

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Doenças Infecciosas e Parasitárias

INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO ATIVA PELOS HERPESVÍRUS
HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL

ADRIANE SILVA CRUZ

Rio de Janeiro
Julho/2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO ATIVA PELOS HERPESVÍRUS
HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE
RENAL

Adriane Silva Cruz

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

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes
Prof. Dr. Mariano Gustavo Zalis

Rio de Janeiro
Julho/2009

Cruz, Adriane Silva

Incidência de infecção pelos herpesvírus humanos 6 e 7 em receptores de transplante renal / Adriane Silva Cruz. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2009.

xi, 81 f. : il. ; 31 cm.

Orientador: Guilherme Santoro Lopes e Mariano Gustavo Zalis
Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2009.

Referências Bibliográficas: f. 68 a 81

1. HHV-6 e 7. 2. Transplante renal. 3. Infecção. 4. Rejeição. 5. Doenças Infecciosas e Parasitárias – Tese. I. Lopes, Guilherme Santoro. II. Zalis, Mariano Gustavo. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Doenças Infecciosas e Parasitárias. IV. Título.

INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO ATIVA PELOS HERPESVÍRUS
HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL

Adriane Silva Cruz

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes
Prof. Dr. Mariano Gustavo Zalis

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

Aprovada por:

Presidente, Prof^a. Dr^a. Maria Angélica A. M. Guimarães

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Stankiewicz Machado

Prof. Dr. Eduardo Rocha

Rio de Janeiro
Julho/2009

**Para Maria de Nazareth e
Paulo da Cruz, a base de tudo.**

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Guilherme Santoro Lopes por sua sabedoria, gentileza e paciência. Por seus olhos argutos e judiciosos que leram, releeram e me ajudaram a revisar cada versão deste trabalho de forma incansável. Ao orientador compreensivo e inabalável, agradeço com a sensação de missão cumprida e a certeza de que a estrada está apenas começando...

Ao Dr. Mariano Gustavo Zalis, pela excelência técnica apoiada em sua grande generosidade ao compartilhar toda experiência de um dos pesquisadores mais renomados em nosso meio.

À Dr^a. Myrtes Amorelli Gonzaga, pelo exemplo, generosidade e carinho: mestra, “chefe”, amiga e mãe. Pioneira e única. Uma rocha inabalável. Tudo o que eu gostaria de ser quando crescer;

À Dr^a. Marisa Alóe, por ter despertado em mim o desafio pela pesquisa ainda durante a graduação e a me fazer acreditar na medicina de qualidade apesar das adversidades;

Ao Dr. Bruno Correia Scarpellini que com seu otimismo me ajudou a atravessar períodos difíceis e a Dr^a Danielle Provençano Borghi por ter acreditado em mim. Amigos assim são dádivas divinas.

À toda a equipe da Nefrologia do HUCFF: médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares. A jornada seria impossível sem o suporte de vocês. O meu muito obrigado!

À toda a equipe do Laboratório de Infectologia e Parasitologia Molecular, particularmente à Érica Santos, Anna Carla Guilherme e Ana Carolina Zalona. Dedicção, técnica e qualidade são suas marcas registradas.

À Wilma Alves, por todo apoio técnico e logístico, regado com sorrisos e um carisma único e inesquecível.

À CAPES, por conceder a bolsa de estudo visando estimular a formação de recursos humanos de alto nível.

Este estudo é fruto do amor, incentivo e apoio dos meus amigos. Embora numerosos demais para aqui serem mencionados, espero que todos saibam quem são e como é vital o papel que desempenham na minha vida. “É impossível ser feliz sozinho.”

RESUMO

INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO ATIVA PELOS HERPESVIRUS HUMANOS 6 E 7 EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL

Adriane Silva Cruz

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes
Prof. Dr. Mariano Gustavo Zalis

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

Objetivo: Determinar a incidência de infecção ativa por herpesvírus humanos (HHV) 6 e 7 em receptores de transplante renal (TxR) e analisar a repercussão clínica associada à ocorrência destas infecções nessa população. **Métodos:** Estudo prospectivo de coorte, incluindo pacientes submetidos à TxR no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), no Rio de Janeiro, Brasil. Foram coletadas amostras de sangue durante as primeiras 12 semanas seguintes ao TxR para pesquisar a presença dos vírus estudados através de PCR aninhado. Cada paciente foi acompanhado por seis meses de pós-operatório. **Resultados:** Dentre os 58 pacientes incluídos, havia igual número de homens e mulheres, com a idade mediana de 43 anos. Em 57% dos casos o doador era falecido. Observamos incidência acumulada para HHV-6 e 7 de 29% e 28%, respectivamente. Manifestações clínicas atribuídas a estas infecções ocorreram em poucos casos. Houve uma tendência a maior chance de infecção com HHV-6 ($p=0,07$) e HHV-7 ($p=0,05$) nos pacientes de idade mais baixa. Não houve associação entre estas infecções e a ocorrência subsequente de rejeição aguda ao enxerto. Análise multivariada mostrou que a presença do HHV-6 relacionou-se a maior risco de infecção bacteriana subsequente ($p=0,07$). Associação similar não foi demonstrada com a infecção pelo HHV-7. **Conclusão:** As infecções por HHV-6 e HHV-7 têm alta incidência em receptores de transplante renal, porém, a ocorrência de manifestações clínicas atribuíveis a estas infecções foi infrequente. A infecção pelo HHV-6 associou-se a um maior risco de infecção bacteriana. Infecções pelo HHV-6 e HHV-7 não foram associadas à subsequente rejeição aguda ao enxerto.

Palavras-chave: transplante renal; infecção; herpesvirus; HHV-6 e 7; rejeição.

Rio de Janeiro
Julho/2009

ABSTRACT

INCIDENCE OF HUMAN HERPESVIRUS 6 AND 7 ACTIVE INFECTION AMONG RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS.

Adriane Silva Cruz

Orientadores: Prof. Dr. Guilherme Santoro Lopes
Prof. Dr. Mariano Gustavo Zalis

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

Objective: To determine the incidence of active infection with human herpesvirus (HHV) 6 and 7 among renal transplant (RTx) recipients and to describe the clinical impact of with these infections in this population. **Methods:** Prospective cohort study including patients submitted to RTx at Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, in Rio de Janeiro, Brazil. Blood samples were collected weekly during the first 12 following weeks after renal transplantation and tested for the presence of HHV-6 and HHV-7 with nested polymerase chain reaction assays. Patients were followed for 6 months after RTx. **Results:** Among 58 patients enrolled, there was a balanced proportion of males and females, the median age was 43 years old, and most patients (57%) received a cadaveric donor graft. The cumulative incidence of active HHV-6 and HHV-7 infections was 29% e 28%, respectively. Few patients developed clinical manifestations attributable to these infections. Lower age tended to be associated with higher incidence of HHV-6 ($p=0,07$) and HHV-7 ($p=0,05$) infection. There was no association between the studied herpesvirus infections and the occurrence of subsequent acute graft rejection. In multivariate analysis, HHV-6 infection was associated with a trend for a higher risk of bacterial infection ($p=0,07$). A similar association was not observed after HHV-7 infection. **Conclusion:** HHV-6 and HHV-7 infections were highly incident among renal transplant recipients, however clinical manifestations attributable to these infections were infrequent. Bacterial infections tended to be more frequent after HHV-6 infection. HHV-6 and HHV-7 infections were not associated with subsequent acute graft rejection.

Keywords: renal transplantation; infection; herpesvirus; HHV-6 and HHV-7; rejection

Rio de Janeiro
Julho/2009

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
LISTA DE TABELAS	X
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Histórico e características biológicas dos patógenos:	5
2.2 Imunologia.....	10
2.3 Infecção em indivíduos imunocompetentes.....	10
2.4 Infecção em receptores de transplantes.....	12
2.5 Efeitos diretos das infecções por HHV-6 e HHV-7	14
2.6 <i>Efeitos indiretos</i>	18
3 OBJETIVOS	25
3.1 Principal.....	25
3.2 Secundários.....	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 Desenho do estudo.....	26
4.2 População.....	26
4.2.1 <i>Crítérios para inclusão</i>	26
4.2.2 <i>Crítérios para exclusão</i>	26
4.3 Coleta de dados	27
4.4 Definição de termos.....	28
4.4.1 <i>Infecção ativa pelo HHV-6 e HHV-7</i>	28
4.4.2 <i>Doença associada ao HHV-6 e HHV-7</i>	28
4.4.3 <i>Infecções bacterianas microbiologicamente documentadas</i>	28
4.4.4 <i>Doença fúngica invasiva</i>	29
4.4.5 <i>Rejeição aguda</i>	29
4.4.6 <i>Doença por CMV</i>	29
4.5 Procedimentos laboratoriais.....	30
4.5.1 <i>Extração do DNA viral do Plasma</i>	Erro! Indicador não definido.
4.5.2 <i>Extração de DNA do Creme Leucocitário (Buffy Coat)</i>	30
4.5.3 <i>Reação de Cadeia da Polimerase</i>	32
4.6 Métodos estatísticos.....	37
4.6.1 <i>Tamanho amostral</i>	37
4.6.2 <i>Análise estatística</i>	37
4.7 Aspectos éticos envolvidos.....	38
5 RESULTADOS	39
5.1 Resultados da Pesquisa de DNA de Herpesvirus 6 e 7 nas amostras coletadas.....	39

5.2	Relação entre o a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e a Ocorrência de Manifestações Clínicas e Laboratoriais.....	47
5.3	Relação entre as Infecções por Herpesvírus Humanos 6 e 7 e Ocorrência de Possíveis Efeitos Indiretos.....	49
5.4	Relação entre as Infecções por Herpesvírus Humanos 6 e 7 e as Sobrevidas de Paciente e de Enxerto	55
6	DISCUSSÃO	56
7	CONCLUSÕES	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CMV	Citomegalovírus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EBV	Epstein Barr vírus
HHV-6	Herpes vírus humano 6
HHV-6A	Herpes vírus humano 6 variante A
HHV-6B	Herpes vírus humano 6 variante B
HHV-7	Herpes vírus humano 7
HHV-8	Herpes vírus humano 8
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IC	Intervalo de confiança
IICCQ	Intervalo interquartil
NCE	Nefropatia crônica do enxerto
PCR	Reação de cadeia polimerase
PCR-RT	Reação de cadeia polimerase em tempo real
RNA	Ácido ribonucleico
TMO	Transplante de medula óssea
TOS	Transplante de órgão sólido
VZV	Varicela Zoster vírus

LISTA DE TABELAS

Figura 1	Sequência parcial do genoma do vírus HHV-6 nos nucleotídeos 45961- 46441)(Acession number X83413) 34	34
Figura 2	Representação esquemática da estratégia do PCR aninhado para detecção do HHV-6..... 34	34
Figura 3	Sequência parcial do genoma do vírus HHV-7 nos nucleotídeos 19681-20102)(Acession number AF 037218.1) 35	35
Figura 4	Representação esquemática da estratégia do PCR aninhado para detecção do HHV-7 36	36
Figura 5	Prevalência de amostras positivas para o HHV-6 ao longo das primeiras 12 semanas após transplante renal..... 41	41
Figura 6	Prevalência de amostras positivas para o HHV-7 ao longo das primeiras 12 semanas após transplante renal..... 42	42
Figura 7	Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier ilustrando a incidência acumulada de infecção ativa por HHV-6 entre 58 receptores de transplante renal nas primeiras 12 semanas de pós-operatório. Os traços observados ao longo da linha indicam casos com censura de seguimento. A estimativa de incidência acumulada ao final do período estudado foi de 31% (IC 95%: 19%, 43%)...... 43	43
Figura 8	Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier ilustrando a incidência acumulada de infecção ativa por HHV-7 entre 58 receptores de transplante renal nas primeiras 12 semanas de pós-operatório. Os pontos brancos observados ao longo da linha indicam casos com censura de seguimento. A estimativa de incidência acumulada ao final do período estudado foi de 31% (IC 95%: 19%, 43%)...... 44	44
Quadro 1	Características epidemiológicas e clínicas das infecções por herpesvírus humanos..... 7	7

Tabela 1	Iniciadores utilizados no PCR para detecção do HHV 6	33
Tabela 2	Iniciadores utilizados no PCR para detecção do HHV-7	35
Tabela 3	Relação entre as diferentes variáveis estudadas e a ocorrência de HHV-6 nas primeiras doze semanas após transplante renal	45
Tabela 4	Relação entre as diferentes variáveis estudadas e a ocorrência de HHV-7 nas primeiras doze semanas após transplante renal.	46
Tabela 5	Relação entre as diferentes variáveis analisadas e o risco de infecções bacterianas. Resultados das análises univariadas de Cox.....	Erro! Indicador não definido.
Tabela 6	Associação entre a ocorrência de infecção ativa HHV-6 e o risco de infecções bacterianas após transplante renal. Resultados da análise multivariada de Cox	Erro! Indicador não definido.
Tabela 7	Associação entre a ocorrência de infecção ativa HHV-7 e o risco de infecções bacterianas após transplante renal. Resultados da análise multivariada de Cox	52
Tabela 8	Relação entre as diferentes variáveis analisadas e o risco de rejeição aguda. Resultados das análises univariadas de Cox	Erro! Indicador não c
Tabela 9	Resultados de análises multivariadas de Cox, enfocando a associação entre HHV-6 e HHV-7 e o risco de rejeição aguda em modelos separados	54

1 INTRODUÇÃO

A evolução da terapia imunossupressora, notadamente a partir da introdução da ciclosporina no início da década de 80, ao lado do desenvolvimento das técnicas cirúrgicas, impulsionou a realização dos transplantes de órgãos sólidos, que assim tornaram-se modalidades terapêuticas com efetividade estabelecida no prolongamento da sobrevivência e na melhora da qualidade de vida de pacientes afetados por falência terminal de órgãos como rim, fígado, coração e pulmão. Todavia, em que pese os avanços obtidos no manejo da terapia imunossupressora, as complicações infecciosas permanecem entre as principais causas de morbidade e mortalidade em receptores de transplantes de órgãos. É importante assinalar que, para algumas das complicações infecciosas, o impacto negativo sobre o prognóstico dos receptores de transplantes de órgãos não se restringe aos efeitos diretos impostos pelo processo infeccioso. Efeitos indiretos, como a elevação do risco de rejeição por um lado e, por outro, da incidência de outras infecções e neoplasias decorrentes da imunomodulação podem resultar da ação de determinados agentes infecciosos (Emery, 2001; Rubin, 2001). Tais efeitos indiretos encontram-se bem documentados no caso da infecção por citomegalovírus (Smith *et al.*, 2001). Outros agentes, como os vírus das hepatites B e C, o vírus de Epstein Barr e os herpesvírus 6 e 7 têm sido propostos como potenciais indutores destes fenômenos.

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

citomegalovírus. Estes compartilham muitas características com o citomegalovírus incluindo, elementos semelhantes na organização genômica, reação cruzada antigênica e características similares *in vitro* (Smith e McDonald, 2006). Ambos são linfotrópicos, infectando preferencialmente linfócitos T CD4+ (Lusso *et al.*, 1988; Black e Pellett, 1999). Outras características comuns a ambos os vírus são a elevada soroprevalência em adultos, abrangendo 90 a 95% dos indivíduos e o fato de a maior parte das infecções serem adquiridas nos primeiros anos de vida (Kimberlin e Whitley, 1998; Clark, 2000).

As infecções primárias por estes vírus são transmitidas pela saliva e ocorrem principalmente nos primeiros dois anos de vida, o que pode ser considerado relativamente precoce quando comparadas a outras herpesviroses como a infecção pelo vírus de Epstein-Barr ou por citomegalovírus (CMV). Associam-se ao desenvolvimento de doença febril aguda e de exantema súbito (Yamanishi *et al.*, 1988; Tanaka *et al.*, 1994), sendo tais associações mais estreitas com o HHV-6. Todavia, muitas crianças com infecção primária são assintomáticas.

Da mesma forma que o observado com as infecções por outros herpesvírus, os vírus HHV-6 e HHV-7 permanecem latentes no hospedeiro após a resolução do quadro de infecção primária. A reativação da replicação viral tipicamente está relacionada à depressão da resposta imune, embora não raramente ela possa estar presente em adultos e crianças imunocompetentes (Ward, 2005b).

O papel patológico destes vírus em indivíduos imunossuprimidos ainda vem sendo estabelecido. Os dados disponíveis até o momento sugerem que, entre os receptores de transplantes de órgãos sólidos, seja baixa a incidência de manifestações clínicas associadas a estas infecções, em que pese a alta frequência de reativação da infecção latente. Descrevem-se a ocorrência de hepatite,

pneumonia, encefalite, além de uma síndrome viral caracterizada por febre que pode ser acompanhada por neutropenia e plaquetopenia. Até o momento, a descrição de tais manifestações clínicas origina-se em sua maioria, de séries de receptores de transplantes hepáticos (Carrigan e Knox, 1994; Osman *et al.*, 1996; Singh e Paterson, 2000; Emery, 2001).

Por outro lado, é possível que a repercussão mais relevante destas infecções em receptores de transplantes de órgãos esteja relacionada a efeitos indiretos da replicação viral, decorrentes de uma possível atividade imunomoduladora. O HHV-6 se replica, primariamente, em células TCD4+ e reduz a produção de IL-2, assim como sua capacidade proliferativa. Além disso, pode ter efeitos citopáticos em células CD8+ e *natural killers*. Tais efeitos podem interferir na resposta imune celular. A viremia do HHV-6 estaria associada ao risco aumentado de doença severa por CMV (DesJardin *et al.*, 1998; Mendez *et al.*, 2001; Humar *et al.*, 2002). Semelhante relação entre a reativação da infecção por HHV-7 e o subsequente surgimento de citomegalovirose foi sugerida em 2 estudos realizados em receptores de transplante renal (Osman *et al.*, 1996; Tong *et al.*, 2000). A associação entre as infecções por HHV-6 e HHV-7 e outras complicações infecciosas não tem sido consistentemente observada, talvez pelo tamanho limitado das populações estudadas. Todavia, um estudo conduzido em receptores de transplante hepático, sugeriu a associação da infecção por HHV-6 com um aumento do risco de doença fúngica invasiva (Dockrell *et al.*, 1997).

Há indícios, também, que a ocorrência de infecção por estes vírus possa estar associada à maior risco de rejeição ao enxerto. Observa-se na literatura uma relação mais consistente entre infecção por HHV-6 e rejeição em receptores de transplante hepático (Griffiths *et al.*, 1999; Feldstein *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2006a;

Harma *et al.*, 2006b), enquanto, entre receptores de transplante renal, são mais consistentes as evidências ligando a infecção por HHV-7 à rejeição (Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2002). Entretanto, Tong e colaboradores observaram após seguimento de mais longo prazo, que a ocorrência de infecção por HHV-6 nas primeiras semanas após transplante renal se relacionava a risco elevado de disfunção crônica do enxerto (Tong *et al.*, 2002). Um possível mecanismo proposto para a elevação do risco dessa complicação é a indução da expressão de moléculas de adesão como ICAM-1 e VCAM-1 e a ativação linfocitária decorrentes da infecção viral (Lautenschlager *et al.*, 2000).

Apesar da crescente importância que vem sendo dada a este tópico, há poucos dados a este respeito em nosso meio. Fatores locais como, por exemplo, o protocolo de imunossupressão utilizado, podem, teoricamente, influir na incidência destas infecções e, por conseguinte, no impacto que as mesmas teriam sobre o risco de ocorrência de rejeição ou de infecções oportunistas. Assim, não está claro se podemos generalizar os resultados obtidos em outras populações. Desta forma pareceu-nos justificada a realização de um estudo prospectivo a fim de estabelecer a incidência de infecção ativa por HHV-6 e HHV-7 e sua possível associação com a ocorrência de manifestações clínicas de doença, de rejeição celular aguda e de outras complicações infecciosas nos primeiros meses após a realização de transplante renal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico e características biológicas dos patógenos:

O HHV-6 foi identificado em 1986 (Salahuddin *et al.*, 1986), ao ser isolado em sangue periférico de seis pacientes com distúrbios linfoproliferativos e de dois outros com AIDS. Originalmente, foi rotulado como um vírus β -linfotrópico (HBLV) devido seu tropismo para linfócitos B. Posteriormente, observou-se tropismo por amplo espectro celular, incluindo células T, B, epiteliais, linfócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas, megacariócitos, células da neuroglia, fibroblastos e células epiteliais (Braun *et al.*, 1997). O CD46 constitui um componente essencial do receptor de superfície da membrana celular que permite a ligação do HHV-6 à célula hospedeira e está presente na superfície de todas as células nucleadas, fato que confere este amplo tropismo celular viral (Santoro *et al.*, 1999; Caserta *et al.*, 2001).

O HHV-7 foi originalmente identificado em 1990 (Frenkel *et al.*, 1990) em um indivíduo sadio. Assim como HHV6, trata-se de um herpesvirus linfotrópico (Lusso *et al.*, 1994), com alta prevalência em indivíduos saudáveis. Embora linfócitos T CD4+ e células epiteliais de glândulas salivares sejam os principais sítios de latência do HHV-7, a observação que a fosfoproteína pp85 do tegumento do HHV-7 estaria presente em células outras como linfócitos de tecidos frequentemente transplantados como pulmões, fígado e rim é intrigante (Kempf *et al.*, 1998).

Tanto HHV-6 quanto HHV-7 pertencem ao gênero *Roseolovirus*. Junto ao CMV, se incluem na subfamília *Betaherpesviridae*, dentro da família *Herpesviridae*. Esta é a maior família de vírus de DNA que causam doenças em animais. O nome

da família é derivado da palavra grega *herpein*, referindo-se à capacidade de permanecer em latência no hospedeiro após a infecção primária, característica biológica importante, compartilhada por todos os herpesvirus. Dela resulta o fato de que, uma vez infectado com um dos herpesvírus, o indivíduo se torna susceptível à reativação periódica do mesmo. O processo pelo qual se estabelece o estado de latência não é totalmente esclarecido, mas o que está claro é a sua relação com determinados tipos celulares específicos (Ward, 2005a). A reativação destas infecções pode resultar na sua transmissão. Mesmo na ausência de sinais e sintomas de infecção, os vírus podem estar presentes na saliva (HSV-1, EBV, CMV, HHV-6 e HHV-7), secreções genitais (HSV-2, CMV e HHV-6), urina (CMV), células mononucleares (CMV, HHV-6 e HHV-7) e leite materno (CMV e HHV-7) (Prober, 2005).

Os herpesvírus são relativamente grandes, com diâmetro entre 150-250 nm, compostos fundamentalmente por 4 elementos estruturais incluindo o envelope, tegumento, nucleocapsídeo e o núcleo interno, que consiste de proteínas e genoma viral. Aproximadamente 80 herpesvirus são conhecidos. Dentre estes, apenas 8 são patógenos humanos. Neste pequeno grupo incluem-se, além do HHV-6 e HHV-7, os seguintes patógenos: herpes simplex tipo 1 (HSV-1), herpes simplex vírus tipo 2 (HSV-2), vírus varicella-zoster (VZV), vírus de Epstein–Barr (EBV), citomegalovírus (CMV) e herpes vírus humano 8 (ligado ao Sarcoma de Kaposi) (Quadro 1).

Quadro 1 Características epidemiológicas e clínicas das infecções por herpesvírus humanos

Vírus	Sub-família	Prevalência aproximada em adultos jovens nos EUA (%)	Infecções comuns	Sítio de latência	Modo de transmissão
Herpes simples tipo 1 (HSV-1)	Alpha-herpesvirinae	50	Herpes labial e cutânea, ceratite herpética, encefalite	Células neuronais, especialmente trigêmio	Contato com secreções principalmente orais.
Herpes simples tipo 2 (HSV-2)	Alpha-herpesvirinae	25	Herpes genital, proctite, herpes neonatal e meningite asséptica	Células neuronais, especialmente gânglios sacrais	Contato com secreções principalmente genitais.
Varicela zoster (VZV)	Alpha-herpesvirinae	100	Varicela, herpes zoster	Células neuronais, especialmente gânglios e raízes nervosas	Contato com lesões cutâneas infectadas. Via respiratória para varicela.
Vírus de Epstein Barr (EBV)	Gamma-herpesvirinae	75	Mononucleose infecciosa, febre prolongada, manifestações em múltiplos órgãos.	Linfócitos B	Contato com secreções orais, sangue ou órgãos transplantados.
Citomegalovírus (CMV)	Beta-herpesvirinae	50	Mononucleose infecciosa, febre prolongada	Monócitos e macrófagos	Contato com secreções orais ou genitais, urina, leite materno, sangue ou órgãos transplantados.
Herpes vírus humano 6 (HHV-6)	Beta-herpesvirinae	100	Doença febril, roséola, encefalite	Linfócitos T	Contato com secreções orais.
Herpesvírus humano 7 (HHV-7)	Beta-herpesvirinae	100	Doença febril, roséola	Linfócitos T	Contato com secreções orais ou leite materno.
Herpesvírus humano 8 (HHV-8)	Gamma-herpesvirinae	<10	Sarcoma de Kaposi	Não estabelecido	Contato com secreções corporais.

EUA – Estados Unidos da América
Fonte: Prober, 2005.

Os herpesvirus são classificados em 3 subfamílias de acordo com suas propriedades biológicas. O α -herpesvirus (HSV-1 e -2) foram os primeiros a serem descobertos, se replicam rapidamente em vasta gama de tecidos com destruição celular. O vírus da varicela zoster também pertence a essa sub-família, sendo o único herpesvírus para o qual há uma vacina disponível e eficaz (De Bolle *et al.*, 2005).

Os vírus HHV-6, HHV-7 e CMV incluem-se na sub-família dos β -herpesvírus, apresentando grande homologia na sequência de DNA entre si, reação antigênica cruzada e características similares *in vitro* (Pellet e Dominguez, 2001). Replicam-se vagorosamente e se limitam a alguns tipos celulares. Número crescente de relatos em literatura sugerem que o vírus invade o sistema imune por paralisação das células dendríticas, responsáveis pela resposta imune antiviral inicial (Rolle e Olweus, 2009). A modulação da resposta imune do hospedeiro seria, na verdade, o mecanismo para criação de um ambiente no qual a infecção viral possa perpetuar-se (Hengel *et al.*, 1998; Vossen *et al.*, 2002).

Os membros da subfamília γ -herpesvirus têm crescimento lento e desenvolvem latência em células linfóides de seus hospedeiros naturais. O vírus de Epstein-Barr (causa da maioria dos casos de mononucleose) e o herpesvírus humano-8 (etiologicamente relacionado ao Sarcoma de Kaposi) são os únicos com potencial oncogênico estabelecido (De Bolle *et al.*, 2005).

Em indivíduos imunocompetentes, a infecção primária por HHV-6 e HHV-7 induz ao desenvolvimento de anticorpos neutralizantes entre 3 a 7 dias após o começo da febre. O pico de IgM acontece na 2ª semana após a infecção e persiste positiva por 2 meses. Os anticorpos IgG, após atingir o pico nas primeiras 2 semanas, persistem por toda vida em cerca de 95% dos indivíduos infectados

(Yamanishi *et al.*, 1988; Dockrell e Paya, 2001).

De acordo com Yasukawa (Yasukawa *et al.*, 1993), os anticorpos neutralizantes apresentam especificidade para uma variedade de epítomos que se encontram na camada glicoprotéica. A reativação da infecção pode resultar em resposta anamnésica com aumento da concentração de anticorpos específicos.

A resposta dos linfócitos T também parece ser importante na defesa do hospedeiro frente aos beta-herpesvirus. A exposição de linfócitos TCD4 a antígenos dos beta-herpesvírus associa-se a resposta proliferativa e à produção de interferon-gama.

HHV-6 é classificado molecular, epidemiológica e biologicamente em duas variantes: tipo A e tipo B que compartilham determinadas características biológicas e alto nível de sequência homóloga, porém diferem quanto à relevância, epidemiologia e tropismo celular. HHV-6B tem maior incidência, causando a grande maioria das infecções primárias. Por outro lado, embora ambas as variantes sejam neurotrópicas (Chan *et al.*, 2001), esta característica é mais frequentemente observada nas infecções por HHV-6A (Zerr, 2006). Não se reconhece até o momento, a existência de variantes do HHV-7 (Pellet e Dominguez, 2001).

As infecções causadas por HHV-6 apresentam-se tipicamente nos primeiros anos de vida com o quadro clínico conhecido como *roseola infantum* (exantema súbito ou 6ª doença), doença febril aguda com características benignas que se apresenta sob a forma de febre e erupção cutânea, geralmente acometendo crianças no 1º ano de vida. Este quadro também pode ser causado por HHV-7, embora com menor frequência.

2.2 Imunologia

O potencial imunomodulador de HHV-6 e HHV-7 possui interesse considerável na compreensão do papel que estes vírus podem desempenhar na morbidade pós-transplante. A infecção das células mononucleares do sangue periférico por HHV-6 promove alterações nas funções dos linfócitos T, como se pode evidenciar com a redução da síntese de interleucina 2 (IL-2) e da proliferação celular (Flamand *et al.*, 1995). Por outro lado, o mesmo vírus se comporta como um importante indutor de citocinas como a 1ª IL-1 e o fator de necrose tumoral-TNF. (Flamand *et al.*, 1991). Além disso, tanto HHV-6 quanto HHV-7 induzem apoptose de linfócitos T. (Inoue *et al.*, 1997; Secchiero *et al.*, 1997).

Outro de seus efeitos é a infecção direta de células “natural killers” (NK), assim como um aumento da toxicidade destas células mediadas pela indução de IL-15 (Lusso *et al.*, 1993; Flamand *et al.*, 1996; Atedzoe *et al.*, 1997). O HHV-6 parece interferir na ativação dos monócitos, produzindo uma diminuição da mesma (Burd e Carrigan, 1993).

Em suma, as infecções por estes vírus promovem uma desregulação dos linfócitos T e NK e da imunidade do hospedeiro mediada por monócitos, através tanto da indução de morte celular como da interferência com os mecanismos de ativação normal da produção de citocinas.

2.3 Infecção em indivíduos imunocompetentes

Podemos considerar 3 etapas na história natural da infecção por HHV-6 e HHV-7. A primeira delas está representada pela infecção primária, que geralmente se dá nos primeiros anos de vida. A segunda etapa, de latência, é observada após a

resolução da infecção primária em crianças e adultos saudáveis. A terceira etapa refere-se caracteristicamente a pacientes em situação de imunossupressão, quando a replicação viral se reativa (Campadelli-Fiume *et al.*, 1999).

Os herpesvírus humanos 6 e 7 são altamente prevalentes na população humana. Na faixa etária adulta, cerca de 95% da população é soropositiva para HHV-6 e HHV-7. A infecção se dá por transmissão salivar com contato interpessoal, usualmente nos primeiros 2 anos de vida (Okuno *et al.*, 1989; Ward, 2005b; Zerr *et al.*, 2005b).

De uma forma geral, as manifestações clínicas da infecção primária por HHV-6 em hospedeiros imunocompetentes são usualmente benignas e auto-limitadas (Asano *et al.*, 1994). Acredita-se que o exantema súbito, também conhecido como *roseola infantum* ou 6ª doença, seja a apresentação clínica mais comum na infância, caracterizando-se por 3 a 5 dias de febre alta em lactente, sem causa aparente, seguida por instalação súbita de erupção cutânea macular, rósea, sem prurido, predominante no pescoço e tronco. Também tem sido implicado como agente etiológico de convulsões febris (Hall *et al.*, 1994). Em crianças maiores e adultos as manifestações clínicas podem associar-se à ocorrência de síndrome de mononucleose. Outras manifestações atribuídas à esta infecção são: otite, irritabilidade, sintomas respiratórios e gastrointestinais (Pruksananonda *et al.*, 1992; Portolani *et al.*, 1993; Hall *et al.*, 1994). As complicações da infecção primária são infrequentes e incluem: invasão do sistema nervoso central com convulsões, síndrome hemofagocítica e hepatites fulminantes.

Em 2005, Zerr e colaboradores (Zerr *et al.*, 2005b) descreveram um importante estudo prospectivo que teve por objetivo caracterizar de forma mais precisa as manifestações clínicas associadas a primoinfecção por HHV-6 em uma

coorte de 277 crianças acompanhadas desde o seu nascimento, quando gestantes eram recrutadas ainda nos consultórios de seus obstetras, até os 2 anos de idade. A saliva das crianças foi testada semanalmente para o DNA do HHV-6, utilizando ensaio de PCR. Seus pais mantiveram um diário onde eram registrados sinais e sintomas destas crianças. A infecção primária aconteceu em 130 crianças com incidência cumulativa de 40% na idade de 12 meses e 77% aos 24 meses. A maioria das crianças com infecção primária pelo HHV-6 foi sintomática (94%). Dentre as manifestações clínicas da infecção primária mais frequentes observou-se: irritabilidade (70%), rinorréia (66%), febre (58%), tosse (34%), diarreia (26%), roséola (24%) e vômitos (8%). O pico de aquisição foi entre 9 e 21 meses. Cerca de 93% apresentou sintomas e 38% procuraram atendimento médico. Nessa coorte, não foram observadas convulsões em associação com a ocorrência de infecção por HHV-6. Quando comparadas com crianças com outras doenças, as que adoeceram por HHV-6 apresentaram febre, diarreia e erupção cutânea com frequência significativamente maior.

Na infecção primária por HHV-7, as características clínicas descritas são similares àquelas vistas na infecção por HHV-6, representando um segundo agente etiológico, menos frequente, do exantema súbito. Também tem sido associado a convulsão febril em crianças (Tanaka *et al.*, 1994; Torigoe *et al.*, 1996; Suga *et al.*, 1997).

2.4 Infecção em receptores de transplantes

Na população de receptores de transplante de medula óssea a ocorrência de infecção ativa por HHV-6 é bem definida. Usando técnicas de biologia molecular, a

detecção de infecção por HHV-6 tem sido documentada em 40 a 70% e a de HHV-7 em até 57% dos casos (Wang *et al.*, 1996; Imbert-Marcille *et al.*, 2000; Sashihara *et al.*, 2002; Hentrich *et al.*, 2005; Zerr *et al.*, 2005a). O pico de carga viral acontece precocemente no pós-transplante, usualmente nas primeiras 4 semanas após TMO (Imbert-Marcille *et al.*, 2000; Ljungman *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000; Yoshikawa *et al.*, 2002).

Os fatores de risco relacionados a infecção por HHV-6 após TMO abrangem o transplante alogênico, doença hematológica avançada, idade jovem, falta de correlação entre o sexo do doador e do receptor, uso de corticosteróides, de doença de enxerto versus hospedeiro e co-infecção por EBV (Imbert-Marcille *et al.*, 2000; Yoshikawa *et al.*, 2002; Hentrich *et al.*, 2005; Zerr *et al.*, 2005a). Sashihara e colaboradores (Sashihara *et al.*, 2002) descreveram um estudo pequeno onde foi evidenciada alta incidência de HHV-6 em receptores de transplante de células de cordão umbilical.

Entre receptores de transplante de órgãos sólidos a incidência relatada de infecção por HHV-6 nas primeiras semanas de pós-operatório varia, amplamente, entre 6% e 55% (Morris *et al.*, 1989; Okuno *et al.*, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1992; Osman *et al.*, 1996; Griffiths *et al.*, 1999; Tong *et al.*, 2000; Emery, 2001; Ihira *et al.*, 2001; Mendez *et al.*, 2001; Humar *et al.*, 2002; Feldstein *et al.*, 2003; Rayes *et al.*, 2005). O mesmo se observa em relação à incidência de infecção por HHV-7, descrita em 0 a 55% dos receptores de transplantes de órgãos (Tong *et al.*, 2000; Ihira *et al.*, 2001; Feldstein *et al.*, 2003; Rayes *et al.*, 2005; Lehto *et al.*, 2007; Thomasini *et al.*, 2007).

O pico destas infecções ocorre usualmente entre a 2ª e 4ª semana pós-transplante, portanto mais precoce quando comparado a CMV ou EBV (Singh e

Carrigan, 1996; Tong *et al.*, 2000; Lautenschlager *et al.*, 2002b; Lehto *et al.*, 2007). Em geral, a viremia decorre de reativação de infecção latente devida a utilização de drogas imunossupressoras. Todavia, nos receptores de transplante previamente soronegativos, a infecção primária pode ocorrer como resultado de transmissão pelo órgão transplantado ou de aquisição na comunidade (Rossi *et al.*, 2001). Estudos em receptores de transplante hepático demonstraram a ocorrência de infecção primária por HHV-6 em 61 a 100% dos pacientes que eram soronegativos no pré-operatório. (Dockrell *et al.*, 1997; Yoshikawa *et al.*, 2001).

Os fatores de risco associados à ocorrência de infecção por HHV-6 e HHV-7 em receptores de órgãos sólidos não foram completamente estabelecidos. Nos resultados de um estudo conduzido em 120 pacientes submetidos a transplante de rim e rim/pâncreas, a incidência de infecção por HHV-6, caracterizada pela ocorrência de soroconversão primária ou secundária no pós-operatório, foi significativamente maior naqueles tratados com daclizumab ou sirolimus (Deborska *et al.*, 2003). Algumas observações sugerem que a ocorrência de rejeição aguda e o tratamento com altas doses de corticosteróide possam desencadear a reativação de HHV-6 em receptores de transplante hepático (Singh *et al.*, 1995; Lautenschlager *et al.*, 1998).

2.5 Efeitos diretos das infecções por HHV-6 e HHV-7

De uma forma geral, o conhecimento das apresentações clínicas relacionadas aos HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplantes é fruto de série de casos, principalmente em adultos. As manifestações mais frequentemente relatadas abrangem: febre (Jacobs *et al.*, 1994; Singh *et al.*, 1995), erupção cutânea (Asano *et*

al., 1991; Singh *et al.*, 1997; Cone *et al.*, 1999), supressão de medula óssea (Drobyski *et al.*, 1993; Singh *et al.*, 1997; Rossi *et al.*, 2001; Feldstein *et al.*, 2003), pneumonite intersticial (Carrigan *et al.*, 1991; Cone *et al.*, 1993), hepatite (Ward *et al.*, 1989; Lautenschlager *et al.*, 2000) e encefalite (Rogers *et al.*, 2000; Zerr *et al.*, 2001; Nash *et al.*, 2004).

A síndrome febril aguda inespecífica ocorre precocemente no período pós-transplante e é a manifestação clínica predominantemente observada na infecção pelo HHV-6 e HHV-7 em receptores de órgão sólido.

Em um estudo com receptores de enxerto hepático, foram avaliados 4 características clínicas: febre não explicada, trombocitopenia, rejeição e envolvimento de sistema nervoso central. Destas, somente a ocorrência de febre não explicada teve associação com a infecção pelo HHV-6 diagnosticada por detecção do DNA viral no plasma por PCR aninhado (Yoshikawa *et al.*, 2000).

A ocorrência de encefalite após TMO associada à infecção por HHV-6 foi originalmente reconhecida por Drobyski e colaboradores em 1994 (Drobyski *et al.*, 1994). O risco desta complicação parece ser maior nos pacientes com alta carga viral (Kamble *et al.*, 2007). Diferentes estudos têm sugerido a associação entre infecção por HHV-6 e a ocorrência de complicações de sistema nervoso central em receptores de transplantes de órgãos (Paterson *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 2000; Singh e Paterson, 2000; Bollen *et al.*, 2001; Nash *et al.*, 2004; Lehto *et al.*, 2007), embora com menor incidência que a verificada em receptores de TMO.

Um estudo com receptores de transplante hepático demonstrou que 15% desenvolveram alterações de seu estado mental com etiologia desconhecida depois do transplante. Pacientes com viremia por HHV-6 apresentaram incidência significativamente maior de alterações do seu estado mental quando comparado

aqueles sem viremia (Rogers *et al.*, 2000). As manifestações clínicas predominantes foram: letargia, confusão, convulsão e queda no nível de consciência.

Bollen em 2001 relatou o caso de um paciente receptor de enxerto pulmonar que evoluiu com síndrome amnésica (anterógrada e retrógrada) seguida por episódio de crise convulsiva tônico clônico generalizada. A tomografia computadorizada de crânio com contraste venoso e a análise líquórica foram normais. Lentificação temporal foi demonstrada em eletroencefalograma, sem fenômeno epilético. A pesquisa de DNA de HHV-6, com o emprego de PCR, foi positiva em sangue e líquido cefalorraquidiano. Testes semelhantes realizados para a pesquisa de herpes simples (HSV), CMV e enterovírus foram negativos.

Em uma série de casos (Singh e Paterson, 2000) que incluiu 13 receptores de TMO e um receptor de transplante de fígado, onde o diagnóstico de infecção por HHV-6 do sistema nervoso central foi estabelecido por isolamento viral e/ou detecção de DNA HHV-6 em líquido cefalorraquidiano por PCR, as manifestações clínicas predominantes foram: alteração do nível de consciência, abrangendo desde confusão até coma (92%), convulsões (25%) e cefaléia (25%). Houve comprometimento neurológico focal em 17% dos pacientes. Achados de neuroimagem anormais, caracterizadas por lesões de baixa atenuação em lobos cerebrais posteriores estiveram presentes em 17% dos pacientes.

Casos de encefalite (Chan *et al.*, 1997), meningite asséptica (Yoshikawa *et al.*, 2003) e mielite (Ward *et al.*, 2002) associados ao HHV-7 foram descritos em receptores de TMO.

Relatos de casos indicam que HHV-6 pode ser causa de pneumonite intersticial em receptores de transplante de medula óssea (Cone *et al.*, 1993; Hentrich *et al.*, 2005). Em uma série de casos, a análise do tecido pulmonar,

evidenciou cerca de 70% de co-infecção pelas variantes A e B do HHV-6 (Cone *et al.*, 1996).

Há também evidências de que a infecção por HHV-6 seja causa infrequente de pneumonite em receptores de transplantes de órgãos sólidos. Singh e colaboradores (Singh *et al.*, 1997) descreveram um caso de pneumonite em que a infecção viral foi demonstrada por análise imuno-histoquímica de espécime de biópsia pulmonar. Em um estudo prospectivo que incluiu 22 receptores de transplante de pulmão ou coração-pulmão, observou-se a ocorrência de um caso de pneumonite temporalmente relacionado à detecção de HHV-6 (Lehto *et al.*, 2007). Em outros dois estudos, a pesquisa em amostras de lavado broncoalveolar em receptores de transplante pulmonar detectou a presença de HHV-6 em 9,4% a 14,6% dos casos, porém a revelância deste achado ainda é incerto (Ross *et al.*, 2001; Jacobs *et al.*, 2003). Nem sempre é possível estabelecer, em tais casos, a associação causal entre a pneumonia e a infecção por esse herpesvírus, pois frequentemente outras etiologias para infecções pulmonares co-existem.

Alguns estudos sugerem, ainda, a associação da infecção por HHV-6 com outras síndromes clínicas como hepatites e doença gastrointestinal (Appleton *et al.*, 1995; Lautenschlager *et al.*, 1998; Hentrich *et al.*, 2005; Abdel Massih e Razonable, 2009). Aventa-se também a possibilidade de associação de HHV-7 e hepatite (Griffiths *et al.*, 1999).

A hepatite por HHV-6 tem sido relatada com maior frequência nos receptores de transplante hepático. Em um estudo que incluiu 139 pacientes, demonstrou-se a presença de antígenos específicos de HHV-6 nas biópsias hepáticas de 14% dos casos, associada à disfunção do enxerto (manifestada por elevação de transaminases, sobretudo da alanino aminotransferase, fosfatase alcalina, gama

glutamil transferase e bilirrubina) com infiltrado linfocitário moderado visto na histopatologia. Os antígenos positivos se localizaram nas células mononucleares dos espaço porta e um terço dos casos de infecção instalada por HHV-6 evoluiu com rejeição crônica do enxerto hepático (Lautenschlager *et al.*, 1998; Lautenschlager *et al.*, 2002b).

Apesar da diversidade de manifestações clínicas potencialmente associadas às infecções por HHV-6 e HHV-7, é provável que a incidência das mesmas em receptores de transplantes de órgãos sólidos seja baixa e que o seu maior impacto sobre a evolução clínica desses pacientes se deva aos seus efeitos indiretos, abordados mais adiante neste texto (Razonable e Paya, 2002). Deve-se destacar que no maior estudo de coorte que analisou a incidência de infecção por HHV-6 em receptores de transplantes de órgãos, Humar e colaboradores (Humar *et al.*, 2002) observaram que embora a viremia por HHV-6 fosse observada em 56 (28%) entre os 200 indivíduos acompanhados no estudo, apenas dois (1%) vieram a desenvolver doença sintomática, traduzida por febre, trombocitopenia e leucopenia.

2.6 Efeitos indiretos

Acredita-se que semelhantemente ao já demonstrado para o CMV, os dois beta-herpesvírus mais recentemente descobertos possam exercer efeito imunomodulador no hospedeiro imunocomprometido e, dessa forma, ensejar, indiretamente, o aumento da incidência de diferentes complicações observadas nos receptores de transplantes, tais como: a doença de enxerto contra hospedeiro nos receptores de TMO; a citomegalovirose; outras infecções oportunistas; o agravamento da recidiva de hepatite por vírus C em receptores de transplante

hepático, e, finalmente, a ocorrência de rejeição aguda ou crônica.

O HHV-6 tem sido relacionado à ocorrência da forma aguda da doença do enxerto versus hospedeiro, contudo o significado de tal associação ainda não está estabelecido. Em alguns casos, a infecção por HHV-6 poderia induzir a erupção cutânea que confundiria com a forma aguda da doença do enxerto versus hospedeiro (Yoshikawa *et al.*, 1991; Yoshikawa *et al.*, 2001). Por outro lado, há evidências da associação entre a infecção por HHV-6 e o desenvolvimento de doença do enxerto versus hospedeiro grave (Zerr *et al.*, 2005a). Mais uma vez, todavia, não está claro se é a infecção por HHV-6 que modifica a forma aguda desta doença agravando suas manifestações clínicas, ou se pacientes com forma grave de doença do enxerto versus hospedeiro estariam mais susceptíveis a reativação do HHV-6.

Semelhante associação foi também aventada em relação à infecção por HHV-7. Em um estudo que incluiu 265 crianças receptoras de TMO a incidência de infecção por HHV-7 foi investigada com o emprego de técnicas de imunohistoquímica e PCR. Em nove crianças (3%) detectou-se viremia por HHV-7 com mediana de tempo de seguimento após TMO de 21 dias (16-27 dias). Oito das nove crianças evoluíram com doença de enxerto versus hospedeiro aguda e todas desenvolveram múltiplas infecções de etiologias variadas. Quatro pacientes evoluíram a óbito por doença do enxerto versus hospedeiro e sepse (Khanani *et al.*, 2007).

Mais volumosas são as evidências que indicam a associação entre infecção por HHV-6 e o desenvolvimento de infecção por CMV (Dockrell *et al.*, 1997; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Razonable *et al.*, 2001; Clark, 2002; Razonable *et al.*, 2003).

Dockrell e colaboradores (Dockrell *et al.*, 1997), ao estudarem uma coorte de 247 receptores de transplante hepático, observaram que a soroconversão secundária para HHV-6 no pós-operatório predizia um maior risco de doença sintomática por CMV.

Em diferentes estudos prospectivos, conduzidos em receptores de transplante renal (Osman *et al.*, 1996; Chapenko *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000), relatou-se um aumento da incidência de doença por citomegalovírus entre pacientes com infecção por HHV-7. Não se observou, nestes estudos, efeito estatisticamente significativo da infecção por HHV-6 sobre o risco de doença por CMV em receptores de transplante renal.

Entre receptores de transplante hepático, a possível interação entre as infecções por HHV-6 e HHV-7 e a ocorrência de infecção e doença por CMV também foi relatada em diferentes estudos (Dockrell *et al.*, 1997; Humar *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Lautenschlager *et al.*, 2002b; Razonable *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2005).

Mendez e colaboradores (Mendez *et al.*, 2001), utilizando ensaio de PCR quantitativo para diagnóstico de infecção por cada um dos beta-herpesvírus em receptores de transplante hepático, observaram a existência de correlação entre as cargas virais de CMV, HHV-6 e HHV-7 e o desenvolvimento de doença por CMV, especialmente em receptores previamente soronegativos para CMV que recebiam enxerto de doador soropositivo.

Outros três estudos que usaram PCR quantitativo (Razonable *et al.*, 2003) ou antigenemia (Lautenschlager *et al.*, 2002a; Razonable *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2005) para o diagnóstico de infecções ativas por beta-herpesvírus observaram a detecção de HHV-6 e/ou HHV-7 em elevada proporção de receptores de transplante

hepático com doença por CMV. Em um destes estudos (Razonable *et al.*, 2003), a co-infecção por HHV-6 teve associação significativa com a ocorrência de hiperbilirrubinemia, enquanto a co-infecção por HHV-7 relacionou-se a uma tendência não estatisticamente significativa a maior frequência de citopenias.

Recentemente utilizando-se de PCR aninhado em uma população de 29 receptores de enxerto hepático, Thomasini e colaboradores demonstraram alta frequência de detecção de HHV-7 subsequentemente à detecção de CMV (Thomasini *et al.*, 2007).

Com o emprego da antigenemia para detecção das infecções por beta-herpesvírus, Lehto e colaboradores (Lehto *et al.*, 2007) analisaram 22 receptores de transplante de pulmão e pulmão-coração nos 12 meses seguintes ao procedimento cirúrgico. A incidência acumulada de infecções por HHV-6, HHV-7 e CMV foi, respectivamente, 91%, 50% e 55%. A detecção de antigenemia de HHV-6 e HHV-7 foi frequentemente associado à ocorrência simultânea de viremia por CMV. A profilaxia com ganciclovir ou valganciclovir não foi capaz de prevenir o aparecimento de antigenemia para HHV-6 e 7.

Adicionalmente, um estudo recente (Humar *et al.*, 2009) observou que a presença de co-infecção por HHV-6 ou HHV-7 em receptores de transplante não parece ter influência sobre a resposta da doença por CMV ao tratamento com valganciclovir ou ganciclovir venoso, embora tais drogas não tenham sido efetivas para controlar a viremia por HHV-6 e HHV-7.

Um número menor de estudos abordou a interação entre as infecções por HHV-6 e HHV-7 e outras doenças infecciosas. Humar e colaboradores (Humar *et al.*, 2002) demonstraram que a viremia pelo HHV-6 em receptores de transplante hepático aumentou o risco de ocorrência de infecções oportunistas em geral.

Dockrell e colaboradores (Dockrell *et al.*, 1999) observaram que a ausência de anticorpos para HHV-6 no pré-operatório, condição associada a alto risco de desenvolvimento de infecção primária por HHV-6 no pós-operatório, foi um fator independentemente relacionado ao maior risco de ocorrência de doença fúngica invasiva no pós-operatório. De forma semelhante, Rogers e colaboradores observaram, em uma coorte de 80 receptores de transplante hepático, que a ocorrência de viremia por HHV-6 associou-se a uma importante elevação na incidência de infecções fúngicas invasivas (Rogers *et al.*, 2000).

Os resultados de alguns estudos sugerem que a infecção pelo HHV-6 influencie a patogênese da recorrência de hepatite C pós-transplante de fígado (Humar *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2002). A viremia por HHV-6, embora não afete diretamente a carga viral do vírus C, poderia associar-se à tendência de recorrência mais grave desta hepatite viral, traduzida por aumento no escore de fibrose (Humar *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2002). Tal influência não dependeria do concurso de outros fatores como o uso de álcool, genótipo do HCV, infecção pelo CMV e potência do esquema imunossupressor. Todavia, a existência deste efeito ainda permanece controversa, pois um outro estudo, incluindo 93 receptores de transplante hepático (Razonable *et al.*, 2002), não verificou associação entre a viremia por HHV-6 e a gravidade da recorrência da hepatite C.

A possível associação entre as infecções por HHV-6 e HHV-7 e o desenvolvimento de rejeição ao órgão transplantado ainda é aspecto não estabelecido na literatura. Conquanto nem todos os estudos tenham observado algum impacto destas infecções sobre prognóstico quanto a função do enxerto, (Rogers *et al.*, 2000; Gupta *et al.*, 2003) há considerável volume de evidências dando suporte a existência dessa associação.

Já em 1990, Okuno e colaboradores (Okuno *et al.*, 1990) relataram a associação entre a incidência de rejeição ao enxerto e a reativação da infecção por HHV-6, caracterizada naquele estudo pela elevação do título de anticorpos contra este vírus em receptores de transplante renal que eram previamente soropositivos. Entre os 21 indivíduos avaliados, oito casos que demonstraram aumentos séricos importantes nos títulos de anticorpos contra HHV-6 evoluíram com rejeição grave ao enxerto. No mesmo estudo, os autores investigaram a presença de antígenos do HHV-6 no tecido renal de outros nove casos de pacientes com rejeição ao enxerto renal. Em cinco destes casos, detectou-se a presença do HHV-6 no epitélio tubular, bem como nos histiócitos e linfócitos que infiltravam o interstício, fato que poderia estar relacionado ao desencadeamento do processo de rejeição. Todavia, tendo em vista as características metodológicas desse estudo, não é possível afastar a possibilidade de que a presença de HHV-6 no tecido renal fosse apenas uma decorrência da imunossupressão, semnexo causal com o processo de rejeição.

Mais recentemente, Sebeková e colaboradores (Sebeková *et al.*, 2005) compararam amostras de biópsias do enxerto de receptores de transplante renal, nas quais se havia detectado por PCR a presença de infecção por pelo menos um entre os quatro herpesvírus pesquisados (CMV, EBV, HHV-6 e HHV-7) com outras, em que tais infecções não estavam presentes. Estes autores observaram que as amostras de tecido com infecção viral apresentavam escores significativamente maiores de fibrose intersticial e de degeneração tubular de acordo com a classificação Banff 1997.

Estudo realizado em outra coorte de receptores de transplante renal (Kidd *et al.*, 2000), evidenciou que, entre os pacientes que apresentaram rejeição ao enxerto, a detecção de infecção por HHV-7 através de ensaio de PCR quantitativo, associou-

se a um maior número de episódios de rejeição. Nesse estudo, não se observou semelhante associação com a infecção por HHV-6.

Lautenschlager e colaboradores (Lautenschlager *et al.*, 2002a) observaram que a infecção por HHV-6 em amostras enxerto hepático estava associada a aumento da expressão de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1), de seus ligantes (LFA-1 e VLA-4) e de antígenos de histocompatibilidade de classe II. A expressão de tais moléculas pode estar relacionada ao desencadeamento do processo de rejeição celular. Os autores não observaram em qualquer caso a presença de achados histopatológicos característicos de rejeição aguda. Todavia, três entre os oito pacientes com infecção do enxerto hepático por HHV-6 evoluíram posteriormente com rejeição crônica.

Outro estudo que analisou prospectivamente uma coorte de 200 receptores de transplante hepático (Humar *et al.*, 2002), observou que a incidência de rejeição diagnosticada depois dos primeiros trinta dias de pós-operatório era maior entre indivíduos com infecção por HHV-6.

Tong e colaboradores (Tong *et al.*, 2002), ao estudar prospectivamente uma coorte de 37 receptores de transplante renal, observou que a incidência de nefropatia crônica do enxerto após três anos de seguimento foi significativamente maior nos indivíduos em que se havia detectado viremia por HHV-6. Mais recentemente, Chapenko e colaboradores (Chapenko *et al.*, 2009) observaram uma prevalência significativamente aumentada de infecção por HHV-6 e HHV-7 em biópsias de enxerto renal de pacientes com nefropatia crônica do enxerto (NCE). Interessantemente, na maior parte dos casos de NCE havia co-infecção por HHV-6 e HHV-7. A detecção simultânea de ambos os vírus em amostras de plasma destes pacientes associou-se ao desenvolvimento precoce de NCE.

3 OBJETIVOS

3.1 Principal

Determinar a incidência de infecção ativa pelos HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplante renal.

3.2 Secundários

1. Descrever a frequência de diferentes manifestações clínicas associadas à estas infecções nos receptores de transplante renal.
2. Analisar a relação entre infecção ativa e possíveis fatores de risco, entre eles, o esquema imunossupressor utilizado.
3. Avaliar o impacto da infecção ativa pelos HHV-6 e HHV-7 sobre o risco de desenvolvimento de complicações infecciosas nos primeiros 180 dias de pós-operatório.
4. Verificar a existência de possível associação entre a ocorrência de infecção por um dos beta-herpesvírus estudados e o surgimento de rejeição celular aguda.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Estudo prospectivo de coorte com pacientes que realizaram transplante renal no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF). Este hospital é a maior das unidades hospitalares da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A época do início do estudo, possuía 311 leitos ativos para atendimento em nível terciário, incluindo leitos em unidades de terapia intensiva. Desde 1989 conta com programa de transplante de órgãos.

4.2 População

Amostra de conveniência onde foram elegíveis todos os pacientes submetidos a transplante renal no HUCFF entre março de 2004 e setembro de 2005

4.2.1 Critérios para inclusão

Aceitação por parte do paciente, com assinatura do termo de livre consentimento informado.

4.2.2 Critérios para exclusão

Pacientes que deixaram de fornecer amostra de sangue para vigilância por

mais de duas semanas consecutivas para infecção pelo HHV-6 e HHV-7 e aqueles com período de seguimento menor que 30 dias.

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

4.3 Coleta de dados

De cada paciente incluído no estudo, foram coletados prospectiva e semanalmente os seguintes dados:

- Nome e prontuário;
- Sexo;
- Data de nascimento;
- Data do transplante e modalidade de doador (vivo ou falecido);
- Esquema imunossupressor após o transplante e suas doses;
- Ocorrência de rejeição aguda, definida clinicamente ou por exame histopatológico e data;
- Esquema imunossupressor utilizado para o tratamento dos episódios de rejeição;
- Ocorrência de complicações infecciosas outras (bacterianas, fúngicas e/ou virais);
- Outros exames laboratoriais: dosagem de hemoglobina; leucometria, contagem de plaquetas, dosagem das transaminases e de creatinina;
- Resultados das contagens de linfócitos CD4+ e CD8+, realizadas na primeira, segunda, sexta e décima semanas de pós-operatório;

- Reação em cadeia de polimerase (PCR aninhado) para a detecção do DNA dos vírus e data de coleta das amostras;
- Presença de manifestações clínicas potencialmente relacionadas à infecção pelo HHV-6 e HHV-7;
- Data e estado vital ao término da última avaliação.

4.4 Definição de termos

4.4.1 Infecção ativa pelo HHV-6 e HHV-7

Detecção do DNA de um dos dois vírus em amostras de plasma, utilizando técnica de “PCR aninhado”, associada ou não à presença de sintomatologia clínica compatível.

4.4.2 Doença associada ao HHV-6 e HHV-7

Sintomatologia potencialmente relacionada às infecções por estes vírus como: febre, erupção cutânea, leucopenia, plaquetopenia, hepatite, pneumonia, encefalopatia, na ausência de outra condição causal aparente, associada à detecção do DNA de um dos dois vírus por “PCR aninhado” em amostra de plasma.

4.4.3 Infecções bacterianas microbiologicamente documentadas

Definidas pelo isolamento de microorganismo em espécime coletado de sítio estéril ou em cultura semiquantitativa de urina, neste caso com contagem a 10^5 unidades formadoras de colônias/ml.

4.4.4 Doença fúngica invasiva

Definida *a priori* pela identificação de fungos em exame direto a fresco ou em cultura de espécimes clínicos de sítios normalmente estéreis, ou pela demonstração de invasão tecidual por fungos em espécie de biópsia examinados à microscopia óptica, com coloração apropriados como a prata metenamina ou método de Grocott.

4.4.5 Rejeição aguda

Foi definida pela presença de quadro histopatológico compatível em fragmentos de biópsia renal ou pela utilização de pulsoterapia com metilprednisolona em doses superiores a 250mg/dia por 3 dias em pacientes que apresentavam disfunção aguda do enxerto.

4.4.6 Doença por CMV

Definida pela presença de manifestações clínicas compatíveis com citomegalovirose em associação com a detecção de viremia por CMV (com a utilização da pesquisa do antígeno pp65 do CMV em leucócitos) ou com o achado de inclusões virais características do CMV em espécimes de biópsia do trato gastrointestinal.

4.5 Procedimentos laboratoriais

Além dos exames laboratoriais rotineiramente realizados no seguimento dos receptores de transplantes renais, foram coletadas amostras de sangue para a pesquisa do DNA do HHV-6 e do HHV-7 com a utilização de técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) aninhado.

As coletas de sangue para a pesquisa da infecção ativa pelo HHV-6 e HHV-7 foram realizadas nos primeiros três dias de pós-operatório e, a partir de então, semanalmente até completar 12 semanas de seguimento.

O procedimento foi realizado em série, isto é, primariamente foi testado em células mononucleares de sangue periférico e para os positivos, foi realizado o teste em plasma.

4.5.1 Extração de DNA de células mononucleares de sangue periférico

O procedimento para extração do DNA celular teve início com a purificação das células mononucleares pelo método de fracionamento por densidade utilizando a técnica de Ficoll-Hypaque (Histopaque[®], Sigma, EUA). Em um tubo de 15 ml de polipropileno (Falcon) se adicionou 4 mL de Histopaque[®] e vagarosamente 4 mL de sangue para que fossem formadas duas fases. O material foi centrifugado por 30 minutos a 2000 rpm.

Após a centrifugação, foram observadas 4 fases (plasma, um halo com as células mononucleares, Histopaque e um sedimento contendo hemácias e leucócitos). O plasma foi retirado e colocado em um micro tubo previamente identificado. As células mononucleares foram retiradas com pipeta de transferência e colocadas em um outro tubo de 15 ml previamente identificado.

No tubo contendo as células mononucleares, foi adicionado 14 mL de PBS (molaridade:10X e ph:7) e centrifugado por 8 minutos a 2.000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o material foi submetido a outras 2 lavagens com PBS.

Após a última lavagem foi adicionado ao sedimento 1000µL de DNAzol (Invitrogen®, EUA) , homogeneizado e aguardados durante 5 minutos. Adicionamos 600µL de etanol absoluto e homogeneizamos vagorosamente até o DNA precipitar.

O DNA precipitado foi retirado do tubo com a pipeta de transferência e colocado em 1 microtubo de 1,5 ml previamente adicionado com etanol 95%. Uma lavagem adicional do DNA com etanol 95% foi realizada. Para solubilizar o DNA, o etanol foi evaporado e 300µL da solução de NaOH 8µm foi adicionado ao tubo e o mesmo armazenado a 4°C.

Após a extração do DNA das amostras, foram realizadas as ampliações dos fragmentos desejados para cada tipo viral.

4.5.2 Extração do DNA viral do Plasma

O material genético do HHV-6 e HHV-7 do plasma foi extraído utilizando um kit de extração de DNA de plasma (MinuElute Virus Spin Kit, Qiagen, Alemanha).

Tal protocolo define que todas as etapas seguiram as instruções do fabricante e realizadas a temperatura ambiente. Em resumo, o mix de extração foi preparado com 220 µl do tampão AI com 6,2 µl do carreador. Acrescentou-se 25µl de Protease Qiagen® em um micro tubo de 1,5 ml e 200 µl de plasma seguido por 200 µl do tampão mix do tampão AI + carreador, previamente aquecidos a 56°C em banho Maria. Com o micro tubo fechado, misturamos pelo vortex por 15 segundos e incubamos a 56°C por 15 minutos.

O material foi centrifugado para a remoção das gotas do seu interior e após, adicionado 250 µl de etanol (96-100%) à amostra. O micro tubo fechado foi submetido à mistura pelo vortex por 15 segundos e incubado por 5 minutos a temperatura ambiente. Novamente foi centrifugado para a remoção de gotas do interior da tampa. Todo o lisado foi aplicado cuidadosamente na coluna. Com o tubo fechado, ocorreu a centrifugação por 1 minuto a 8000 rpm. A coluna foi colocada em um tubo coletor limpo de 2 ml e descartado o outro tubo coletor. Após abertura da coluna, adicionou-se 500 µl de tampão AW1, seguido pelo fechamento do mesmo e nova centrifugação por 1 minuto a 8000 rpm. Novamente a coluna foi colocada em um novo tubo coletor limpo de 2 ml e descartado o outro tubo coletor.

Adicionou-se 500 µl de tampão AW2, quando sofreu outro processo de centrifugação por 1 minuto a 8000 rpm, descartando o tubo coletor e colocando a coluna em um tubo coletor limpo de 2 ml. Após centrifugar por 3 minutos a 14.000 rpm para secar completamente a membrana, o material foi colocado em um micro tubo de 1,5 ml. Após a abertura desta tampa, o material foi incubado por 3 minutos para secar completamente e evaporar o líquido restante.

A coluna foi colocada em um novo micro tubo de 1,5 ml, seguido da aplicação de 50 µl de tampão AVE e da incubação em temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugou-se por 1 minuto a 14.000 rpm, descartou-se a coluna e armazenou-se o DNA extraído a 4°C.

4.5.3 Reação de Cadeia da Polimerase

O PCR é uma ferramenta que nos permite amplificar sequências específicas de DNA. São pré-requisitos para o sucesso desta técnica: desenho adequado dos

pares de iniciadores e o emprego de condições ótimas, como a concentração do tampão, a temperatura de anelamento ideal e o uso de reagentes altamente purificados (Ausubel, 1987).

Para a detecção do DNA viral foi utilizada a técnica de “PCR aninhado” que envolve 2 reações de PCR consecutivas (Kempf *et al.*, 2001).

As sequências virais amplificadas foram as seguintes: um fragmento de DNA com 138 pares de bases da região genômica U31 da cepa Z29 de HHV-6 (Aubin *et al.*, 1991; Kempf *et al.*, 1995) e um fragmento de DNA com 186 pares de bases da região U10 que codifica uma fosfoproteína estrutural de HHV-7 (Berneman *et al.*, 1992; Kempf *et al.*, 1997).

Para a detecção do HHV-6, utilizamos na primeira etapa o par de iniciadores (HHV-6/3U -5' TCT GTT CCA GAG AAA GGG TGT 3' e HHV6/4L - 5' CGA TCA CAA TTT CAA TCT TTA TTT 3'). Na segunda reação de PCR, utilizamos iniciadores mais internos (HHV-6/5U - 5' GCG AAG GGC TGA TTA GGA T 3' e HHV-6/6L - 5' CAC GAT CTC AAA TCT TTT CCT AT).

Tabela 1 Iniciadores utilizados no PCR para detecção do HHV 6

Iniciador	Sequência	Temperatura de anelamento	Fragmento esperado
HHV-6/3U	TCT GTT CCA GAG AAA GGG TGT*	48,4	138pb
HHV-6/4L	CGA TCA CAA TTT CAA TCT TTA TTT	55,7	
HHV-6/5U	GCG AAG GGC TGA TTA GGA T	54,6	92pb
HHV-6/6L	CAC GAT CTC AAA TCT TTT CCT AT	50.6	

* As sequências dos iniciadores foram extraídas do genoma do vírus HHV6 (número de acesso X83413)

Para a detecção do HHV-7, utilizamos na primeira reação o par (HV-7 5' TAT CCC AGC TGT TTT CAT ATA GTA AC 3' e HV-8 5' GCC TTG CGG TAG CAC TAG ATT TTT TG 3') e para a segunda reação os iniciadores (HV-10 - 5' CAG AAA TGA TAG ACA GAT GTT GG 3' e HV-11 - 5' TAG ATT TTT TGA AAA AGA TTT AAT AAC 3').

Tabela 2 Iniciadores utilizados no PCR para detecção do HHV-7

HHV 7 Iniciador	Sequência	Temperatura de anelamento	Fragmento esperado
HV-7	TAT CCC AGC TGT TTT CAT ATA GTA AC*	52,6	186 pb
HV-8	GCC TTG CGG TAG CAC TAG ATT TTT TG	58,6	
HV-10	CAG AAA TGA TAG ACA GAT GTT GG	51,3	114 pb
HV-11	TAG ATT TTT TGA AAA AGA TTT AAT AAC	46,1	

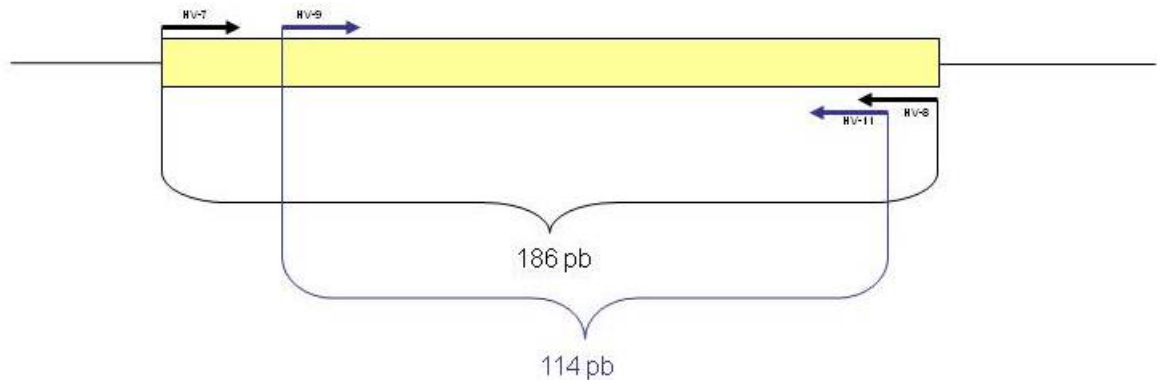
* As sequências dos iniciadores foram extraídas do genoma do vírus HHV-7 (Número de acesso X83413)

```
19681 ctagttattcagttcgaattggtttcaactctcgcaaatcctgatcatctactgttttct
19741 tgcaatcccaaattgtttttcacaggagatattctgaacagcgctataaattacaacat
19801 agtcctaatcattatgagcttacagtgtacgcaccacataaattacattctcatcccagc
                        >>>>>>>>
19861 tgttttcatatagtaacattaccaattcagttttcatcagaaatgatagacagatgttg
>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>
19921 gtgtcaagctatcctaatagaaggctactttgaagtacaaatgtgcccatgggtacagaat
>
19981 tctcctcttcaaattgttattaaatctttttcaaaaaatctagtgctaccgcaaggcacc
                        <<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<
20041 cctattgcaattctcttatatatggaaaaatgacaacaggaaaaattctttacgggat
```

As caixas em vermelho, amarelo e verde indicam a região dos iniciadores que foram utilizados no PCR aninhado. A direção das sequências dos iniciadores estão indicadas pelas setas.

Figura 3 Sequência parcial do genoma do vírus HHV-7 nos nucleotídeos 19681-20102. (Número de acesso AF 037218.1)

HHV7



As setas em preto indicam os iniciadores da primeira reação de PCR que amplifica um fragmento de 186 pares de bases. As setas em azul indicam os iniciadores mais internos do PCR aninhado que amplifica um fragmento de 114 pares de bases.

Figura 4 Representação esquemática da estratégia do PCR aninhado para detecção do HHV-7

Em todas as reações, 5 μ l de DNA extraído das amostras foi adicionado em uma mistura contendo 20 mM Tris-HCl, 50 nM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 1mM DTT, 0.5 mg/ml, 0.2 mM dNTPs, 0.5 unit of Taq polimerase e 50 pmol de cada iniciador. A reação deu-se em um volume final de 50 μ l. Todas as amplificações foram feitas com 1 ciclo a 95°C, por 5 minutos, 30 ciclos a 95°C por 1 minuto, 57°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto seguidos de uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

O material amplificado foi visualizado e analisado em géis de eletroforese de agarose a 2%, corado por brometo de etídeo e por géis de acrilamida a 6% corados pela prata.

4.6 Métodos estatísticos

4.6.1 Tamanho amostral

Estudos com metodologia semelhante (Griffiths *et al.*, 1999; Mendez *et al.*, 2001; Humar *et al.*, 2002) tiveram incidência variando entre 30 e 50%. Calculamos que seriam necessários 65 pacientes adultos para estimar incidência cuja amplitude máxima dos seus intervalos de confiança de 95% fosse de $\pm 10\%$.

4.6.2 Análise estatística

Os resultados de variáveis categóricas são descritos pelos valores absolutos e percentuais. Os resultados de variáveis numéricas pela sua mediana e intervalo interquartil (IIQ). A distribuição de frequência de variáveis categóricas utilizou os testes de qui-quadrado ou exato de Fisher, enquanto a comparação da distribuição de variáveis numéricas foi feita com o emprego do teste de Mann-Whitney.

Modelos de Cox uni e multivariados foram utilizados para testar a associação entre a ocorrência de cada uma destas infecções virais e o desenvolvimento de rejeição aguda e de infecções microbiologicamente documentadas. Neste caso, em todos os modelos analisados, as infecções por HHV-6 e HHV-7 foram introduzidas como variáveis tempo-dependentes e, em seguida, outras variáveis que haviam demonstrado associação na análise univariada com $p \leq 0,15$ foram adicionadas aos modelos, usando a técnica de regressão por passos retrógrada, tendo como limite para a permanência de cada co-variável no modelo um valor de $p \leq 0,15$. Os valores de significância estatística de cada variável mantida nos modelos foram calculados pelo teste de Wald. A análise foi realizada

com o programa SPSS para Windows, v. 12 (SPSS Inc). Todos os valores de p são bicaudais.

4.7 Aspectos éticos envolvidos

Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (protocolo 102/03).

Foram incluídos apenas pacientes que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os procedimentos envolvidos exigiram mínimo desconforto, associado a coleta semanal de amostra de sangue, sem risco algum ao paciente.

Foi garantida a preservação da confidencialidade dos dados de cada paciente.

5 RESULTADOS

Entre março de 2004 e novembro de 2005, foram recrutados 64 pacientes e excluídos seis destes por não adesão ao protocolo do estudo.

Dentre os 58 pacientes incluídos no estudo, havia igual número de pacientes do sexo masculino e feminino (n=29, 50%). A idade mediana foi de 43 anos (IIQ: 31 – 51 anos). A idade mínima entre os pacientes incluídos foi de 19 anos e a máxima igual a 65 anos.

Com relação ao tipo de doador, observou-se em 33 casos (57%) que o transplante foi realizado com doador falecido, em 24 (41%), o doador era vivo relacionado e no caso restante (2%) o doador era vivo não relacionado.

Ao todo, foram coletadas no período de 12 semanas seguintes ao transplante renal, 490 amostras de sangue, com mediana de 9 por paciente (IIQ: 7-10).

Ao final do período de 6 meses de seguimento clínico, 49 (85%) pacientes estavam vivos, com enxerto renal funcional, 7 (12%) evoluíram ao óbito e 2 pacientes (3%) haviam perdido o enxerto e retornado à hemodiálise crônica.

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

Entre as 490 amostras analisadas, observou-se que 37 (8%) foram positivas para o DNA do HHV-6 e 26 (5%) foram positivas para DNA do HHV-7. Em dezessete pacientes (29%), detectou-se a presença do DNA viral do HHV-6 em pelo menos 1

amostra de plasma. Nestes casos, o número de amostras positivas variou entre 1 e 4, com mediana de 2 amostras. O DNA do HHV-7 foi detectado em pelo menos uma amostra de 16 pacientes (28%). O número de amostras positivas para HHV-7 nestes pacientes variou de 1 a 3, com mediana de 1 amostra. Cinco pacientes (9%) apresentaram infecção por ambos os vírus nas 12 primeiras semanas de pós-operatório.

A análise da prevalência de infecção ativa por HHV-6 nas primeiras 12 semanas de seguimento é apresentada na figura 5. Observou-se uma tendência a maior prevalência no período entre a terceira e a sexta semanas com declínio no período subsequente. Quanto à prevalência da infecção ativa por HHV-7 (Figura 6), observou-se uma tendência a maiores percentuais de amostras positivas entre a quinta e a oitava semanas de seguimento.

A estimativa da incidência acumulada da infecção por HHV-6 e HHV-7 ao longo do período de 12 semanas pelo qual se estendeu a vigilância para estas infecções, foi realizada pelo método de Kaplan-Meier e é apresentada, respectivamente, nas figuras 7 e 8. Observa-se que em ambos os casos a incidência de novos casos de infecção ativa cresce mais rapidamente entre as segunda e quinta semanas de pós-operatório. As estimativas de incidência acumulada de infecção por HHV-6 e HHV-7 ao final de 12 semanas foram idênticas para ambos os vírus, situando-se em 31% (IC 95%: 19%, 43%).

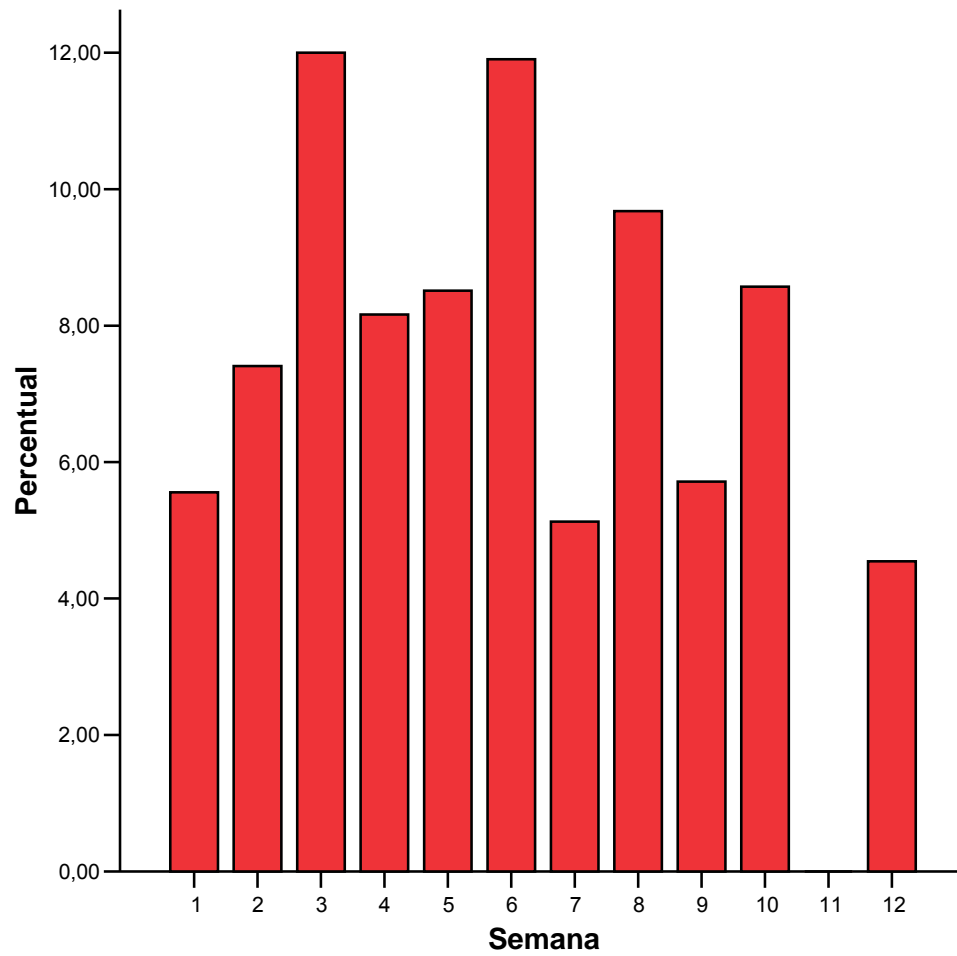


Figura 5 Prevalência de amostras positivas para o HHV-6 ao longo das primeiras 12 semanas após transplante renal.

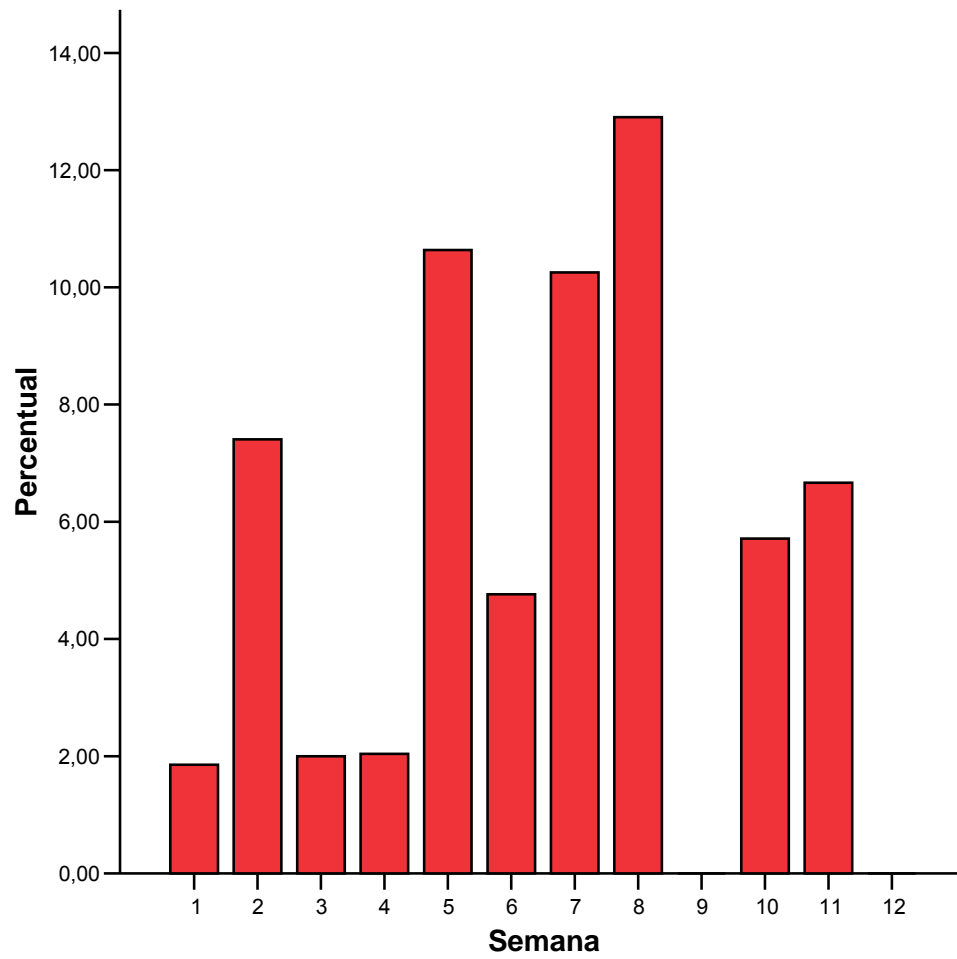


Figura 6 Prevalência de amostras positivas para o HHV-7 ao longo das primeiras 12 semanas após transplante renal.

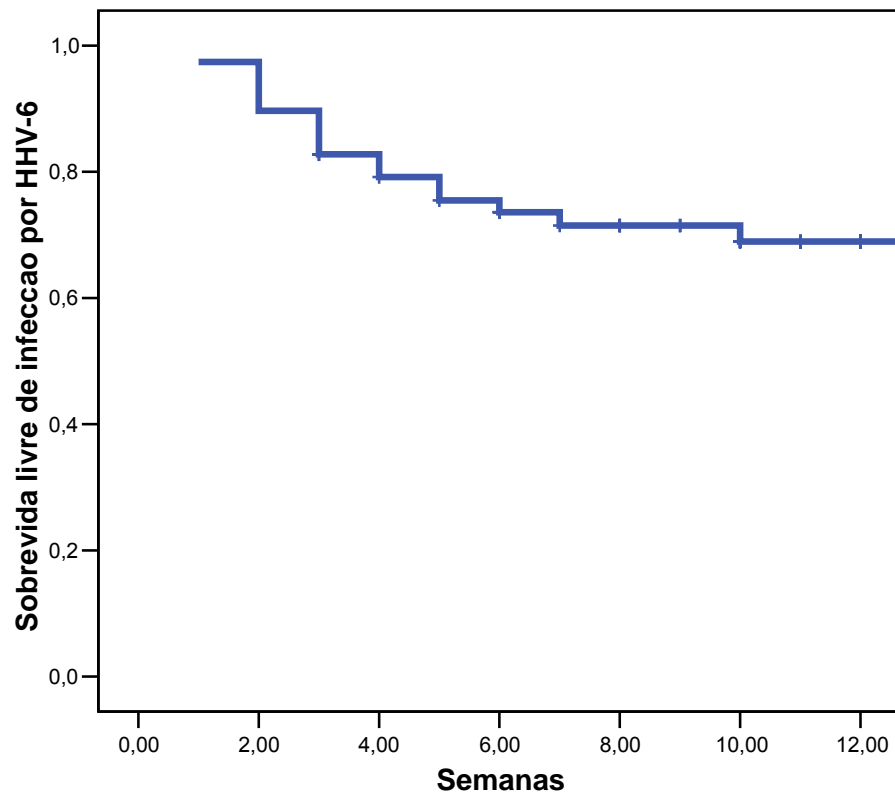


Figura 7 Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier ilustrando a incidência acumulada de infecção ativa por HHV-6 entre 58 receptores de transplante renal nas primeiras 12 semanas de pós-operatório. Os traços observados ao longo da linha indicam casos com censura de seguimento. A estimativa de incidência acumulada ao final do período estudado foi de 31% (IC 95%: 19%, 43%).

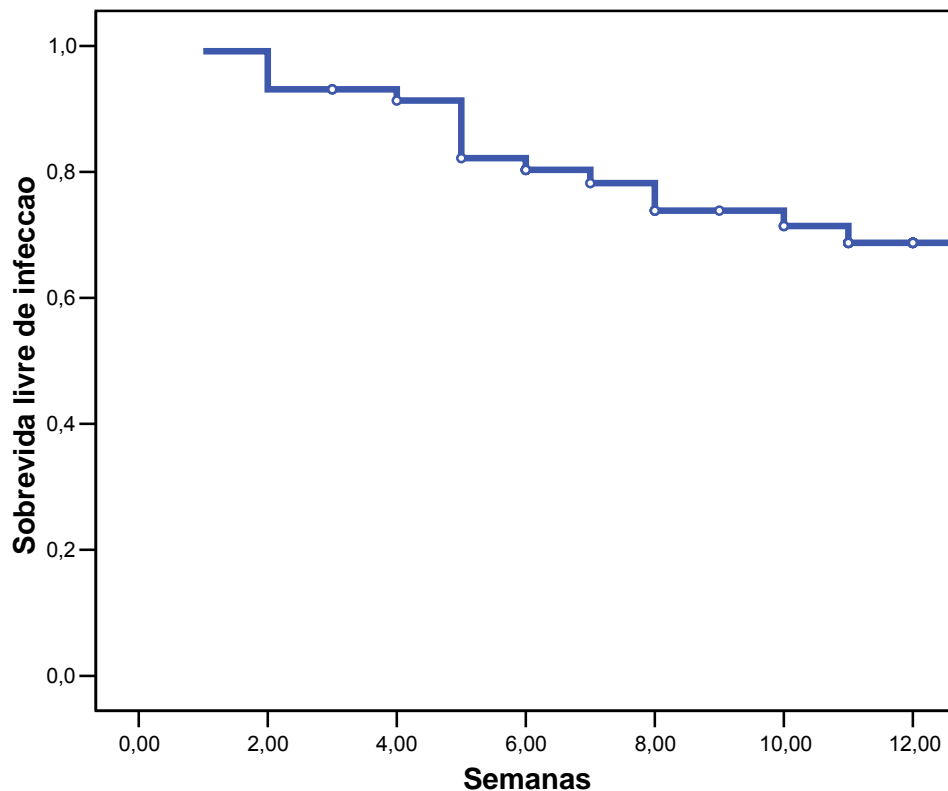


Figura 8 Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier ilustrando a incidência acumulada de infecção ativa por HHV-7 entre 58 receptores de transplante renal nas primeiras 12 semanas de pós-operatório. Os pontos brancos observados ao longo da linha indicam casos com censura de seguimento. A estimativa de incidência acumulada ao final do período estudado foi de 31% (IC 95%: 19%, 43%).

A tabela 3 apresenta os resultados das análises das relações entre as diferentes co-variáveis estudadas e a ocorrência de infecção ativa por HHV-6. Não houve em nenhum caso associação estatisticamente significativa. Todavia, algumas tendências observadas são dignas de nota. Os pacientes com infecção por HHV-6 tenderam a ser mais jovens ($p=0,07$) e a apresentar níveis mais baixos de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório que os demais indivíduos ($p=0,12$).

De forma semelhante, a tabela 4 expõe a análise das associações entre a ocorrência de infecção ativa pelo HHV-7 e as co-variáveis estudadas. Os indivíduos que desenvolveram esta infecção viral tenderam a ser mais jovens que os demais ($p=0,05$). Não foi observada qualquer associação estatisticamente significativa com

as demais co-variáveis. Ao contrário do observado com a infecção por HHV-6, os indivíduos com infecção por HHV-7 tenderam a apresentar níveis mais altos de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório ($p=0,19$).

Tabela 3 Relação entre as diferentes variáveis estudadas e a ocorrência de HHV-6 nas primeiras doze semanas após transplante renal

Variáveis	Infecção HHV-6				p
	Sim (n=17)		Não (n=41)		
	N	%	N	%	
Sexo masculino	7	41	22	54	0,39
Idade	34,4*	26; 48,9**	44,9*	36,1; 51,4**	0,07
Doador falecido	7	41	26	63	0,2
Linfócitos/mm ³	1.730	772-2373	1307	715-2905	0,81
Drogas no Esquema Imunossupressor Inicial					
Ciclosporina	8	47	13	42	0,27
Tacrolimus	10	59	26	63	0,74
Sirolimus	7	41	12	29	0,38
Micofenolato Mofetil	10	59	26	63	0,74
Esquema Triplo de Imunossupressão	14	82	33	89	0,49
Linfócitos CD4+ (%)	46	39; 50	46	40; 49	0,68
Linfócitos CD8+ (%)	24	22; 28	24	17; 29	0,27
Relação CD4/CD8	1,94	1,39; 2,22	2,0	1,53; 2,77	0,53
Nadir de Creatinina Sérica na Semana 1 (mg%)	1,4*	1,2; 10,4**	5,2*	1,6; 10,2**	0,12

* Mediana; ** Intervalo interquartil

Tabela 4 Relação entre as diferentes variáveis estudadas e a ocorrência de HHV-7 nas primeiras doze semanas após transplante renal.

Variáveis	Infecção HHV-7				p
	Sim (n=16)		Não (n=42)		
	n	%	N	%	
Sexo masculino	10	63	19	45	0,24
Idade	36,6*	27,5; 44,2**	46,3*	33,6; 52,2**	0,05
Doador falecido	9	56	24	57	0,95
Drogas no Esquema Imunossupressor Inicial					
Ciclosporina	5	31	18	43	0,42
Tacrolimus	9	56	27	64	0,57
Sirolimus	4	25	16	38	0,35
Micofenolato Mofetil	10	63	26	62	0,97
Esquema Triplo de Imunossupressão	12	86	35	88	0,86
Linfócitos CD4+ (%)	44*	39; 50**	47*	40; 50**	0,85
Linfócitos CD8+ (%)	25*	16; 33**	24*	21; 27**	0,71
Relação CD4/CD8	1,76*	1,25; 2,82**	1,98*	1,61; 2,25**	0,74
Nadir de Creatinina Sérica na Semana 1 (mg%)	4,6*	1,7; 11,2**	2,7*	1,3; 10,2**	0,19

* Mediana; ** Intervalo interquartil

5.2 Relação entre o a Detecção do DNA dos Herpesvírus Humanos 6 e 7 e a Ocorrência de Manifestações Clínicas e Laboratoriais.

Analisou-se a associação entre a ocorrência de manifestações clínicas potencialmente relacionadas às infecções virais estudadas, tais como febre, erupção cutânea, pneumonia e encefalopatia e a detecção do DNA viral nas 490 amostras de plasma estudadas.

Foram observados 15 episódios de febre de causa indeterminada (não atribuída a infecções documentadas ou a rejeição) nesta coorte de pacientes. Dois destes episódios (13%) apresentaram relação temporal com a detecção do DNA de um dos vírus estudados. Num dos casos, o episódio febril ocorreu na segunda semana de pós-operatório, quando foi detectada a presença de infecção ativa por HHV-6. O outro episódio foi observado na terceira semana de pós-operatório, quando houve detecção de HHV-7 no plasma.

Não foram observadas erupções cutâneas potencialmente associadas a infecções virais na coorte estudada.

Cinco pacientes apresentaram quadro de febre e infiltrado pulmonar sem causa definida. Em nenhum destes casos, houve associação temporal entre as manifestações clínicas e a detecção de HHV-6 ou HHV-7 no plasma.

Foram observadas manifestações de acometimento do sistema nervoso central em 3 pacientes durante os primeiros seis meses de estudo. Um paciente apresentou encefalite atribuída à infecção por CMV no 5º mês de seguimento. Neste paciente, detectou-se no líquido cefalorraquidiano a presença do DNA do citomegalovírus, mas não de HHV-6 e HHV-7. Nenhuma das amostras de plasma coletadas deste paciente ao longo das primeiras doze semanas de seguimento fora

positiva para estes dois vírus. Uma paciente apresentou convulsão na 13ª semana de seguimento após a detecção de HHV-6 no plasma na semana anterior. Um paciente apresentou manifestações de encefalopatia na primeira semana, quando não foi coletada amostra de sangue para PCR. As amostras de plasma coletadas nas duas semanas seguintes, quando o paciente já apresentara melhora clínica das manifestações de encefalopatia, mostraram a presença de DNA do HHV-7.

Tabela 5 Relação entre diferentes parâmetros laboratoriais e a ocorrência de HHV-6 e HHV-7 Nas primeiras doze semanas após transplante renal

Variáveis	HHV-6		HHV-7	
	Sim (n=17)	Não (n=41)	Sim (n=16)	Não (n=42)
Leucopenia (<4.000 células mm^3)	4 (24%)	10 (24%)	3 (19%)	11 (26%)
Plaquetopenia (<150.000)	9 (53%)	27 (66%)	9 (56%)	27 (64%)
Nível plasmático de Aminotransferases ($>2X$)	3 (18%)	11 (27%)	2 (13%)	8 (19%)

A presença de leucopenia, definida por contagem global de leucócitos menor que 4.000 células/ mm^3 , foi observada em 14 (24%) dos 58 pacientes analisados, ao longo das 12 semanas em que se realizou a vigilância para infecções virais. Essa alteração laboratorial foi encontrada em 4 (24%) dos 17 pacientes que apresentaram infecção ativa por HHV-6 e em 10 (24%) entre os demais 41 pacientes ($p=0,94$). Da mesma forma, não foi observada diferença significativa na proporção de pacientes que desenvolveu leucopenia entre os 16 indivíduos que desenvolveram infecção por HHV-7 (3 casos, 19%) e os demais 42 pacientes (11 casos, 26%, $p=0,55$).

Observou-se a presença de plaquetopenia, definida por contagem de plaquetas inferior a $150.000/\text{mm}^3$, em 36 (62%) dos pacientes. Nove (53%) entre os pacientes que desenvolveram infecção ativa por HHV-6 desenvolveram plaquetopenia em comparação com 27 (66%) dos demais indivíduos ($p=0,36$). Entre os pacientes que apresentaram infecção ativa por HHV-7, a proporção de casos em que se observou essa complicação (9 indivíduos, 56%) não foi significativamente diferente da observada entre os demais pacientes (27 casos, 64%, $p=0,57$).

Finalmente, comparou-se a frequência de elevações do nível plasmático de aminotransferases, duas vezes maiores que o limite superior da normalidade entre os pacientes com e sem infecção ativa por HHV-6 e HHV-7. Foram verificadas elevações de tal magnitude de alanina aminotransferase em 3 (18%) dos indivíduos que desenvolveram infecção ativa por HHV-6 e em 11 (27%) dos pacientes que não apresentaram esta infecção ($p=0,46$). Não foi visto elevação significativa da aspartato aminotransferase (AST) em qualquer dos pacientes que desenvolveu infecção ativa por HHV-6. Entre os pacientes que desenvolveram infecção ativa por HHV-7, 2 (13%) apresentaram elevação significativa de AST, proporção que não foi significativamente diferente do que foi visto entre indivíduos sem infecção ativa por este vírus (8 casos, 19%, $p=0,56$).

5.3 Relação entre as Infecções por Herpesvírus Humanos 6 e 7 e Ocorrência de Possíveis Efeitos Indiretos

Foi analisada neste tópico a possível relação entre as infecções estudadas e a ocorrência subsequente de infecções por outros microorganismos ou de rejeição aguda ao enxerto.

Foram observados, dentro dos primeiros 6 meses de pós-operatório, 34 episódios de infecção bacteriana microbiologicamente documentada, tendo-se detectado infecção primária ou secundária de corrente sanguínea em metade destes episódios. Estas infecções bacterianas acometeram 19 (33%) dos pacientes estudados. Não houve nenhum caso de infecção fúngica invasiva durante o estudo.

A tabela 6 apresenta os resultados da análise univariada que empregou o método de Cox para enfocar a relação entre as variáveis analisadas e o risco de desenvolvimento de infecções bacterianas microbiologicamente documentadas. Indivíduos mais idosos ($p=0,007$), que receberam ciclosporina ($p=0,02$) ou sirolimus ($p=0,04$) no seu esquema inicial de imunossupressão apresentaram risco significativamente maior de ocorrência de infecções bacterianas. Níveis maiores de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório também estiveram associados a maior risco destas complicações ($p=0,02$). Observou-se, também, tendência não significativa à elevação da estimativa de risco de infecções bacterianas subsequentes em receptores de enxerto de doador falecido ($HR=2,54$; $p=0,07$) e nos indivíduos que desenvolveram infecção ativa por HHV-6 ($HR=2,45$; $p=0,14$).

Os resultados da análise multivariada utilizando modelo de regressão, multivariada de Cox, mostraram um aumento do risco de infecções bacterianas subsequentemente à detecção deste vírus no plasma que se aproximou da significância estatística ($HR= 3,24$, $p=0,07$, tabela 7). Um modelo de regressão multivariada semelhante, utilizando infecção por HHV-7 como principal variável tempo-dependente não mostrou associação entre a infecção viral e uma elevação do risco de ocorrência de infecções bacterianas ($HR: 0,97$, $p=0,97$, Tabela 8).

A tabela 9 apresenta os resultados da análise univariada enfocando a

relação entre as variáveis analisadas e o risco de rejeição aguda ao enxerto.

Tabela 6 Relação entre as diferentes variáveis analisadas e o risco de infecções bacterianas. Resultados das análises univariadas de Cox

Variável	<i>Hazard ratio</i>	Intervalo de Confiança de 95%	P
HHV-6*	2,45	0,74; 8,09	0,14
HHV-7*	0,87	0,17; 4,44	0,87
Sexo	0,63	0,25; 1,56	0,31
Idade (cada 10 anos)	1,94	1,19; 3,16	0,007
Doador Falecido	2,54	0,91; 7,07	0,07
Drogas no Esquema Imunossupressor Inicial			
Ciclosporina	2,91	1,18; 7,17	0,02
Tacrolimus	0,43	0,28; 1,71	0,43
Sirolimus	2,57	1,05; 6,34	0,04
Micofenolato Mofetil	0,62	0,25; 1,54	0,31
Linfócitos CD4+ (%)	0,96	0,91; 1,02	0,19
Linfócitos CD8+ (%)	1,01	0,95; 1,08	0,71
Relação CD4/CD8	0,96	0,58; 1,59	0,88
Rejeição aguda	0,44	0,1; 1,93	0,28
Nadir de Creatinina Sérica na Semana 1 (mg%)	1,13	1,02; 1,25	0,02

* Variável tempo-dependente

Tabela 7 Associação entre a ocorrência de infecção ativa HHV-6 e o risco de infecções bacterianas após transplante renal. Resultados da análise multivariada de Cox

Variável	Hazard ratio	Intervalo de Confiança de 95%	p
HHV-6 *	3,24	0,89; 11,87	0,07
Idade (cada 10 anos)	1,73	1,14; 2,64	0,01
Nadir de Creatinina Sérica na Semana 1 (mg)	1,23	1,08; 1,41	0,002
Ciclosporina	6,49	2,08; 20,3	0,001

* variável tempo-dependente

Tabela 8 Associação entre a ocorrência de infecção ativa HHV-7 e o risco de infecções bacterianas após transplante renal. Resultados da análise multivariada de Cox

Variável	Hazard ratio	Intervalo de Confiança de 95%	p
HHV-7 *	0,97	0,17; 5,49	0,97
Idade (cada 10 anos)	1,68	1,10; 2,57	0,02
Nadir da Creatinina Sérica na Semana 1 (mg)	1,23	1,07; 1,41	0,003
Ciclosporina	6,71	2,14; 21,04	0,001

* variável tempo-dependente

Tabela 9 Relação entre as diferentes variáveis analisadas e o risco de rejeição aguda. Resultados das análises univariadas de Cox

Variável	Hazard ratio	Intervalo de Confiança de 95%	p
HHV-6*	0,41	0,05; 3,32	0,40
HHV-7*	0,65	0,08; 5,32	0,68
Sexo	1,03	0,36; 2,95	0,95
Idade (cada 10 anos)	0,92	0,58; 1,45	0,71
Doador Falecido	1,50	0,50; 4,47	0,47
Drogas no Esquema Imunossupressor Inicial			
Ciclosporina	0,4	0,09; 1,77	0,23
Tacrolimus	4,57	1,02; 20,4	0,047
Sirolimus	2,05	0,79; 5,90	0,19
Micofenolato Mofetil	0,77	0,27; 2,21	0,62
Linfócitos CD4+ (%)	0,95	0,94; 1,07	0,95
Linfócitos CD8+ (%)	0,98	0,91; 1,06	0,65
Relação CD4/CD8	0,89	0,49; 1,63	0,71
Nadir de Creatinina Sérica na Semana 1 (mg%)	1,10	0,98; 1,24	0,11

* Variável tempo-dependente

Presenciou-se associação estatisticamente significativa entre o uso de tacrolimus no esquema imunossupressor inicial e o risco de rejeição ($p=0,045$). Níveis mais altos de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório tenderam a associar-se a maior probabilidade desta complicação ($p=0,11$).

A tabela 10 expõe as estimativas da associação entre as infecções por HHV-

6 e HHV-7 em um modelo multivariado ajustado pelo uso de tacrolimus no esquema imunossupressor inicial. No modelo que incluiu HHV-6 como principal variável explanatória, observou-se que o risco estimado de rejeição (hazard ratio) foi de 0,36, com intervalo de confiança de 95% de 0,05 a 2,88 (p=0,34). No modelo que inclui HHV-7 como principal variável explanatória, os resultados foram semelhantes (HR: 0,75, IC95%: 0,09 a 6,52, p=0,80).

Durante o período de seguimento clínico de 6 meses após transplante, foram diagnosticados 3 casos confirmados de doença por citomegalovírus (5%). Em função do pequeno número de pacientes estudados, não foi possível analisar a possível interação entre as infecções por HHV-6 ou HHV-7 e o desenvolvimento de doença por citomegalovírus.

Tabela 10 Resultados de análises multivariadas de Cox, enfocando a associação entre HHV-6 e HHV-7 e o risco de rejeição aguda em modelos separados

Variável	<i>Hazard ratio</i>	Intervalo de Confiança de 95%	p
Modelo 1			
HHV-6 *	0,36	0,05; 2,88	0,34
Esquema Inicial contendo Tacrolimus	4,90	1,09; 21,94	0,04
Modelo 2			
HHV-7 *	0,75	0,09; 6,52	0,80
Esquema Inicial contendo Tacrolimus	4,64	1,04; 20,77	0,045

* variável tempo-dependente

5.4 Relação entre as Infecções por Herpesvírus Humanos 6 e 7 e as Sobrevidas de Paciente e de Enxerto

Durante o período de 180 dias após o transplante houve 6 óbitos (10%). Entre os pacientes com infecção pelo HHV-6 ocorreram dois óbitos (10%), proporção igual a observada entre os pacientes sem infecção por este vírus (4 casos, $p=0,82$). O mesmo número de óbitos (2 casos, 10%) foi observado entre os indivíduos com infecção pelo HHV-7 ($p=0,82$).

Apenas 2 pacientes apresentaram perda do enxerto nos primeiros seis meses após o transplante. Nenhum desses pacientes apresentou infecção por HHV-6 ou HHV-7. A proporção de pacientes que ao final de 6 meses apresentava creatinina maior ou igual a 2,0 mg% não foi significativamente diferente entre os pacientes com infecção por HHV-6 (6 casos, 35%) e os demais (21 casos, 51%, $p=0,27$). Também não houve diferença significativa em relação a esta variável entre os pacientes com infecção por HHV-7 (7 casos, 44%) em comparação com os indivíduos sem esta infecção viral (20 casos, 48%, $p=0,79$).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo é, até onde sabemos, o primeiro conduzido em um centro nacional a analisar a incidência e as repercussões clínicas das infecções por HHV-6 e HHV-7 em uma população de receptores de transplante renal. Tendo em vista, ainda, o número relativamente restrito de outros estudos disponíveis na literatura, especificamente voltados para esta modalidade de transplante de órgãos e que usaram métodos moleculares para o diagnóstico da infecção viral (Osman *et al.*, 1996; Brennan *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Rayes *et al.*, 2005; Anton *et al.*, 2008; Chapenko *et al.*, 2009), acreditamos que os resultados aqui relatados tragam uma contribuição para o melhor conhecimento de sua epidemiologia e do seu impacto sobre o prognóstico dos receptores de transplante renal, dados que, no futuro, poderão auxiliar na definição da necessidade de monitoração e tratamento de tais infecções nesta população.

A inclusão de 58 pacientes neste estudo fez com que seu tamanho amostral fosse comparável ao dos principais estudos sobre este tópico já conduzidos em receptores de transplante de rim (Yoshikawa *et al.*, 1992; Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000). Como nos demais estudos, o período de monitoração da infecção por HHV-6 e HHV-7 restringiu-se aos primeiros meses de pós-operatório do transplante, período em que parece ser maior a incidência destas infecções. Assim, nas primeiras 12 semanas após o transplante renal, a incidência acumulada de viremia por HHV-6 e por HHV-7 foi, respectivamente, de 29% e 28%. Tais incidências são similares às observadas em outros estudos, conduzidos em receptores de transplante renal que vai de 19% a 55% para HHV-6 (Morris *et al.*,

1989; Okuno *et al.*, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1992; Osman *et al.*, 1996; Tong *et al.*, 2000; Deborska *et al.*, 2003) e de 1% a 46% para a infecção por HHV-7 (Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2002; Rayes *et al.*, 2005). Esta ampla variação entre os estudos quanto à incidência destas infecções pode estar associada a características epidemiológicas das populações estudadas tais como a prevalência de infecção latente anterior ao transplante e o regime de imunossupressão utilizado, mas é provável que ela seja majoritariamente decorrente de diferenças na metodologia diagnóstica empregada para a detecção da infecção viral ativa e da dificuldade para a padronização de diferentes métodos diagnósticos.

Parte dos estudos, especialmente os mais antigos, utilizava a soroconversão primária ou secundária para caracterizar infecção ativa (Okuno *et al.*, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1992; Deborska *et al.*, 2003), método com menor especificidade para o diagnóstico de replicação viral ativa. O isolamento em cultivo também foi utilizado em combinação com a sorologia no estudo de Yoshikawa e colaboradores (Yoshikawa *et al.*, 1992). Todavia, o isolamento apresenta baixa sensibilidade para detecção da infecção viral ativa. Mais recentemente, a tendência é pela utilização de PCR para a detecção de ácidos nucléicos dos vírus (Osman *et al.*, 1996; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Rayes *et al.*, 2005), que proporcionam melhor sensibilidade e especificidade para a detecção da infecção viral ativa. Todavia, o desempenho diagnóstico da PCR pode variar neste caso, em função do tipo de ensaio e do espécime (celular ou acelular) empregados. Além disso, a falta de padronização destes testes pode produzir resultados díspares, mesmo quando ensaios com características semelhantes são utilizados em diferentes laboratórios.

Neste estudo, o diagnóstico de infecção ativa por HHV-6 ou HHV-7 baseou-se nos resultados de ensaio qualitativo de PCR aninhado em plasma. A utilização

dos resultados obtidos no plasma como critério diagnóstico, reduz a possibilidade de detecção de infecção latente que pode estar presente nas células mononucleares de sangue periférico, o que elevaria falsamente a incidência de infecção ativa (Blackwell, 2004).

A escolha do ensaio de PCR aninhado baseou-se em alguns fatores: a simplicidade de sua interpretação, baseada no aparecimento ou não de bandas; seu custo acessível (importante quando se considera a possível implantação do método para diagnóstico em uma instituição pública), e o aumento de sensibilidade decorrente da amplificação de uma região interna da 1ª sequência amplificada. A importante diferença entre os resultados do presente estudo e as incidências muito inferiores relatadas por Rayes e colaboradores (Rayes *et al.*, 2005), utilizando PCR convencional qualitativo também em plasma (1% para HHV-6 e 6% para HHV-7), estão de acordo com a hipótese de que o ensaio aninhado proporcione maior sensibilidade para a detecção da infecção viral.

Há poucos dados na literatura a respeito dos fatores que podem influir na incidência de infecção viral ativa por HHV-6 ou HHV-7 em receptores de transplantes de órgãos. No caso da infecção por HHV-6, algumas análises sugerem que a ocorrência de rejeição aguda e o tratamento com altas doses de corticosteróides possam desencadear a sua reativação (Singh *et al.*, 1995; Lautenschlager *et al.*, 1998). Observações realizadas em uma série de pacientes com insuficiência hepática aguda indicam que a presença de replicação viral pré-transplante aumente a chance de hepatite por HHV-6 após o transplante hepático. (Harma *et al.*, 2006a). Entre os receptores de transplante renal aqui estudados, verificou-se uma tendência à ocorrência mais frequente de infecção por HHV-6 ($p=0,07$) e HHV-7 ($p=0,05$) em indivíduos mais jovens. Esta associação foi também

relatada por Zerr e colaboradores (Zerr *et al.*, 2005a) ao estudar os fatores associados à reativação da infecção por HHV-6 em uma população de 110 receptores de transplante alogeneico de medula óssea. É possível que, entre nossos pacientes, o efeito da idade sobre o risco de infecção ativa por HHV-6 e HHV-7 seja em parte decorrente da menor soroprevalência de anticorpos para estes vírus em indivíduos mais jovens, entre os quais haveria, assim, maior propensão a desenvolvimento de viremia por infecção primária após o transplante. O fato de não haver sido realizada a pesquisa pré-operatória de anticorpos para HHV-6 e HHV-7 entre os receptores de transplante torna impossível analisar se esta hipótese realmente explica a tendência observada.

Uma característica particular deste estudo foi a frequência relativamente alta de uso do sirolimus entre os pacientes participantes, fato que permitiu analisar a possível relação entre o uso desta droga e a incidência das infecções virais estudadas. É reconhecido na literatura o efeito supressivo do sirolimus sobre a replicação do citomegalovírus (Ponticelli, 2004). Este fato traduz-se em uma menor incidência de citomegalovirose entre os indivíduos tratados com esta droga (Webster *et al.*, 2006). Além disso, há evidências de efeito sinérgico entre o sirolimus e o ganciclovir no tratamento de receptores de transplante com infecção ativa por cepas de citomegalovírus com mutação de resistência para o ganciclovir (Ozaki *et al.*, 2007). Dado o alto grau de homologia genômica entre o citomegalovírus e os demais beta-herpesvirus, seria concebível aventar-se a possibilidade de um semelhante efeito supressivo para as infecções por HHV-6 e HHV-7. Os resultados deste estudo, entretanto, não dão suporte a esta hipótese. Deborska e colaboradores (Deborska *et al.*, 2003), em estudo prospectivo, sugeriram que o uso de sirolimus poderia estar associado a maior incidência da infecção ativa por HHV-6. Todavia, o diagnóstico de

infecção viral nesse estudo foi baseado no achado de soroconversão primária ou secundária para HHV-6, método cuja sensibilidade e especificidade são inferiores às do teste diagnóstico empregado no presente estudo.

A ocorrência de manifestações clínicas potencialmente atribuíveis a HHV-6 ou HHV-7 foi pouco frequente. Em apenas dois casos, presenciou-se a ocorrência de febre sem qualquer outra causa conhecida que coincidiu com a presença de viremia por HHV-6, em um caso, e HHV-7, no outro. Um paciente apresentou convulsão na semana seguinte à detecção de HHV-6 no plasma. Em outro caso, observou-se alteração de nível de consciência sem causa determinada na primeira semana de pós-operatório. Infelizmente, neste caso, a coleta de amostras de sangue para pesquisa das infecções virais estudadas iniciou-se apenas na semana seguinte, quando ficou evidente a presença de viremia por HHV-7. Nestes dois casos, não houve coleta de líquido para análise diagnóstica e comprovação da infecção viral em sistema nervoso central, o que torna ainda mais especulativa a atribuição de associação causal entre as manifestações neurológicas e as infecções virais detectadas nas amostras de sangue. Não foram observados pneumonite ou erupção cutânea temporalmente associados à detecção de viremia. Também não foram observadas diferenças significantes de alterações nas contagens de leucócitos e plaquetas ou na dosagem de aminotransferases entre os pacientes com infecção por HHV-6 ou HHV-7 e os demais pacientes. Essa paucidade de manifestações clínicas e laboratoriais contrasta com os achados de alguns poucos estudos conduzidos em receptores de transplante hepático que sugeriam maior frequência de quadros febris (Chang *et al.*, 1998) e de encefalopatia (Rogers *et al.*, 2000) em associação com a infecção por HHV-6. Todavia, nossos resultados são concordantes com os relatados na maior parte dos estudos de coorte realizados em

receptores de transplantes de órgãos sólidos e, particularmente, naqueles conduzidos especificamente em receptores de transplante renal (Okuno *et al.*, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1992; Osman *et al.*, 1996; Brennan *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Rayes *et al.*, 2005; Anton *et al.*, 2008).

Este estudo também procurou abordar a incidência de possíveis efeitos indiretos das infecções por HHV-6 e HHV-7 sobre a morbidade dos receptores de transplante renal. Como já mencionado na introdução deste trabalho, um considerável número de estudos realizados em receptores de transplantes de órgãos sólidos indicam a existência de interação entre as infecções por HHV-6, HHV-7 e por CMV (Dockrell *et al.*, 1997; Humar *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Mendez *et al.*, 2001; Lautenschlager *et al.*, 2002b; Razonable *et al.*, 2003; Harma *et al.*, 2006b; Lehto *et al.*, 2007). Em três coortes de transplante renal, houve maior incidência de manifestações clínicas de citomegalovirose nos casos com viremia por HHV-7 (Osman *et al.*, 1996; Chapenko *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000). No presente estudo, a incidência acumulada de doença por CMV foi de apenas 5%, fato que impossibilitou a análise da possível associação entre esta complicação e as infecções pelos outros beta-herpesvírus aqui analisados. A baixa incidência observada de doença por CMV pode estar relacionada a fatores como: a baixa prevalência, em nosso centro, de receptores soronegativos para CMV, situação em que o risco de doença por CMV no pós-operatório é elevada, e o uso frequente de sirolimus no esquema de imunossupressão, já que esta droga está associada a menor incidência de citomegalovirose no pós-operatório (Webster *et al.*, 2006). Outra importante limitação do presente estudo é a falta de dados de monitoração de ocorrência de viremia, mesmo assintomática, por CMV entre os pacientes estudados, pois alguns estudos que apontaram a possibilidade de

interação entre as infecções por CMV e outros beta-herpesvírus, basearam suas conclusões na correlação dos resultados dos testes de monitoração de replicação viral em pacientes com ou sem manifestações clínicas de infecção (Tong *et al.*, 2000; Lautenschlager *et al.*, 2002b; Lehto *et al.*, 2007). Na verdade, faz parte do projeto original deste estudo a avaliação semanal da ocorrência de viremia por CMV. Todavia, restrições de ordem material e técnica retardaram a realização da pesquisa de viremia para CMV, baseada em técnica quantitativa de PCR, nas amostras de sangue coletadas semanalmente. Os seus resultados, que no momento de redação deste texto eram apenas parcialmente disponíveis, não puderam ser incluídos nas análises desta dissertação.

Em dois estudos, conduzidos em receptores de transplante hepático, observou-se um aumento da incidência de infecções fúngicas invasivas em indivíduos que haviam apresentado viremia por HHV-6 (Dockrell *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 2000). Todavia, esta complicação não foi diagnosticada em nenhum paciente neste estudo. De fato, em contraste com o que se observa no transplante de fígado, é usualmente baixa a incidência de infecção fúngica invasiva após o transplante renal (Snydman, 2001). Por este motivo, em nenhum estudo conduzido em receptores de transplante renal até o presente momento, foi possível avaliar a influência das infecções por HHV-6 e HHV-7 sobre a incidência de infecções fúngicas invasivas.

Por outro lado, neste estudo, observou-se uma tendência a maior risco de infecções bacterianas nos indivíduos que apresentaram viremia por HHV-6, traduzida na análise univariada pelo método de Cox por um *hazard ratio* igual a 2,45 ($p=0,14$). Outros fatores que se associaram a maior risco de infecções bacterianas na análise univariada foram a idade mais elevada ($p=0,007$), o uso de esquemas

imunossupressores contendo ciclosporina ($p=0,02$) ou sirolimus ($p=0,04$) e o nadir de creatinina sérica na primeira semana ($p=0,02$). Ter recebido enxerto de doador falecido também tendeu a ser associado a um maior risco de infecção bacteriana ($p=0,07$). Interessantemente, pacientes que apresentaram infecção por HHV-6 neste estudo tenderam a ser mais jovens ($p=0,07$). Além disso, tinham valor de mediana de nadir de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório bem inferior ao observado nos pacientes que não desenvolveram viremia, conquanto a diferença não tenha alcançado significância estatística ($p=0,12$).

Tais fatos poderiam indicar a possibilidade de que a associação entre infecção por HHV-6 e infecção bacteriana estivesse subestimada por confundimento negativo. De fato, na análise multivariada ajustada por idade, nadir de creatinina sérica, além de uso de ciclosporina, a associação entre a viremia por HHV-6 e a ocorrência subsequente de infecção bacteriana aproximou-se do nível de significância estatística ($p=0,07$) com elevação do *hazard ratio* para 3,24. Estes resultados claramente não são suficientes para estabelecer uma relação causal entre a infecção por HHV-6 e o posterior desenvolvimento de infecções bacterianas, porém justificam a realização de estudos com maior amostragem a fim de analisar esta hipótese, até o momento não abordada em qualquer outro estudo que tenha investigado o impacto das infecções por HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplante renal (Okuno *et al.*, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1992; Osman *et al.*, 1996; DesJardin *et al.*, 1998; Brennan *et al.*, 2000; Kidd *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2000; Deborska *et al.*, 2003; Rayes *et al.*, 2005; Chapenko *et al.*, 2009).

No maior estudo realizado em receptores de transplantes de órgãos, Humar e colaboradores (Humar *et al.*, 2002) ao estudarem 200 indivíduos nas 12 primeiras semanas após transplante hepático evidenciaram incidência semelhante de

bacteremia entre os pacientes com infecção pelo HHV-6 (17,9%) e os sem demais (20,1%). É provável que a explicação para a diferença entre os resultados do presente estudo e o de Humar e colaboradores se prenda à metodologia utilizada para a análise estatística. Os resultados apresentados nesta dissertação foram obtidos com o emprego de modelos de regressão de Cox em que a infecção por HHV-6 foi modelada como variável tempo-dependente, o que quer dizer que infecções bacterianas ocorridas nas primeiras semanas de pós-operatório, e que antecederam a detecção da viremia por HHV-6, foram classificadas, corretamente, como não associadas à infecção por HHV-6. É provável que esta abordagem tenha reduzido a influência sobre os resultados das infecções diretamente associadas ao procedimento cirúrgico, incluindo-se aí aquelas relacionadas aos dispositivos invasivos instalados em função da própria cirurgia (cateter vesical e acesso venoso, por exemplo). Isto pode ter facilitado a detecção de um aumento na incidência de infecções bacterianas decorrente da acentuação do comprometimento imunológico ocasionado pela infecção por HHV-6. Por outro lado, como não se dispõe dos resultados da monitoração da viremia por CMV nestes indivíduos, não podemos excluir a possibilidade de que a tendência observada esteja, na realidade, relacionada à infecção por este outro beta-herpesvírus.

A associação significativa entre o uso de esquemas contendo ciclosporina e o maior risco de infecções bacterianas não foi descrita em ensaios clínicos que compararam a efetividade e a tolerabilidade de esquemas imunossupressores que incluíam ciclosporina ou tacrolimus (Schleibner *et al.*, 1995; Morris-Stiff *et al.*, 1998; Abou-Jaoude *et al.*, 2003; Murphy *et al.*, 2003; Kramer *et al.*, 2005). Todavia, ela foi detectada em outros dois estudos observacionais realizados neste mesmo centro. No primeiro deles (Almeida, 2004), observou-se uma menor incidência de infecções

do trato urinário em pacientes tratados com tacrolimus em comparação com os que usavam ciclosporina. Num estudo subsequente (Martins *et al.*, 2006), realizado durante um surto de infecções por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de beta-lactamases de espectro estendido, observou-se que receptores de transplante renal tratados com ciclosporina apresentaram maior risco de infecção por estes patógenos. Os dados destes estudos não permitem estabelecer a justificativa para a associação observada. Os resultados de um estudo *in vitro* sugerem que a ciclosporina aumente a adesividade de *Escherichia coli* mediada por fímbria P (Szkaradkiewicz e Wal, 2001), fato que poderia justificar em parte a associação detectada neste estudo e no de Almeida (Almeida, 2004), tendo em vista a importância de *E. coli* como agente etiológico de infecções bacterianas em receptores de transplante renal.

Não se verificou, neste estudo, associação significativa entre a ocorrência de viremia por HHV-6 ou HHV-7 e o subsequente desenvolvimento de rejeição aguda. Todavia, é preciso reconhecer a existência de importante limitação em relação ao diagnóstico de rejeição, em sua maioria estabelecido em bases clínicas, sem confirmação histopatológica. O fato de que o uso de esquemas contendo tacrolimus tenha sido a única variável significativamente associada a maior risco de rejeição sugere fortemente que tenha ocorrido viés no estabelecimento do diagnóstico de rejeição entre os pacientes analisados. É possível aventar-se que parte dos casos em que a disfunção do enxerto renal foi atribuída à rejeição aguda tivesse, na verdade, sido causada por outros fatores, tais como toxicidade medicamentosa.

Em suma, o presente estudo, o primeiro, até onde sabemos, a abordar a incidência de infecções por HHV-6 e HHV-7 em receptores de transplante renal em nosso meio, demonstrou a presença de elevada incidência de viremia por estes

patógenos nos primeiros três meses após o transplante renal. O único fator que tendeu a associar-se a maior frequência destas infecções virais foi a idade mais jovem. O uso de sirolimus não influenciou a incidência de viremia por HHV-6 e HHV-7. A baixa frequência observada de manifestações clínicas diretamente associadas a estas infecções virais corrobora os achados da maioria dos estudos conduzidos em receptores de transplantes de órgãos. Não foi possível demonstrar, neste estudo, associação entre as infecções por HHV-6 e HHV-7 e o subsequente desenvolvimento de citomegalovirose ou de rejeição celular aguda. Todavia, estes resultados negativos podem decorrer de limitações metodológicas deste estudo mencionadas ao longo da discussão. Por outro lado, a tendência a maior incidência de infecção bacteriana em pacientes que haviam apresentado viremia por HHV-6 está de acordo com a hipótese que esta infecção viral exerça um efeito imunomodulador e justifica a realização de novos estudos com amostragem especificamente dimensionada para a avaliação deste possível efeito indireto da infecção por HHV-6.

7 CONCLUSÕES

Nesta coorte de receptores de transplante renal, elevada foi a incidência de infecção ativa por HHV-6 (29%) e HHV-7 (28%). As incidências observadas encontram-se dentro da faixa descrita em outros centros.

A ocorrência de manifestações clínicas potencialmente atribuíveis às infecções estudadas foi infrequente, restringindo-se a dois casos com febre sem outra origem aparente e dois casos com manifestações de acometimento do sistema nervoso central. Em nenhum destes casos, porém, foi possível afastar outras causas para as manifestações clínicas encontradas.

Houve uma tendência a que tanto a infecção por HHV-6 ($p=0,07$) quanto por HHV-7 ($p=0,05$) ocorressem em pacientes mais jovens. Não foi observada associação significativa entre a incidência destas infecções virais e quaisquer dos demais fatores estudados.

Houve uma tendência a associação entre a infecção por HHV-6 e o desenvolvimento de infecção bacteriana microbiologicamente documentada (*hazard ratio*=3,24, $p=0,07$) na análise ajustada por outros possíveis confundidores. Outras variáveis significativamente associadas à elevação do risco de infecções bacterianas nesta análise foram: a idade mais avançada, níveis mais altos de creatinina sérica na primeira semana de pós-operatório e o uso de ciclosporina. Não houve associação entre a ocorrência de infecção por HHV-7 e o risco de infecções bacterianas subsequentes.

Não houve associação entre as infecções virais estudadas e a ocorrência de rejeição aguda nos primeiros seis meses após o transplante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel Massih RC, Razonable RR. Human herpesvirus 6 infections after liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2009 Jun 7; 15(21):2561-2569.
- Abou-Jaoude MM, Ghantous I, Almawi WY. Tacrolimus (FK506) versus cyclosporin A microemulsion (Neoral) maintenance immunosuppression: effects on graft survival and function, infection, and metabolic profile following kidney transplantation (KT). *Mol Immunol*. 2003 Jul; 39(17-18):1095-1100.
- Almeida MMTB. Infecção do trato urinário em receptores de transplante renal [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias); 2004.
- Anton A, Cervera C, Pumarola T, Moreno A, Benito N, Linares L, *et al*. Human herpesvirus 7 primary infection in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2008 Jan 27; 85(2):298-302.
- Appleton AL, Sviland L, Peiris JS, Taylor CE, Wilkes J, Green MA, *et al*. Human herpes virus-6 infection in marrow graft recipients: role in pathogenesis of graft-versus-host disease. Newcastle upon Tyne Bone Marrow Transport Group. *Bone Marrow Transplant*. 1995 Dec; 16(6):777-782.
- Asano Y, Yoshikawa T, Suga S, Kobayashi I, Nakashima T, Yazaki T, *et al*. Clinical features of infants with primary human herpesvirus 6 infection (exanthem subitum, roseola infantum). *Pediatrics*. 1994 Jan; 93(1):104-108.
- Asano Y, Yoshikawa T, Suga S, Nakashima T, Yazaki T, Fukuda M, *et al*. Reactivation of herpesvirus type 6 in children receiving bone marrow transplants for leukemia. *N Engl J Med*. 1991 Feb 28; 324(9):634-635.
- Atedzoe BN, Ahmad A, Menezes J. Enhancement of natural killer cell cytotoxicity by the human herpesvirus-7 via IL-15 induction. *J Immunol*. 1997 Nov 15; 159(10):4966-4972.
- Aubin JT, Collandre H, Candotti D, Ingrand D, Rouzioux C, Burgard M, *et al*. Several groups among human herpesvirus 6 strains can be distinguished by Southern blotting and polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1991 Feb; 29(2):367-

372.

Ausubel FM, *et al.* Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons; 1987.

Berneman ZN, Ablashi DV, Li G, Eger-Fletcher M, Reitz MS, Jr., Hung CL, *et al.* Human herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 Nov 1; 89(21):10552-10556.

Black JB, Pellett PE. Human herpesvirus 7. Rev Med Virol. 1999 Oct-Dec; 9(4):245-262.

Blackwell Munksgaard. Other herpesviruses: HHV-6, HHV-7, HHV-8, HSV-1 and -2, VZV. American Journal of Transplantation 2004;4 (Suppl.10); 66-71

Bollen AE, Wartan AN, Krikke AP, Haaxma-Reiche H. Amnestic syndrome after lung transplantation by human herpes virus-6 encephalitis. J Neurol. 2001 Jul; 248(7):619-620.

Braun DK, Dominguez G, Pellett PE. Human herpesvirus 6. Clin Microbiol Rev. 1997 Jul; 10(3):521-567.

Brennan DC, Storch GA, Singer GG, Lee L, Rueda J, Schnitzler MA. The prevalence of human herpesvirus-7 in renal transplant recipients is unaffected by oral or intravenous ganciclovir. J Infect Dis. 2000 May; 181(5):1557-1561.

Burd EM, Carrigan DR. Human herpesvirus 6 (HHV-6)-associated dysfunction of blood monocytes. Virus Res. 1993 Jul; 29(1):79-90.

Campadelli-Fiume G, Mirandola P, Menotti L. Human herpesvirus 6: An emerging pathogen. Emerg Infect Dis. 1999 May-Jun; 5(3):353-366.

Carrigan DR, Drobyski WR, Russler SK, Tapper MA, Knox KK, Ash RC. Interstitial pneumonitis associated with human herpesvirus-6 infection after marrow transplantation. Lancet. 1991 Jul 20; 338(8760):147-149.

Carrigan DR, Knox KK. Human herpesvirus 6 (HHV-6) isolation from bone marrow: HHV-6-associated bone marrow suppression in bone marrow transplant patients. Blood. 1994 Nov 15; 84(10):3307-3310.

- Caserta MT, Mock DJ, Dewhurst S. Human herpesvirus 6. *Clin Infect Dis*. 2001 Sep 15; 33(6):829-833.
- Chan PK, Ng HK, Hui M, Cheng AF. Prevalence and distribution of human herpesvirus 6 variants A and B in adult human brain. *J Med Virol*. 2001 May; 64(1):42-46.
- Chan PK, Peiris JS, Yuen KY, Liang RH, Lau YL, Chen FE, *et al*. Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7 infections in bone marrow transplant recipients. *J Med Virol*. 1997 Nov; 53(3):295-305.
- Chang FY, Singh N, Gayowski T, Wagener MM, Marino IR. Fever in liver transplant recipients: changing spectrum of etiologic agents. *Clin Infect Dis*. 1998 Jan; 26(1):59-65.
- Chapenko S, Folkmane I, Tomsone V, Amerika D, Rozentals R, Murovska M. Co-infection of two beta-herpesviruses (CMV and HHV-7) as an increased risk factor for 'CMV disease' in patients undergoing renal transplantation. *Clin Transplant*. 2000 Oct; 14(5):486-492.
- Chapenko S, Folkmane I, Ziedina I, Chistyakovs M, Rozentals R, Krumina A, *et al*. Association of HHV-6 and HHV-7 reactivation with the development of chronic allograft nephropathy. *J Clin Virol*. 2009 Sep; 46(1):29-32. Publicação eletrônica antecipada em 02 de junho de 2009.
- Clark DA. Human herpesvirus 6. *Rev Med Virol*. 2000 May-Jun; 10(3):155-173.
- Clark DA. Human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7: emerging pathogens in transplant patients. *Int J Hematol*. 2002 Aug; 76 Suppl 2:246-252.
- Cone RW, Hackman RC, Huang ML, Bowden RA, Meyers JD, Metcalf M, *et al*. Human herpesvirus 6 in lung tissue from patients with pneumonitis after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1993 Jul 15; 329(3):156-161.
- Cone RW, Huang ML, Corey L, Zeh J, Ashley R, Bowden R. Human herpesvirus 6 infections after bone marrow transplantation: clinical and virologic manifestations. *J Infect Dis*. 1999 Feb; 179(2):311-318.
- Cone RW, Huang ML, Hackman RC, Corey L. Coinfection with human herpesvirus 6 variants A and B in lung tissue. *J Clin Microbiol*. 1996 Apr; 34(4):877-881.
- De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical

features, and therapy. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Jan; 18(1):217-245.

Deborska D, Durlik M, Sadowska A, Nowacka-Cieciura E, Pazik J, Lewandowski Z, *et al.* Human herpesvirus-6 in renal transplant recipients: potential risk factors for the development of human herpesvirus-6 seroconversion. *Transplant Proc.* 2003 Sep; 35(6):2199-2201.

DesJardin JA, Gibbons L, Cho E, Supran SE, Falagas ME, Werner BG, *et al.* Human herpesvirus 6 reactivation is associated with cytomegalovirus infection and syndromes in kidney transplant recipients at risk for primary cytomegalovirus infection. *J Infect Dis.* 1998 Dec; 178(6):1783-1786.

Dockrell DH, Mendez JC, Jones M, Harmsen WS, Ilstrup DM, Smith TF, *et al.* Human herpesvirus 6 seronegativity before transplantation predicts the occurrence of fungal infection in liver transplant recipients. *Transplantation.* 1999 Feb 15; 67(3):399-403.

Dockrell DH, Paya CV. Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol.* 2001 Jan-Feb; 11(1):23-36.

Dockrell DH, Prada J, Jones MF, Patel R, Badley AD, Harmsen WS, *et al.* Seroconversion to human herpesvirus 6 following liver transplantation is a marker of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis.* 1997 Nov; 176(5):1135-1140.

Drobyski WR, Dunne WM, Burd EM, Knox KK, Ash RC, Horowitz MM, *et al.* Human herpesvirus-6 (HHV-6) infection in allogeneic bone marrow transplant recipients: evidence of a marrow-suppressive role for HHV-6 in vivo. *J Infect Dis.* 1993 Mar; 167(3):735-739.

Drobyski WR, Knox KK, Majewski D, Carrigan DR. Brief report: fatal encephalitis due to variant B human herpesvirus-6 infection in a bone marrow-transplant recipient. *N Engl J Med.* 1994 May 12; 330(19):1356-1360.

Emery VC. Human herpesviruses 6 and 7 in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001 May 1; 32(9):1357-1360.

Feldstein AE, Razonable RR, Boyce TG, Freese DK, El-Youssef M, Perrault J, *et al.* Prevalence and clinical significance of human herpesviruses 6 and 7 active infection in pediatric liver transplant patients. *Pediatr Transplant.* 2003 Apr; 7(2):125-129.

Flamand L, Gosselin J, D'Addario M, Hiscott J, Ablashi DV, Gallo RC, *et al.* Human herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but

not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Virol.* 1991 Sep; 65(9):5105-5110.

Flamand L, Gosselin J, Stefanescu I, Ablashi D, Menezes J. Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation. *Blood.* 1995 Mar 1; 85(5):1263-1271.

Flamand L, Stefanescu I, Menezes J. Human herpesvirus-6 enhances natural killer cell cytotoxicity via IL-15. *J Clin Invest.* 1996 Mar 15; 97(6):1373-1381.

Frenkel N, Schirmer EC, Wyatt LS, Katsafanas G, Roffman E, Danovich RM, *et al.* Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Jan; 87(2):748-752.

Griffiths PD, Ait-Khaled M, Bearcroft CP, Clark DA, Quaglia A, Davies SE, *et al.* Human herpesviruses 6 and 7 as potential pathogens after liver transplant: prospective comparison with the effect of cytomegalovirus. *J Med Virol.* 1999 Dec; 59(4):496-501.

Gupta M, Diaz-Mitoma F, Feber J, Shaw L, Forget C, Filler G. Tissue HHV6 and 7 determination in pediatric solid organ recipients--a pilot study. *Pediatr Transplant.* 2003 Dec; 7(6):458-463.

Hall CB, Long CE, Schnabel KC, Caserta MT, McIntyre KM, Costanzo MA, *et al.* Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N Engl J Med.* 1994 Aug 18; 331(7):432-438.

Harma M, Hockerstedt K, Krogerus L, Lautenschlager I. Pretransplant human herpesvirus 6 infection of patients with acute liver failure is a risk factor for posttransplant human herpesvirus 6 infection of the liver. *Transplantation.* 2006a Feb 15; 81(3):367-372.

Harma M, Hockerstedt K, Lyytikainen O, Lautenschlager I. HHV-6 and HHV-7 antigenemia related to CMV infection after liver transplantation. *J Med Virol.* 2006b Jun; 78(6):800-805.

Harma M, Loginov R, Piiparinen H, Halme L, Hockerstedt K, Lautenschlager I. HHV-6-DNAemia related to CMV-DNAemia after liver transplantation. *Transplant Proc.* 2005 Mar; 37(2):1230-1232.

Hengel H, Brune W, Koszinowski UH. Immune evasion by cytomegalovirus--survival strategies of a highly adapted opportunist. *Trends Microbiol.* 1998 May; 6(5):190-197.

- Hentrich M, Oruzio D, Jager G, Schlemmer M, Schleuning M, Schiel X, *et al.* Impact of human herpesvirus-6 after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2005 Jan; 128(1):66-72.
- Humar A, Asberg A, Kumar D, Hartmann A, Moussa G, Jardine A, *et al.* An assessment of herpesvirus co-infections in patients with CMV disease: correlation with clinical and virologic outcomes. *Am J Transplant.* 2009 Feb; 9(2):374-381.
- Humar A, Kumar D, Caliendo AM, Moussa G, Ashi-Sulaiman A, Levy G, *et al.* Clinical impact of human herpesvirus 6 infection after liver transplantation. *Transplantation.* 2002 Feb 27; 73(4):599-604.
- Humar A, Malkan G, Moussa G, Greig P, Levy G, Mazzulli T. Human herpesvirus-6 is associated with cytomegalovirus reactivation in liver transplant recipients. *J Infect Dis.* 2000 Apr; 181(4):1450-1453.
- Ihira M, Yoshikawa T, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, Asonuma K, *et al.* Correlation between human herpesvirus 6 and 7 infections after living related liver transplantation. *Microbiol Immunol.* 2001; 45(3):225-232.
- Imbert-Marcille BM, Tang XW, Lepelletier D, Besse B, Moreau P, Billaudel S, *et al.* Human herpesvirus 6 infection after autologous or allogeneic stem cell transplantation: a single-center prospective longitudinal study of 92 patients. *Clin Infect Dis.* 2000 Oct; 31(4):881-886.
- Inoue Y, Yasukawa M, Fujita S. Induction of T-cell apoptosis by human herpesvirus 6. *J Virol.* 1997 May; 71(5):3751-3759.
- Jacobs F, Knoop C, Brancart F, Gilot P, Melot C, Byl B, *et al.* Human herpesvirus-6 infection after lung and heart-lung transplantation: a prospective longitudinal study. *Transplantation.* 2003 Jun 27; 75(12):1996-2001.
- Jacobs U, Ferber J, Klehr HU. Severe allograft dysfunction after OKT3-induced human herpes virus-6 reactivation. *Transplant Proc.* 1994 Dec; 26(6):3121.
- Kamble RT, Clark DA, Leong HN, Heslop HE, Brenner MK, Carrum G. Transmission of integrated human herpesvirus-6 in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007 Sep; 40(6):563-566.
- Kempf W, Adams V, Mirandola P, Menotti L, Di Luca D, Wey N, *et al.* Persistence of human herpesvirus 7 in normal tissues detected by expression of a structural antigen. *J Infect Dis.* 1998 Sep; 178(3):841-845.

- Kempf W, Adams V, Pfaltz M, Briner J, Schmid M, Moos R, *et al.* Human herpesvirus type 6 and cytomegalovirus in AIDS-associated Kaposi's sarcoma: no evidence for an etiological association. *Hum Pathol.* 1995 Aug; 26(8):914-919.
- Kempf W, Adams V, Wey N, Moos R, Schmid M, Avitabile E, *et al.* CD68+ cells of monocyte/macrophage lineage in the environment of AIDS-associated and classic-sporadic Kaposi sarcoma are singly or doubly infected with human herpesviruses 7 and 6B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jul 8; 94(14):7600-7605.
- Kempf W, Kazakov DV, Burg G. Applications of molecular virology to modern dermatopathology. *Curr Top Pathol.* 2001; 94:39-47.
- Khanani M, Al-Ahmari A, Tellier R, Allen U, Richardson S, Doyle JJ, *et al.* Human herpesvirus 7 in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer.* 2007 May; 48(5):567-570.
- Kidd IM, Clark DA, Sabin CA, Andrew D, Hassan-Walker AF, Sweny P, *et al.* Prospective study of human betaherpesviruses after renal transplantation: association of human herpesvirus 7 and cytomegalovirus co-infection with cytomegalovirus disease and increased rejection. *Transplantation.* 2000 Jun 15; 69(11):2400-2404.
- Kimberlin DW, Whitley RJ. Human herpesvirus-6: neurologic implications of a newly-described viral pathogen. *J Neurovirol.* 1998 Oct; 4(5):474-485.
- Kramer BK, Montagnino G, Del Castillo D, Margreiter R, Sperschneider H, Olbricht CJ, *et al.* Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin A microemulsion in renal transplantation: 2 year follow-up results. *Nephrol Dial Transplant.* 2005 May; 20(5):968-973.
- Lautenschlager I, Harma M, Hockerstedt K, Linnavuori K, Loginov R, Taskinen E. Human herpesvirus-6 infection is associated with adhesion molecule induction and lymphocyte infiltration in liver allografts. *J Hepatol.* 2002a Nov; 37(5):648-654.
- Lautenschlager I, Hockerstedt K, Linnavuori K, Taskinen E. Human herpesvirus-6 infection after liver transplantation. *Clin Infect Dis.* 1998 Mar; 26(3):702-707.
- Lautenschlager I, Lappalainen M, Linnavuori K, Suni J, Hockerstedt K. CMV infection is usually associated with concurrent HHV-6 and HHV-7 antigenemia in liver transplant patients. *J Clin Virol.* 2002b Aug; 25 Suppl 2:S57-61.

- Lautenschlager I, Linnavuori K, Hockerstedt K. Human herpesvirus-6 antigenemia after liver transplantation. *Transplantation*. 2000 Jun 27; 69(12):2561-2566.
- Lehto JT, Halme M, Tukiainen P, Harjula A, Sipponen J, Lautenschlager I. Human herpesvirus-6 and -7 after lung and heart-lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2007 Jan; 26(1):41-47.
- Ljungman P, Wang FZ, Clark DA, Emery VC, Remberger M, Ringden O, *et al*. High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br J Haematol*. 2000 Dec; 111(3):774-781.
- Lusso P, Malnati MS, Garzino-Demo A, Crowley RW, Long EO, Gallo RC. Infection of natural killer cells by human herpesvirus 6. *Nature*. 1993 Apr 1; 362(6419):458-462.
- Lusso P, Markham PD, Tschachler E, di Marzo Veronese F, Salahuddin SZ, Ablashi DV, *et al*. In vitro cellular tropism of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *J Exp Med*. 1988 May 1; 167(5):1659-1670.
- Lusso P, Secchiero P, Crowley RW, Garzino-Demo A, Berneman ZN, Gallo RC. CD4 is a critical component of the receptor for human herpesvirus 7: interference with human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Apr 26; 91(9):3872-3876.
- Maeda Y, Teshima T, Yamada M, Harada M. Reactivation of human herpesviruses after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma*. 2000 Oct; 39(3-4):229-239.
- Martins IS, Moreira BM, Riley LW, Santoro-Lopes G. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection among renal transplant recipients. *J Hosp Infect*. 2006 Nov; 64(3):305-308.
- Mendez JC, Dockrell DH, Espy MJ, Smith TF, Wilson JA, Harmsen WS, *et al*. Human beta-herpesvirus interactions in solid organ transplant recipients. *J Infect Dis*. 2001 Jan 15; 183(2):179-184.
- Morris-Stiff G, Ostrowski K, Balaji V, Moore R, Darby C, Lord R, *et al*. Prospective randomised study comparing tacrolimus (Prograf) and cyclosporin (Neoral) as primary immunosuppression in cadaveric renal transplants at a single institution: interim report of the first 80 cases. *Transpl Int*. 1998; 11 Suppl 1:S334-336.

- Morris DJ, Littler E, Arrand JR, Jordan D, Mallick NP, Johnson RW. Human herpesvirus 6 infection in renal-transplant recipients. *N Engl J Med.* 1989 Jun 8; 320(23):1560-1561.
- Murphy GJ, Waller JR, Sandford RS, Furness PN, Nicholson ML. Randomized clinical trial of the effect of microemulsion cyclosporin and tacrolimus on renal allograft fibrosis. *Br J Surg.* 2003 Jun; 90(6):680-686.
- Nash PJ, Avery RK, Tang WH, Starling RC, Taege AJ, Yamani MH. Encephalitis owing to human herpesvirus-6 after cardiac transplant. *Am J Transplant.* 2004 Jul; 4(7):1200-1203.
- Okuno T, Higashi K, Shiraki K, Yamanishi K, Takahashi M, Kokado Y, *et al.* Human herpesvirus 6 infection in renal transplantation. *Transplantation.* 1990 Mar; 49(3):519-522.
- Okuno T, Takahashi K, Balachandra K, Shiraki K, Yamanishi K, Takahashi M, *et al.* Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults. *J Clin Microbiol.* 1989 Apr; 27(4):651-653.
- Osman HK, Peiris JS, Taylor CE, Warwicker P, Jarrett RF, Madeley CR. "Cytomegalovirus disease" in renal allograft recipients: is human herpesvirus 7 a co-factor for disease progression? *J Med Virol.* 1996 Apr; 48(4):295-301.
- Ozaki KS, Camara NO, Nogueira E, Pereira MG, Granato C, Melaragno C, *et al.* The use of sirolimus in ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in renal transplant recipients. *Clin Transplant.* 2007 Sep-Oct; 21(5):675-680.
- Paterson DL, Singh N, Gayowski T, Carrigan DR, Marino IR. Encephalopathy associated with human herpesvirus 6 in a liver transplant recipient. *Liver Transpl Surg.* 1999 Sep; 5(5):454-455.
- Pellet PE, Dominguez G. Human herpesvirus 6A, 6B and 7. In: fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *The Fields Virology.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2001. p. 2769-2784.
- Ponticelli C. The pleiotropic effects of mTor inhibitors. *J Nephrol.* 2004 Nov-Dec; 17(6):762-768.
- Portolani M, Cermelli C, Moroni A, Bertolani MF, Di Luca D, Cassai E, *et al.* Human herpesvirus-6 infections in infants admitted to hospital. *J Med Virol.* 1993 Feb; 39(2):146-151.

- Prober C. Sixth disease and the ubiquity of human herpesviruses. *N Engl J Med*. 2005 Feb 24; 352(8):753-755.
- Pruksananonda P, Hall CB, Insel RA, McIntyre K, Pellett PE, Long CE, *et al*. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. *N Engl J Med*. 1992 May 28; 326(22):1445-1450.
- Rayes N, Seehofer D, Lullius SG, Stein A, May G, Kahl A, *et al*. Monitoring of human cytomegalovirus, HHV-6 and HHV-7 infection in kidney transplant recipients by molecular methods to predict HCMV disease after transplantation: a prospective study. *Ann Transplant*. 2005; 10(2):23-28.
- Razonable RR, Burak KW, van Crujisen H, Brown RA, Charlton MR, Smith TF, *et al*. The pathogenesis of hepatitis C virus is influenced by cytomegalovirus. *Clin Infect Dis*. 2002 Oct 15; 35(8):974-981.
- Razonable RR, Paya CV. The impact of human herpesvirus-6 and -7 infection on the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl*. 2002 Aug; 8(8):651-658.
- Razonable RR, Rivero A, Brown RA, *et al*. Human herpesvirus (HHV-6) and HHV-7 cause cytomegalovirus (CMV) -negative syndromes among transplant patients. (abstract 444). *Clin Infect Dis*. 2001; 33:1164.
- Razonable RR, Rivero A, Brown RA, Hart GD, Espy MJ, van Crujisen H, *et al*. Detection of simultaneous beta-herpesvirus infections in clinical syndromes due to defined cytomegalovirus infection. *Clin Transplant*. 2003 Apr; 17(2):114-120.
- Rogers J, Rohal S, Carrigan DR, Kusne S, Knox KK, Gayowski T, *et al*. Human herpesvirus-6 in liver transplant recipients: role in pathogenesis of fungal infections, neurologic complications, and outcome. *Transplantation*. 2000 Jun 27; 69(12):2566-2573.
- Rolle A, Olweus J. Dendritic cells in cytomegalovirus infection: viral evasion and host countermeasures. *APMIS*. 2009 May; 117(5-6):413-426.
- Ross DJ, Chan RC, Kubak B, Laks H, Nichols WS. Bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia: possible association with human herpesvirus-7 infection after lung transplantation. *Transplant Proc*. 2001 Jun; 33(4):2603-2606.
- Rossi C, Delforge ML, Jacobs F, Wissing M, Pradier O, Rimmelink M, *et al*. Fatal primary infection due to human herpesvirus 6 variant A in a renal transplant

- recipient. *Transplantation*. 2001 Jan 27; 71(2):288-292.
- Rubin RH. Cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2001; 3 Suppl 2:1-5.
- Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, *et al*. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science*. 1986 Oct 31; 234(4776):596-601.
- Santoro F, Kennedy PE, Locatelli G, Malnati MS, Berger EA, Lusso P. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. *Cell*. 1999 Dec 23; 99(7):817-827.
- Sashihara J, Tanaka-Taya K, Tanaka S, Amo K, Miyagawa H, Hosoi G, *et al*. High incidence of human herpesvirus 6 infection with a high viral load in cord blood stem cell transplant recipients. *Blood*. 2002 Sep 15; 100(6):2005-2011.
- Schleibner S, Krauss M, Wagner K, Erhard J, Christiaans M, van Hooff J, *et al*. FK 506 versus cyclosporin in the prevention of renal allograft rejection--European pilot study: six-week results. *Transpl Int*. 1995; 8(2):86-90.
- Sebeková K, Feber J, Carpenter B, Shaw L, Karnauchow T, Diaz-Mitoma F, *et al*. Tissue viral DNA is associated with chronic allograft nephropathy. *Pediatr Transplant*. 2005 Oct; 9(5):598-603.
- Secchiero P, Flamand L, Gibellini D, Falcieri E, Robuffo I, Capitani S, *et al*. Human Herpesvirus 7 induces CD4(+) T-cell death by two distinct mechanisms: necrotic lysis in productively infected cells and apoptosis in uninfected or nonproductively infected cells. *Blood*. 1997 Dec 1; 90(11):4502-4512.
- Singh N, Carrigan DR. Human herpesvirus-6 in transplantation: an emerging pathogen. *Ann Intern Med*. 1996 Jun 15; 124(12):1065-1071.
- Singh N, Carrigan DR, Gayowski T, Marino IR. Human herpesvirus-6 infection in liver transplant recipients: documentation of pathogenicity. *Transplantation*. 1997 Sep 15; 64(5):674-678.
- Singh N, Carrigan DR, Gayowski T, Singh J, Marino IR. Variant B human herpesvirus-6 associated febrile dermatosis with thrombocytopenia and encephalopathy in a liver transplant recipient. *Transplantation*. 1995 Dec 15; 60(11):1355-1357.
- Singh N, Husain S, Carrigan DR, Knox KK, Weck KE, Wagener MM, *et al*. Impact of

- human herpesvirus-6 on the frequency and severity of recurrent hepatitis C virus hepatitis in liver transplant recipients. *Clin Transplant*. 2002 Apr; 16(2):92-96.
- Singh N, Paterson DL. Encephalitis caused by human herpesvirus-6 in transplant recipients: relevance of a novel neurotropic virus. *Transplantation*. 2000 Jun 27; 69(12):2474-2479.
- Smith JM, McDonald RA. Emerging viral infections in transplantation. *Pediatr Transplant*. 2006 Nov; 10(7):838-843.
- Smith SR, Butterly DW, Alexander BD, Greenberg A. Viral infections after renal transplantation. *Am J Kidney Dis*. 2001 Apr; 37(4):659-676.
- Snydman DR. Epidemiology of infections after solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis*. 2001 Jul 1; 33 Suppl 1:S5-8.
- Suga S, Yoshikawa T, Nagai T, Asano Y. Clinical features and virological findings in children with primary human herpesvirus 7 infection. *Pediatrics*. 1997 Mar; 99(3):E4.
- Szkaradkiewicz A, Wal M. Effect of cyclosporin on uropathogenic *Escherichia coli* adherence to human endothelial cells. *Int J Antimicrob Agents*. 2001 Jul; 18(1):89-91.
- Tanaka K, Kondo T, Torigoe S, Okada S, Mukai T, Yamanishi K. Human herpesvirus 7: another causal agent for roseola (exanthem subitum). *J Pediatr*. 1994 Jul; 125(1):1-5.
- Thomasini RL, Sampaio AM, Bonon SH, Boin IF, Leonardi LS, Leonardi M, *et al*. Detection and monitoring of human herpesvirus 7 in adult liver transplant patients: impact on clinical course and association with cytomegalovirus. *Transplant Proc*. 2007 Jun; 39(5):1537-1539.
- Tong CY, Bakran A, Peiris JS, Muir P, Herrington CS. The association of viral infection and chronic allograft nephropathy with graft dysfunction after renal transplantation. *Transplantation*. 2002 Aug 27; 74(4):576-578.
- Tong CY, Bakran A, Williams H, Cheung CY, Peiris JS. Association of human herpesvirus 7 with cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2000 Jul 15; 70(1):213-216.

- Torigoe S, Koide W, Yamada M, Miyashiro E, Tanaka-Taya K, Yamanishi K. Human herpesvirus 7 infection associated with central nervous system manifestations. *J Pediatr*. 1996 Aug; 129(2):301-305.
- Vossen MT, Westerhout EM, Soderberg-Naucler C, Wiertz EJ. Viral immune evasion: a masterpiece of evolution. *Immunogenetics*. 2002 Nov; 54(8):527-542.
- Wang FZ, Dahl H, Linde A, Brytting M, Ehrnst A, Ljungman P. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 1996 Nov 1; 88(9):3615-3620.
- Ward KN. Human herpesviruses-6 and -7 infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2005a Jun; 18(3):247-252.
- Ward KN. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent. *J Clin Virol*. 2005b Mar; 32(3):183-193.
- Ward KN, Gray JJ, Efstathiou S. Brief report: primary human herpesvirus 6 infection in a patient following liver transplantation from a seropositive donor. *J Med Virol*. 1989 Jun; 28(2):69-72.
- Ward KN, White RP, Mackinnon S, Hanna M. Human herpesvirus-7 infection of the CNS with acute myelitis in an adult bone marrow recipient. *Bone Marrow Transplant*. 2002 Dec; 30(12):983-985.
- Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation*. 2006 May 15; 81(9):1234-1248.
- Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, *et al*. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet*. 1988 May 14; 1(8594):1065-1067.
- Yasukawa M, Yakushijin Y, Furukawa M, Fujita S. Specificity analysis of human CD4+ T-cell clones directed against human herpesvirus 6 (HHV-6), HHV-7, and human cytomegalovirus. *J Virol*. 1993 Oct; 67(10):6259-6264.
- Yoshikawa T, Asano Y, Ihira M, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, *et al*. Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients: clinical features and risk factors. *J Infect Dis*. 2002 Apr 1; 185(7):847-853.

Yoshikawa T, Ihira M, Ohashi M, Suga S, Asano Y, Miyazaki H, *et al.* Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001 Jul; 28(1):77-81.

Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, Suga S, Iida K, Saito Y, *et al.* Human herpesvirus 6 infection after living related liver transplantation. *J Med Virol.* 2000 Sep; 62(1):52-59.

Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, Nakashima T, Yazaki T, Ono Y, *et al.* A prospective study of human herpesvirus-6 infection in renal transplantation. *Transplantation.* 1992 Nov; 54(5):879-883.

Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, Nakashima T, Yazaki T, Sobue R, *et al.* Human herpesvirus-6 infection in bone marrow transplantation. *Blood.* 1991 Sep 1; 78(5):1381-1384.

Yoshikawa T, Yoshida J, Hamaguchi M, Kubota T, Akimoto S, Ihira M, *et al.* Human herpesvirus 7-associated meningitis and optic neuritis in a patient after allogeneic stem cell transplantation. *J Med Virol.* 2003 Jul; 70(3):440-443.

Zerr DM. Human herpesvirus 6: a clinical update. *Herpes.* 2006 May; 13(1):20-24.

Zerr DM, Corey L, Kim HW, Huang ML, Nguy L, Boeckh M. Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2005a Apr 1; 40(7):932-940.

Zerr DM, Gooley TA, Yeung L, Huang ML, Carpenter P, Wade JC, *et al.* Human herpesvirus 6 reactivation and encephalitis in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001 Sep 15; 33(6):763-771.

Zerr DM, Meier AS, Selke SS, Frenkel LM, Huang ML, Wald A, *et al.* A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection. *N Engl J Med.* 2005b Feb 24; 352(8):768-776.

ANEXOS

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](#)