

Diagnóstico laboratorial da Citomegalovirose em pacientes transplantados

Guimarães, MAAM¹ & Guimarães, ACC²

1-Laboratório de Virologia, Depto Medicina Preventiva,
Faculdade de Medicina UFRJ

2-Coordenação de Transplantes HUCFF, UFRJ

Os Herpesvírus humanos frequentemente causam complicações sérias após transplante de órgãos sólidos e transplantes de células. Dentre os membros dessa família de vírus, o Citomegalovírus (CMV) é o principal causador de complicações pós-transplante, com incidência de até 70%, em especial nos primeiros meses pós-transplante.

Os mecanismos responsáveis por uma infecção pós CMV são:

- Transmissão pelo enxerto do doador ou por transfusão de sangue CMV positivo a um receptor CMV negativo.
- Reativação de uma infecção por CMV latente em paciente sob imunossupressão.
- Transmissão de uma cepa diferente de CMV a um receptor positivo.

O quadro clínico e a prevalência da infecção por CMV variam de acordo com o estado de imunossupressão e o tipo de transplante. Devido aos avanços no diagnóstico e aos esquemas de profilaxia e terapia preemptiva, a incidência de infecção por CMV diminuiu. Entretanto tem sido descrito um aumento relativo na incidência de infecção por CMV, na fase mais tardia pós-transplante (Garret, W.N. & Boeckh, M., 2000).

Diferentes metodologias podem ser empregadas no diagnóstico laboratorial da infecção por CMV. Essas metodologias podem ser classificadas em técnicas que pesquisam anticorpos (sorologia: IgG/IgM específicas para CMV), técnicas que detectam proteínas virais, presentes na célula infectada como

resultado da replicação viral (técnica de antígenoemia, imunohistoquímica) e técnicas que empregam a biologia molecular na pesquisa do genoma ou do RNA mensageiro viral (PCR, Hibridização, captura híbrida, dentre outras).

A sorologia tem valor limitado no diagnóstico da citomegalovirose quando se trata do paciente transplantado. A presença de IgM específica não permite a distinção entre infecção e doença invasiva, por outro lado a falta de IgM específica, em presença de infecção por CMV, tem sido descrita e associada a imunossupressão severa (Britt, W.J. & Alford, C.A., 1996).

Conforme demonstram diferentes estudos, a excreção de CMV, no período pós-transplante, é muito freqüente e embora o vírus possa ser detectado nos fluidos corporais (urina e saliva), isto não significa que estamos diante de doença ativa. Entretanto a detecção do vírus em tecido de biópsia e no lavado bronco alveolar (BAL) tem alta correlação com a presença de infecção ativa (Britt, W.J. & Alford, C.A., 1996).

Numerosos estudos documentam o elevado valor preditivo da antígenoemia e do isolamento viral, a partir de amostra de sangue (correspondente a viremia), quanto ao aparecimento de infecção ativa por CMV no período pós-transplante (Landry, M.L et al, 1993; Myers, JD et al, 1990; - van der Bij W. et al, 1988). Desta forma a técnica de antígenoemia para CMV, por ser metodologicamente mais simples que a técnica de isolamento viral, vem substituindo,

cada vez mais, esta última (Ericé et al, 1992; Landry, M.L et al, 1993).

A técnica de PCR qualitativo, para detecção do genoma do CMV, tem seu emprego limitado, pois apresenta baixo valor preditivo. Grande parte dos transplantados soropositivos apresentam PCR positivo, mesmo na ausência de doença invasiva. Entretanto, quando se trata do PCR quantitativo, diversos estudos têm relacionado seu alto valor preditivo em relação ao aparecimento de doença invasiva.

Outros métodos de biologia molecular também vêm sendo estudados. A técnica de NASBA (amplificação do RNAm do gene UL65) vem sendo descrita como mais sensível (Block et al, 1998) ou de igual sensibilidade (Goossen et al, 1999) em relação às técnicas de antígenoemia e de isolamento viral. Em estudo realizado em nosso laboratório, as técnicas de NASBA e de antígenoemia apresentaram igual sensibilidade, entretanto a técnica de antígenoemia foi capaz de detectar a presença de replicação viral mais precocemente, em um dos pacientes acompanhados (Sleman, OC, 2000).

A captura híbrida também apresenta resultados variáveis, havendo relato de maior sensibilidade (Veal et al, 1996) ou de menor sensibilidade (Mazzulli et al, 1996 e 1999), em relação à técnica de antígenoemia. Outros métodos, como "Branched-DNA signal amplification assay" (Chernoff, 1997; Boeckh & Boivin, 1998) e o Real Time PCR (Gault et al, 2001; Kearns et al, 2002), vêm sendo descritos e comparados às técnicas de antígenoemia e isolamento viral, porém nenhum deles conseguiu, até o momento, substituir, definitivamente, o método de antígenoemia. Em nosso meio, a técnica de antígenoemia, apesar de mais trabalhosa e de exigir pessoal especializado, é mais barata e tem apresentado relevante valor preditivo.

Referências bibliográficas

1. BloK, M.J.; Goossens, VL; Vanherle, SJV; Top B Diagnostic value of monitoring human CMV late pp67 mRNA expression in renal-allograft recipients by Nucleic Acid Sequence-Based Amplification. *J. Clin. Microbiol.* 1998. 36: 1341-1346.
2. Boeckh, M. & Boivin, G. 1998 Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical application. *Clin. Microbiol. Reviews* 11: 533-554.
3. Britt, W.J.; Alford, C.A. Cytomegalovirus in *Virology Fields*, B, Knipe, D.M. & Howley, P.M. 3rd Ed Lippincott – Raven ISBN 0-7817-0253-4 1996 pp 2493-2523.
4. Chernoff, DN; Miner, R.C.; Hoo, B.S. Quantification of CMV DNA in peripheral blood leucocytes by a branched signal amplification assay. *J. Clin. Microbiol.* 1997. 35: 2740-2744.
5. Ericé A; Chou, S. Biron, KK; Stanat, SC. Progressive disease due to ganciclovir-resistant CMV in immunocompromised patient. *N. England J. Med.* 1989, 320: 289-293.
6. Garret, W.N. & Boeckh, M. 2nd International Conference on Transplant Infectious Disease. *Medscape Transplantation*, 2000,. 1:3.
7. Gault, E.; Mechel, Y.; Dehée, B. Nicolas, J.C.; Garbaig-Chenon, A Quantification of human CMV by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2001 39: 772-775.
8. Goossens, V.J.; Blok, MJ; Christians, MH; van Hooff, JP. Diagnostic value of nucleic-acid-sequence-based amplification for the detection of cytomegalovirus infection in renal and liver transplant recipients. *Intervirology* 1999. 42: 373-381.
9. Kearns, AM; Turner, AJ; Eltringham, GL; Freeman, R. 2002. Rapid detection and quantification of CMV DNA using LightCycler-based real-time PCR *J Clin. Virol.* 2002, 24: 131-134.
10. Landry, M.L.; Fergusson, D Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with culture methods and correlation with clinical disease. *J. Clin. Microbiol.* 1993. 31: 2851-2856.
11. Mazzulli, T.; Wood, S.; Chau, R.; Walmsley, S. Evaluation of the digene hybrid capture system for detection and quantitation of CMV *Clin. Microbiol.* 1996: 34: 2959-2962.
12. Mazzulli T.; Drew, L.W.; Yen-Lieberman, B.; Jekie-Mc Mullen, D. Multicenter comparison of digene hybrid capture system for detection and quantitation of CMV. *J. Clin. Microbiol.* 1999. 37: 958-963.
13. Myers, JD; Ljungman, P; Fisher, LD. Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia. *J. Infect. Dis.* 1990; 162: 373-380.
14. Sleman, OC, Guimarães, MAAM, Guimarães, ACC, Nucci, M; Almeida, LH. Diagnosis of Cytomegalovirus Infection by the detection of CMV antigen (pp65) and CMV RNAm (UL65) X Encontro Nacional de Virologia, S Lourenço, 2000).
15. van der Bij W. Schim J. Toesma R., van Son WJ Tregzess AM Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26: 2531-2535.
16. Veal, N. Payan, C.; Fray, D.; Sarol, L. Novel DNA assay for cytomegalovirus detection. Comparison with conventional culture and pp65 antigenemia assay. *J. Clin. Microb.* 1996, 34: 3097-3100.