcoma and other HHV8 associated diseases. Part 1: epidemiology, environmental predispositions, clinical manifestations, and therapy. **Lancet Infect Dis** 2002; 2:281-92.

126. HAVERKOS, H. W. & CURRAN, J. W. C. The current outbreak of Kaposi´s sarcoma and opportunistic infections. **Ca-Cancer J Clin** 1982; 32: 330-339.

127. BIGGAR, R. J.; HORM, J.; FRAUMENI, J. F. ET AL. Incidence of Kaposi's sarcoma and mycosis fungoides in the United States including Puerto Rico, 1973-81. **J Natl Cancer Inst** 1984; 73:89-94.

128. ZIEGLER, J. L. Endemic Kaposi's sarcoma in Africa and local volcanic soils. **Lancet** 1993; 342:1348- 1351.

129. SPIRA, T. J.; JAFFE, H. W. Human herpesvirus 8 and Kaposi's sarcoma. In: Emerging Infections 2. SCHELD, CRAIG, HUGHES. Ed. Washington- D. C. 1998, p.81- 104.

130. ANTMAN, K.; CHANG, Y. Kaposi´s sarcoma. **N Engl J Med** 2000; 342:1027-1038.

131. PENN, I. The changing pattern of posttransplant malignancies. **Transplant Proc** 1991; 23:1101-1103.

132. PENN, I. Kaposi´s sarcoma in transplants recipients. **Transplantation** 1997; 64: 669.

133. FARGE, D. Kaposi's sarcoma in organ transplant recipients: The collaborative Transplantation Research Group of Ile de France. **Eur J Med** 1993, 2: 339-343.

134. CATHOMAS, G.; TAMM, M.; Mc GANDY, C. E. ET AL. Transplantation-associated malignancies: restriction of human herpesvirus 8 to Kaposi s sarcoma. **Transplantation** 1997; 64:175-178.

135. CASTLEMAN, B.; IVERSON, L.; MENENDEZ, V. Localized mediastinal lymph-node hyperplasia resembling thymoma. **Cancer** 1956; 9: 822.

136. PETERSON, B. A.; FRIZZERA, G. Multicentric Castleman's disease. **Semin Oncol** 1993; 20: 636.

137. DUPIN, N.; DISS, T. L.; KELLAM, P. ET AL. HHV-8-is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8 -positive plasmablastic lymphoma. **Blood** 2000; 95:1406.

138. CARBONE, A.; GLOGHINI, A.; VACCHER, E. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus DNA sequences in AIDS-related and AIDS-unrelated lymphomatous effusions. **Br J Haematol** 1996; 94:533-43.

139. SAID, J. W.; TASAKA, T.; TAKEUCHI, S. ET AL. Primary effusion lymphoma in women: report of two cases of Kaposi's sarcoma herpes virus-associated effusion-based lymphoma in human immunodeficiency virus-negative women. **Blood** 1996; 88:3124-8.

140. KARCHER, D. S.; ALKAN, S. Human herpesvirus-8-associated body cavity-based lymphoma in human immunodeficiency virus-infected patients: a unique B-cell neoplasm. **Hum Pathol** 1997; 28:801-8.

141. KOMADURI, K. V.; LUCE, J. Á.; MCGRATH, M. S. ET AL. The natural history and molecular heterogeneity of HIV- associated primary malignant lymphomatous effusions. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol** 1996; 13: 215

142. GROVES, A. K.; COTTER, M. A.; SUBRAMANIAN, C.; ROBERTSON, E. S. The latency-associated nuclear antigen encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus activates two major essential Epstein-Bar virus latent promoters. **J virol** 2001; 75:9446.

143. MATSUSHIMA, A. Y.; STRAUCHEN, J. Á.; LEE, G. ET AL. "Posttransplantation plasmacytic proliferations related to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus". **Am J Surg Pathol** 1999; 23:1393-1400.

144. LUPPI, M.; BAROZZI, P.; MAIORANA, A. ET AL. Human herpesvirus-8 DNA sequences in human immunodeficiency virus-negative angioimmunoblastic lymphadenopathy and benign lymphadenopathy with giant germinal center hyperplasia and increased vascularity, **Blood** 1996; 87:3903-3009.

145. BEKSAC, M.; MA, M.; AKYERLI, C. ET AL. Frequent demonstration of human herpesvirus 8 (HHV-8) in bone marrow biopsy samples from Turkish patients with multiple myeloma (MM). **Leukemia** 2001; 15:1268-73.

146. HSU, H. C.; LEE, Y. M.; YANG, C. F. ET AL. Detection of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in bone marrow biopsy samples from patients with multiple myeloma. **Cancer** 2001; 91: 1409.

147. GYULAI, R.; KEMENY, L.; KISS, M. ET AL. Human herpesvirus 8 DNA sequences in angiosarcoma of the face. **Br J Dermatol** 1997; 137:467.

148. MCDONAGH, D. P.; LIU, J.; GAFFEY, MJ. ET AL. Detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequence in angiosarcoma. **Am J Pathol** 1996; 149:1363-8.

149. REMICK, S. C.; PATNAIK, M.; ZIRAN, N. M. ET AL. Human herpesvirus-8-associated disseminated angiosarcoma in an HIV-seronegative woman: report of a case and limited case-control virologic study in vascular tumors. **Am J Med** 2000; 108:660-4.

150. STEINER, M. C.; SMITH, M. E.; SPITTLE, M. F. A patient with classical Kaposi's sarcoma and angiosarcoma: bad luck or a common aetiology? **Clin Oncol (R Coll Radiol)**. 1997; 9:186-8

151. LASOTA, J.; MIETTINEN, M. Absence of Kaposi's sarcoma-associated virus (human herpesvirus-8) sequences in angiosarcoma. **Virchows Arch** 1999; 434:51-6.

152. DI ALBERTI, L.; PIATTELLI, A.; ARTESE, L. ET AL. Human herpesvirus 8 variants in sarcoid tissues. **Lancet** 1997; 350: 1655.

153. REGAMEY, N.; CATHOMAS, G.; SCHWAGER, M. ET AL. High human herpesvirus 8 seroprevalence in the homosexual population in Switzerland. **J Clin Microbiol** 1998: 36: 1784-6.

154. BELEC, L.; MOHAMED, A. S.; LECHAPT-ZALCMAN, E. ET AL. Lack of HHV-8 DNA sequences in sarcoid tissues of French patients (letter). **Chest** 1998; 114:948.

155. MAEDA, H.; NIIMI, T.; SATO, S. ET AL. Human herpesvirus 8 is not associated with sarcoidosis in Japanese patients. **Chest** 2000; 118:923.

156. COOL, C.D.; RAI, P.R.; YEAGER, M.E. ET AL. Expression of human herpesvirus 8 in primary pulmonary hypertension. **N Engl J Med** 2003 ;349:1113-22.

157. BULL, T.M.; COOL, C.D.; SERLS, A.E. ET AL. Primary pulmonary hypertension, Castleman's disease and human herpesvirus-8. **Eur Respir J** 2003; 22:403-7.

158. ANDREONI, M.; SARMATI, L.; NICASTRI, E. ET AL. Primary human herpesvirus 8 infection in immunocompetent children. **JAMA** 2002; 287:1295-300.

159. OKSENHENDLER, E.; CAZALS-HATEM, D.; SCHULZ, T. F. ET AL. Transient angiolymphoid hyperplasia and kaposi's sarcoma after primary infection with human herpesvirus 8 in a patient with human immunodeficiency virus infection. **N Engl J Med** 1998; 338:1585-1590

160. MARCELIN, A. G.; DUPIN, N.; SIMON, F. ET AL. Primary Infection with human herpervirus 8 in an HIV-l-infected patient **AIDS** 2000; 14: 1471.

161. O'NEILL, E.; DOUGLAS, J. L.; CHIEN, M. L.; GARCIA, JV. Open reading frame 26 of human herpesvirus 8 encodes a tetradecanoyl phorbol acetate- and butyrate-inducible 32-kilodalton protein expressed in a body cavity-based lymphoma cell line. **J Virol** 1997; 71: 4791-7.

162. MILLER, G.; HESTON, L.; GROGAN, E. ET AL. Selective switch between latency and lytic replication of Kaposi s sarcoma herpesvirus and Epstein-Barr virus in dually infected body cavity lymphoma cells. **J Virol** 1997; 71: 314.

163. ZHU, L.; WANG, R.; SWEAT, A. ET AL. Comparison of human sera reactivities in immunoblots with recombinant human herpesvirus (HHV)-8 proteins associated with the latent (ORF73) and lytic (ORFs 65, K8.1A, and K8.1B) replicative cycles and in immunofluorescence assays with HHV-8-infected BCBL-1 cells. **Virology** 1999; 256: 381-92.

164. REZZA, G.; DORRUCCI, M.; SERRAINO, D. ET AL. Incidence of Kaposi's sarcoma and HHV-8 seroprevalence among homosexual men with know dates of HIV Seroconvertion. **AIDS** 2000; 14: 1647-1653.

165. MILLER, G.; RIGSBY, M. O.; HESTON, L. ET AL. Antibodies to butyrate-inducible antigens of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in patients with HIV-1 infection. **N Engl J Med** 1996; 334:1292-7.

166. VERBEEK, W.; FRANKEL, M.; MILES, S. ET AL. Seroprevalence of HHV-8 antibodies in HIV-positive homosexual men without Kaposi's sarcoma and their clinical follow-up. **Am J Clin Pathol** 1998; 109:778-83.

167. REZZA, G.; LENNETTE, E. T.; GIULIANI, M. ET AL. Prevalence and determinants of anti-lytic and anti-latent antibodies to human herpesvirus-8 among Italian individuals at risk of sexually and parenterally transmitted infections. **Int J Cancer** 1998; 77:361-5.

168. REZZA, G.; ANDREONI, M.; DORRUCCI, M. ET AL. Human herpesvirus 8 seropositivity and risk of Kaposi's sarcoma and other acquired immunodeficiency syndrome-related diseases. **J Natl Cancer Inst**. 1999; 91:1468-74.

169. TEDESCHI, R.; DE PAOLI, P.; SCHULZ, TF.; DILLNER, J. Human serum antibodies to a major defined epitope of human herpesvirus 8 small viral capsid antigen. **J Infect Dis**. 1999; 179:1016-20.

170. ENBOM, M.; SHELDON, J.; LENNETTE, E. ET AL. Antibodies to human herpesvirus 8 latent and lytic antigens in blood donors and potential high-risk groups in Sweden: variable frequencies found in a multicenter serological study. **J Med Virol**. 2000; 62:498-504.

171. MARTIN, J. N.; AMAD, Z.; COSSEN, C. ET AL. Use of epidemiologically well-defined subjects and existing immunofluorescence assays to calibrate a new enzyme immunoassay for human herpesvirus 8 antibodies. **J Clin Microbiol** 2000; 38:696-701.

172. MASINI, C.; ABENI, D. D.; CATTARUZZA, M. S. ET AL. Antibodies against human herpesvirus 8 in subjects with non-venereal dermatological conditions. **Br J Dermatol** 2000; 143:484-90.

173. PERNA, A. M.; BONURA, F.; VITALE, F. ET AL. Antibodies to human herpes virus type 8 (HHV8) in general population and in individuals at risk for sexually transmitted diseases in Western Sicily. **Int J Epidemiol** 2000; 29:175-9.

174. SANTARELLI, R.; DE MARCO, R.; MASALA, M. V. ET AL. Direct correlation between human herpesvirus-8 seroprevalence and classic Kaposi's sarcoma incidence in Northern Sardinia. **J Med Virol** 2001; 65:368-72.

175. SCHATZ, O.; MONINI, P.; BUGARINI, R. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus serology in Europe and Uganda: multicentre study with multiple and novel assays. **J Med Virol** 2001; 65:123-32.

176. GAO, S. J.; KINGSLEY, L.; HOOVER, D. R. ET AL. Seroconvertion to antibodies against Kaposi s sarcoma-associated herpesvirus-related latent nuclear antigens before the development of Kaposi s sarcoma. **N Engl J Med** 1996; 335: 233-241.

177. OLSEN, S. J.; CHANG, Y.; MOORE, P. S. ET AL. Increasing Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus seroprevalence with age in a highly Kaposi's sarcoma endemic region, Zambia in 1985. **AIDS** 1998; 12:1921-1925.

178. RABKIN, C. S.; SCHULZ, T. F.; WHITBY, D. ET AL. Interassay correlation of human herpesvirus 8 serologic tests. HHV-8 Interlaboratory Collaborative Group. **J Infect Dis** 1998; 178: 304-9.

179. DUPIN, N.; MARCELIN, A. G.; GORIN, I. ET AL. Prevalence of human herpesvirus 8 infection measured by antibodies to a latent nuclear antigen in patients with various dermatologic diseases. **Arch Dermatol** 1998; 134:700-2.

180. WHITBY, D.; LUPPI, M.; BAROZZI, P. ET AL. Human herpesvirus 8 seroprevalence in blood donors and lymphoma patients from different regions of Italy. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90:395-7.

181. FUJII, T.; TAGUCHI, H.; KATANO, H. ET AL. Seroprevalence of human herpesvirus 8 in human immunodeficiency virus 1-positive and human immunodeficiency virus 1-negative populations in Japan. **J Med Virol** 1999; 57:159-62.

182. DIAMOND, C.; THIEDE, H.; PERDUE, T. ET AL. Seroepidemiology of human herpesvirus 8 among young men who have sex with men. **Sex Transm Dis** 2001; 28:176-83.

183. ENGELS, E. A.; WHITBY, D.; GOEBEL, P. B. ET AL. Identifying human herpesvirus 8 infection: performance characteristics of serologic assays. **J Acquir Immune Defic Syndr** 2000; 23:346-54.

184. DAVIDOVICI, B.; KARAKIS, I.; BOURBOULIA, D. ET AL. Seroepidemiology and molecular epidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among Jewish population groups in Israel. **J Natl Cancer Inst** 2001; 93:194-202.

185. CHATLYNNE, L. G.; LAPPS, W.; HANDY, M. ET AL. Detection and titration of human herpesvirus-8-specific antibodies in sera from blood donors, acquired immunodeficiency syndrome patients, and Kaposi's sarcoma patients using a whole virus enzyme-linked immunosorbent assay. **Blood** 1998; 92:53-8.

186. INOUE, N.; MAR, E. C.; DOLLARD, S. C. ET AL. New immunofluorescence assays for detection of Human herpesvirus 8-specific antibodies. **Clin Diagn Lab Immunol** 2000; 7: 427-35.

187. BLACKBOURN, D. J.; OSMOND, D.; LEVY, J. A.; LENNETTE, E. T. Increased human herpesvirus 8 seroprevalence in young homosexual men who have multiple sex contacts with different partners. **J Infect Dis** 1999; 179:237-9.

188. SPIRA, T. J.; LAM, L.; DOLLARD, S. C. ET AL. Comparison of serologic assays and PCR for diagnosis of human herpesvirus 8 infection. **J Clin Microbiol** 2000; 38:2174-80.

189. GAO, S. J.; ALSINA, M.; DENG, J. H. ET AL. Antibodies to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in patients with multiple myeloma. **J Infect Dis** 1998; 178:846-9.

190. SOSA, C.; KLASKALA, W.; CHANDRAN, B. ET AL. Human herpesvirus 8 as a potential sexually transmitted agent in Honduras. **J Infect Dis** 1998; 178:547-51.

191. RAAB, M. S.; ALBRECHT, J. C.; BIRKMANN, A. ET AL. The immunogenic glycoprotein gp35-37 of human herpesvirus 8 is encoded by open reading frame K8.1. **J Virol** 1998; 72:6725-31.

192. CHANDAN, B.; SMITH, M. S.; KOELLE, D. M. ET AL. Reactivities of human sera with human herpesvirus-8- infected BCBL-1 cells and identification of HHV-8-specific proteins and glycoproteins and the enconding cDNAs. **Virology** 1998; 243: 208-217.

193. SMITH, M. S.; BLOOMER, C.; HORVAT, R. ET AL. Detection of human herpesvirus 8 DNA in Kaposi's sarcoma lesions and peripheral blood of human immunodeficiency virus-positive patients and correlation with serologic measurements. **J Infect Dis** 1997; 176:84-93.

194. CHANDRAN, B., BLOOMER, C., CHAN, S.R. ET AL. Human herpesvirus-8 ORF K8.1 gene encodes immunogenic glycoproteins generated by spliced transcripts. **Virology** 1998; 249:140-9.

195. KATANO, H.; SATA, T.; SUDA, T. ET AL. Expression and antigenicity of human herpesvirus 8 encoded ORF59 protein in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. **J Med Virol** 1999;59:346-55.

196. SHIMIZU, S.; KATANO, H.; SATA, T. ET AL. Absence of anti-human herpesvirus 8 antibody in 32 Japanese hemophiliacs with advanced HIV infection. **Arch Dermatol Res** 2001; 293:380-1.

197. BOSHOFF, C. ; WEISS, R.A. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Adv Cancer Res** 1998;75:57-86.

198. CALABRO, M.L. ; SHELDON, J. ; FAVERO, A. ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus DNA sequences in AIDS-related lymphomatous effusions. **Br.J.Haematol** 1998 ; 332 :1186-1191.

199. SARID, R. ; OLSEN, S.J. ; MOORE, P.S. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: epidemiology, virology, and molecular biology. **Adv Virus Res** 1999;52:139-232.

200. CATTANI, P.; CAPUANO, M.; CERIMELE, F.; ET AL. Human herpesvirus 8 seroprevalence and evaluation of nonsexual transmission routes by detection of DNA in clinical specimens from human immunodeficiency virus-seronegative patients from central and southern Italy, with and without Kaposi's sarcoma. **J Clin Microbiol** 1999; 37:1150-3.

201. VIEIRA, J.; HUANG, M. L.; KOELLE, D. M. ET AL. Transmissible Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in saliva of men with a history of Kaposi's sarcoma. **J Virol** 1997; 71: 7083-7087.

202. CLOUTIER, N.; GRAVEL, A.; FLAMAND, L. Multiplex detection and quantitation of latent and lytic transcripts of human herpesvirus-8 using RNase Protection Assay. **J Virol Methods** 2004;122:1-7.

203. LANEY, A.S.; DOLLARD, S.C.; JAFFE, H.W. Repeated measures study of human herpesvirus 8 (HHV-8) DNA and antibodies in men seropositive for both HHV-8 and HIV. **AIDS** 2004; 18:1819-26.

204. STAMEY, F.R.; DELEON-CARNES, M.; PATEL, M.M. Comparison of a microtiter plate system to Southern blot for detection of human herpesvirus 8 DNA amplified from blood and saliva. **J Virol Methods** 2003; 108:189-93.

205. STAMEY, F.R.; PATEL, M.M.; HOLLOWAY, B.P. ET AL. Quantitative, fluorogenic probe PCR assay for detection of human herpesvirus 8 DNA in clinical specimens. **J Clin Microbiol** 2001; 39:3537-40.

206. PELLETT, P.E.; WRIGHT, D.J.; ENGELS, E.A. ; ET AL. Multicenter comparison of serologic assays and estimation of human herpesvirus 8 seroprevalence among US blood donors. Retrovirus Epidemiology Donor Study. **Transfusion** 2003; 43:1260-8.

207. ICH Harmonised. Tripartite Guideline for Good Clinical Practice. Bookwood Medical Publications Ltd, 1997 e 2001.

208. PIERROTTI, L.C. Estudo da prevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus humano 8 (HHV-8) em pacientes com HIV/ aids do município de Santos, estado de São Paulo. **TESE DE MESTRADO** 2000.

209. SUMITA, L. M.; COTRIM, P. C.; PANNUTI, C. S. ET. AL. Produção e avaliação do antígeno recombinante do capsídeo do herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) para utilização em teste sorológico. **Rev Soc Bras Méd Trop** 2000; (33) Supl 1: 449.

210. NORONHA, I.L. Imunossupressão com agentes biológicos. Manual de Transplante Renal. **Ed. Manole** 2004; 99-114.

211. RACUSEN, L.C.; SOLEZ, K.; COLVIN, R.B.; ET AL. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. **Kidney Int.** 1999; 55:713-23.

212. AMERICAN THORACIC SOCIETY. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. **Am.J.Respir.Crit.Care Med.** 2005, 171: 388 – 416.

213. HEDEMARK, L.L.; KRONENBERG, R.S.; RASP, F.L.; ET AL. The value of Bronchoscopy in Establishing the Etiology of Pneumonia in Renal Transplant Recipients. **Am.Rev.Respir.Dis.** 1982; 126: 981 – 985.

214. REICHENBERGER, F.; DICKENMANN, M.; BINET, I; ET AL. Diagnostic yield of bronchoalveolar lavage following renal transplantation. **Transpl. Infect.Dis** 2001;3:2-7.

215. WILLCOX, P.A.; BATEMAN, E.D.; POTGIETER, P.D.; ET AL. Experience with fibreoptic bronchoscopy in the diagnosis of pulmonary shadows in renal transplant recipients over a 12-year period. **Respir. Med** 1990; 84: 297 – 302.

216. STERNBERG, R.I.; BAUGHMAN, R.P.; DOHN, M.N.; ET AL. Utility of Bronchoalveolar lavage in assessing pneumonia in immunosuppressed renal transplant recipients. **The Am. J. of Med** 1993; 95: 358 – 364.

217. SÄEMANN, M.; HÖRL, W.H. Urinary tract infection in renal transplant recipients. **Eur J Clin Invest** 2008; 38:58-65.

218. MANGRAM, A. J.; HORAN, T.C.; PEARSON, M.L.; ET AL. Guideline for prevention of surgical site infection. **Infection Control and Hospital Epidemiology**.1999;20:247–278.

219. ABU-NADER, R. & PATEL, R. Current Manegement Strategies for the Treatment and Prevention of Cytomegalovírus Infection in Solid Organ Transplant Recipients. **BioDrugs.** 2000; 13: 159-175.

220. LJUNGMAN, P., GRIFFITHS, P., PAYA, C. Definitions of Cytomegalovírus Infection and Disease in Transplant Recipients. **CID.** 2000; 34: 1094-7.

221. VAN DER BIJ, W. & SPEICH, R. Manegement of Cytomegalovírus Infection and Disease after Solid-Organ Transplantation. **CID.** 2001; 33: S33-7.

222. WINER B.J. Statistical principles in experimental design. 1971.

223. KELLER, R.; ZAGO, A.; VIANA, M. C. ET AL. HHV-8 infection in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma in Brazil. **Braz J Med Biol Res** 2001; 34:879-86.

224. DEBORSKA, D.; DURLIK, M.; SADOWSKA, A. ET AL. Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-8 seroprevalence in kidney transplant recipients. **Transplant Proc** 2002; 34:673-4.

225. AHMADPOOR, P., ILKHANIZADEH, B., SHARIFZADEH, P., ET AL. Seroprevalence of human herpes virus-8 in renal transplant recipients: a single center study from Iran. **Transplant Proc** 2007 May; 39:1000-2.

226. STEIN, L.; CARRARA, H.; NORMAN, R.; ET AL. Antibodies against human herpesvirus 8 in South African renal transplant recipients and blood donors. **Transpl Infect Dis** 2004 Jun; 6 : 69-73.

227. CATTANI, P.; NANNI, G.; GRAFFEO, R. ET AL. Pretransplantation human herpes virus 8 seropositivity as a risk factor for Kaposi's sarcoma in kidney transplant recipients. **Transplant Proc**. 2000; 32:526-7.

228. ANDREONI, M.; GOLETTI, D.; PEZZOTTI, P. ET AL. Prevalence, incidence and correlates of HHV-8/KSHV infection and Kaposi's sarcoma in renal and liver transplant recipients. **J Infect** 2001; 43:195-9.

229. EMOND, J. P.; MARCELIN, A. G.; DORENT, R. ET AL. Kaposi's sarcoma associated with previous human herpesvirus 8 infection in heart transplant recipients. **J Clin Microbiol** 2002; 40: 2217-9.

230. MARCELIN, A. G.; ROQUE-AFONSO, A.M; HURTOVA M., ET AL. Fatal disseminated Kaposi's sarcoma following human herpesvirus 8 primary infections in liver-transplant recipients. **Liver Transpl** 2004; 10:295-300.

231. RUBIN, R.H.; SCHAFFNER, A.; SPEICH, R.; ET AL. Introduction to the Immunocompromised Host Society consensus conference on epidemiology, prevention, diagnosis, and management of infections in solid-organ transplant patients. **Clin Infect Dis** 2001;33: S1-4.

232. GOUDSMIT, J.; RENWICK, N.; DUKERS, NH. ET AL. Human herpesvirus 8 infections in the Amsterdam Cohort Studies (1984-1997): analysis of seroconversions to ORF65 and ORF73. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2000; 97:4838-43.

233. PRUKSANANONDA, P.; HALL, C. B.; INSEL, R. A. ET AL. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. **N Engl J Med** 1992; 326:1445-50.

234. ASANO, Y.; YOSHIKAWA, T.; SUGA, S. ET AL. Viremia and neutralizing antibody response in infants with exanthem subitum. **J Pediatr** 1989; 114:535-9.

235. CALABRO, M. L.; GASPERINI, P.; FIORE, J. R. ET AL. Intrafamilial transmission of human herpesvirus 8. **J Natl Cancer Inst** 2001; 93: 154-6.

236. WANG, Q. J.; JENKINS, F. J.; JACOBSON, L. P. ET AL. Primary human herpesvirus 8 infection generates a broadly specific CD8 (+) T-cell response to viral lytic cycle proteins". **Blood** 2001; 97:2366-2373.

237. DUPIN, N.; FISHER, C.; KELLAM, P. ET AL. Distribution of human herpesvirus 8 latently infected cells in Kaposi's sarcoma, Multicentric Castleman´s disease, and primary effusion lymphoma. **Proc Natl Acad Sci USA** 1999; 96: 4546-4551.

238. DI STEFANO, M.; FIORE, J.R; PEPE, V.; ET AL. A search for antibodies to HHV-8 in hemodialysis patients from South-Eastern Italy argues against HHV-8 spread in hemodialysis units. **J Clin Virol** 2006 Sep;37: 75-6.

239. IFUDU, O.; MACEY, L.J; FRIEDMAN, E.A. Overt malignancy in long-term hemodialysis patients. **J Assoc Acad Minor Phys** 1997; 8: 49-51.

240. HERR, H.; KIM, J. U.; KANG, G. H. ET AL. Kaposi's sarcoma occurring during short-term dialysis: report of two cases. **J Korean Med Sci** 2001; 16:130-4.

241. METAXA-MARIATOU, V.; CHIRAS, T.; LOLI, A.; Molecular analysis of Kaposi's sarcoma occurring during haemodialysis. **Clin Exp Dermatol** 2004; 29: 188-91.

242. MAGRI, M. C.. Prevalência de anticorpos anti- herpesvírus tipo 8 (HHV-8) em soros de pacientes com insuficiência renal crônica. **Tese de mestrado- USP.** 2008.

243. CENDOROGLO, M. Epidemiologia da infecção pelo vírus da hepatite B e da hepatite C em pacientes renais crônicos submetidos a hemodiálise e CAPD. **Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo (Escola Paulista de Medicina).** 1993.

244. BOLDOGH, I.; SZANISZLO, P.; BRESNAHAN, W. A. ET AL. Kaposi's sarcoma herpesvirus-like DNA sequences in the saliva of individuals infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis** 1996; 23: 406.

245. CATTANI, P.; CAPUANO, M.; LESNONI, L. A. ET AL. Human herpesvirus 8 in Italian HIV-seronegative patients with Kaposi sarcoma. **Arch Dermatol** 1998; 134:695-9.

246. VIVIANO, E.; VITALE, F.; AJELLO, F. ET AL. Human herpesvirus type 8 DNA sequences in biological samples of HIV-positive and negative individuals in Sicily. **AIDS** 1997; 11: 607-12.

247. BOTTALICO, D.; SANTABOSTI BARBONE, G.; GIANCASPRO, V. Post-transplantation Kaposi's sarcoma appearing simultaneously in same cadaver donor renal transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12: 1055-7.

248. LIPKOWITZ, G.S; MADDEN, R.L. Transmission of Kaposi's sarcoma by solid organ donation. **Transplant Sci** 1994; 9-11.

249. MUNOZ, P. ; ALVAREZ, P. ; DE ORY, F.; ET AL. Incidence and clinical characteristics of Kaposi sarcoma after solid organ transplantation in Spain: importance of seroconversion against HHV-8. **Medicine** (Baltimore). 2002; 81:293-304.

250. BAROZZI, P. ; LUPPI, M. ; FACCHETTI, F.; ET AL. Post-transplant Kaposi sarcoma originates from the seeding of donor-derived progenitors. **Nat Med.** 2003; 9:554-61.

251. BEYARI, M.M.; HODGSON, T.A.; KONDOWE, W.; ET AL. Genotypic profile of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in urine. **J Clin Microbiol** 2004; 42:3313-6.

252. SANTOS-FORTUNA, E.; CATERINO-DE-ARAUJO, A. Confirming shedding of human herpesvirus 8 in urine from infected patients in Brazil. **J Clin Microbiol** 2005; 43:1008.

253. MILLER, C.S; BERGER, J.R; MOOTOOR, Y.; ET AL. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. **J Clin Microbiol** 2006;44: 2409-15.

254. WIDMER, I.C.; ERB, P.; GROB, H.; ET AL. Human herpesvirus 8 oral shedding in HIV-infected men with and without Kaposi sarcoma. **Immune Defic Syndr** 2006 ; 42: 420-5.

255. CASPER, C.; CARRELL, D.; MILLER, K.G; ET AL. HIV serodiscordant sex partners and the prevalence of human herpesvirus 8 infection among HIV negative men who have sex with men: baseline data from the EXPLORE Study. **Sex Transm Infect** 2006; 82:229-35.

256. ENGELS, E.A.; ATKINSON, J.O.; GRAUBARD, B.I.; ET AL. Risk factors for human herpesvirus 8 infection among adults in the United States and evidence for sexual transmission. **J Infect Dis** 2007; 196:199-207.

257. FRANCES, C. "Clinical update" Kaposi s sarcoma after renal transplantation. **Nephrol Dial Transplant** 1998; 13: 2768.

258. OREN, R.; SAMUEL, D.; KASPA, R.T. Kaposi's sarcoma following liver transplantation. **Harefuah** 1992; 123: 159-61, 236.

259. FONSECA, R.; WITZIG, T.E.; OLSON, L.J.; ET AL. Disseminated Kaposi's sarcoma after heart transplantation: association with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus.**J Heart Lung Transplant** 1998 ;17: 732-6.

260. HUDNALL, S.D.; RADY, P.L.; TYRING, S.K.; ET AL. Serologic and molecular evidence of human herpesvirus 8 activation in renal transplant recipients. **J Infect Dis** 1998; 178 :1791-4.

261. FARGE, D.; LEBBÉ, C.; MARJANOVIC, Z.; ET AL. Human herpesvirus-8 and other risk factors for Kaposi’s sarcoma in kidney transplant recipients. **Transplantation** 1999; 67:1236-1242.

262. SWINNEN, L. J.; COSTANZO-NORDIN, M. R.; FISHER, S. G. ET AL. Increased incidence of lymphoproliferative disorder after immunosuppression with the monoclonal antibody OKT3 in cardiac-transplant recipients. **N Engl J Med** 1990; 323: 1723.

263. MENDEZ, C. J.; PROCOP, G. W.; ESPY, M. J. ET AL. Relationship of HHV-8 replication and Kaposi s Sarcoma after solid organ transplantation. **Transplantation** 1999; 67:1200-1201.

264. SAMHAN, M.; AL-MOUSAWI, M.; DONIA, F.; ET AL. Malignancy in renal recipients. **Transplant Proc** 2005; 37:3068-70.

265. BADEN, L.; KATZ, J. Infectious diseases in the well transplant patient. **Graft**. 2001; 4: 276-289.

266. CAMPISTOL, J.M.; SCHENA, F.P. Kaposi's sarcoma in renal transplant recipients--the impact of proliferation signal inhibitors. **Nephrol Dial Transplant**. 2007: 1: i17-22.

267. MATTHIESSEN, L.; MARCHE, C.; LABROUSSE, F. ET AL. Neuropathology of the brain in 174 patients who died of AIDS in a Paris Hospital 1982-1988**. Ann Med intern** 1992, 143:43-49.

268. GORIN, F.; BALE, J. F.; HALKS-MILLER, M.; SCHWARTZ, RA. Kaposi's sarcoma metastatic to the CNS. **Arch Neurol** 1985, 42: 162-165.

269. WELCH, K.; FINKBEINER, W.; ALPERS, CE. ET AL.: Autopsy findings in the acquired immune deficiency syndrome. **JAMA** 1984, 252:1152-1159.

270. SAID, J. W.; TASAKA, T.; DE VOS, S.; KOEFFLER, HP. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus type 8 encephalitis in HIV-positive and -negative individuals. **AIDS** 1997; 11: 1119-22.

271. CAMPISTOL, J.M.; GUTIERREZ-DALMAU, A.; TORREGROSA, J.V. Conversion to sirolimus: a successful treatment for posttransplantation Kaposi's sarcoma. **Transplantation** 2004; 77: 760-2.

272. STALLONE, G.; SCHENA , A.; INFANTE, B.; ET AL. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. **N Engl J Med** 2005; 352:1317-23.

273. KIM, H.J.; LEE, T.W.; IHM, C.G.; ET AL. Prevalence of cancer in Korean recipients of renal transplant. **Nefrology**. 2002; 7: 198-204.

274. HUDNALL, S. D.; RADY, P. L.; TYRING, S. K.; FISH, J. C. Hydrocortisone activation of human herpesvirus 8 viral DNA replication and gene expression in vitro. **Transplantation**.1999; 67:648-52.

275. MARCELIN, A.G; MILLIANCOURT, C.; DUPIN, N.; ET AL. Effects of cyclosporine and hydrocortisone on Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus genome replication and cell apoptosis induction. **Transplantation** 2001 27;72:1700-3.

276. HOJO, M.; MORIMOTO, T.; MALUCCIO, M.; ET AL. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. **Nature** 1999; 11:397:530-4.

277. HERMAN, M.; WEINSTEIN, T.; KORZETS, A.; et al. Effect of cyclosporin A on DNA repair and cancer incidence in kidney transplant recipients. **J Lab Clin Med** 2001; 137:14-20.

278. EBERHARD, O.K; KLIEM, V.; BRUNKHORST, R. Five cases of Kaposi's sarcoma in kidney graft recipients: possible influence of the immunosuppressive therapy. **Transplantation** 1999; 67: 180-4.

279. WEIGERT, A.L.; PIRES, A.; ADRAGÃO, T.; ET AL. Human herpes virus-8 serology and DNA analysis in recipients of renal allografts showing Kaposi's sarcoma and their respective donors. **Transplant Proc** 2004;36:902-4.

280. EL-AGROUDY, A.E.; EL-BAZ, M.A.; ISMAIL, A.M.; ET AL. Clinical features and course of Kaposi's sarcoma in Egyptian kidney transplant recipients. **Am J Transplant** 2003; 3:1595-9.

281. DOUTRELEPONT, J.M; DE PAUW, L.; GRUBER, S.A; ET AL. Renal transplantation exposes patients with previous Kaposi's sarcoma to a high risk of recurrence. **Transplantation** 1996; 62: 463-6.

282. PENN, I. Cancers in cyclosporine-treated vs azathioprine-treated patients. **Transplant Proc** 1996 ;28:876-8.

283. LEE, P. C.; WANG, Y. W.; SU, I. J. ET AL. Immunosuppressive drugs and HHV- 8 in a patient with a renal transplant and Kaposi's sarcoma. **Lancet** 1998; 351:117.

284. GUBA, M.; GRAEB, C.; JAUCH, K. W; ET AL. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. **Transplantation** 2004; 77:1777-82.

285. LUAN, F. L; DING, R.; SHARMA, V. K; ET AL. Rapamycin is an effective inhibitor of human renal cancer metastasis. **Kidney Int** 2003; 63: 917-26.

286. GUBA, M.; VON BREITENBUCH, P.; STEINBAUER, M.; ET AL. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. **Nat Med** 2002; 8:128-35.

287. BERBER, I.; ALTACA, G.; AYDIN, C.; ET AL. Kaposi's sarcoma in renal transplant patients: predisposing factors and prognosis. **Transplant Proc** 2005; 37:967-8.

288. ASENI, P.; VERTEMATI, M.; MINOLA, E.; ET AL. Kaposi's sarcoma in liver transplant recipients: morphological and clinical description. **Liver Transpl** 2001; 7:816-23.

289. MARCELIN, A. G.; CALVEZ, V.; DUSSAIX, E. KSHV after an organ transplant: should we screen? **Curr Top Microbiol Immunol** 2007; 312:245-62.

290. GREENBLATT, R. M.; JACOBSON, L. P.; LEVINE, A. M. ET AL. Human herpesvirus 8 infection and Kaposi's sarcoma among human immunodeficiency virus-infected and -uninfected women. **J Infect Dis**. 2001; 183:1130-4.

291. PARISI, S. G.; SARMATI, L.; PAPAGAYO, M. ET AL. Prevalence trend and correlates of HHV-8 infection in HIV-infected patients. **J Acquir Immune Defic Syndr**. 2002; 29:295-9.

292. WHITBY, D.; LUPPI, M.; SABIN, C. ET AL. Detection of antibodies to human herpesvirus 8 in Italian children: evidence for horizontal transmission. **Br J Cancer** 2000; 82:702-704.

293. SITAS, F.; CARRARA, H.; BERAL, V,: Antibodies against human herpesvirus 8 in black South African patients with cancer. **N Engl J Med**1999; 340:1863-71.

294. LAMPINEN, T. M.; KULASINGAM, S.; MIN, J. ET AL. Detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in oral and genital secretions of Zimbabwean women. **J Infect Dis** 2000; 181:1785-90

295. CASPER, C.; KRANTZ, E.; SELKE, S.; ET AL. Frequent and asymptomatic oropharyngeal shedding of human herpesvirus 8 among immunocompetent men. **J Infect Dis.** 2007; 195:30-6.

296. AL-OTAIBI, L. M.; NGUI, S. L.; SCULLY, C. M.; ET AL. Salivary human herpesvirus 8 shedding in renal allograft recipients with Kaposi's sarcoma. **J Med Virol.** 2007; 79:1357-65.

297. PELLET, C.; CHEVRET, S.; FRANCÈS, C.; ET AL. Prognostic value of quantitative Kaposi sarcoma--associated herpesvirus load in posttransplantation Kaposi sarcoma. **J Infect Dis.** 2002; 186:110-3.

298. MOORE, P. S.; KINGSLEY, L. A.; HOLMBERG, S. D.; ET AL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection prior to onset of Kaposi's sarcoma. **AIDS.** 1996; 10:175-80.

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