UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Fernanda Vianna Vacilotto Raupp

Epidemiologia e desfechos do manejo da nefropatia por BK vírus através da política de vigilância.

Porto Alegre
2018

Catalogação na Publicação

Raupp, Fernanda Vianna Vacilotto
Epidemiologia e desfechos do manejo da nefropatia por BK vírus através da política de vigilância. / Fernanda Vianna Vacilotto Raupp. -- 2018.
63 f. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2018.

Orientador(a): Elizete Keitel.

1. poliomavírus. 2. transplante renal. 3. BK vírus. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Fernanda Vianna Vacilotto Raupp

Epidemiologia e desfechos do manejo da nefropatia por BK vírus através da política de vigilância.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profª. Dra. Elizete Keitel

Porto Alegre
2018

Agradecimentos

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas.

Primeiramente, agradeço à minha orientadora, Professora Doutora Elizete Keitel, que acreditou na minha capacidade e permitiu que em breve eu me torne mestre. Obrigada pela dedicação, paciência, ensinamentos e muito incentivo dispensados a mim. Também agradeço a colega Gisele Meinerz, pois seu apoio e palavras de incentivo foram de suma importância. Serei eternamente grata a vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

Agradeço aos colegas e funcionários do serviço de transplante renal da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre que auxiliaram para que a coleta dos dados fosse realizada da melhor maneira possível.

Às colegas de mestrado Bruna Doleys Cardoso, Helen Zanetti e Natália Prado, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todos os momentos.

À UFCSPA e ao Programa de Pós-Graduação em Patologia pelas oportunidades, bem como a todos os professores e colaboradores pelo conhecimento e enriquecimento cultural e científico a mim proporcionado.

Ao meu marido, amigo e companheiro Wagner, pelo convívio e pela força em praticamente todo o tempo despendido no mestrado e ao nosso filho Pedro, que chegou no meio desta caminhada nos trazendo muita alegria.

Aos meus pais, Luciano e Dóris, que sempre incentivaram ao estudo e crescimento pessoal. Certamente o apoio e exemplo de vocês desde os primeiros passos escolares me faz estar aqui hoje. Aprendi com vocês que a única herança que tem valor e jamais será retirada de mim é a educação.

Enfim, a todos amigos, familiares e colegas que direta ou indiretamente, participaram desta conquista. O meu eterno obrigada!

Sumário

1. Introdução 1
1.1 Poliomavírus.....1
1.2 Nefropatia por vírus BK 3
1.2.1 Mecanismo de lesão 3
1.2.2 Manifestações clínicas 4
1.2.3 Fatores de risco 5
1.2.4 Métodos diagnósticos.....8
1.2.5 Tratamento.....13
1.2.6 Prognóstico 21
1.3 Referências bibliográficas 22
2. Objetivos 28
2.1 Objetivos primários 28
2.2 Objetivos secundários.....28
3. Artigo científico redigido em inglês 29
4. Considerações finais 51
5. Anexos.....52

LISTA DE ABREVIATURAS

AgT	Antígeno T / t
BKV	Vírus BK
BKVAN	BK virus-associated nephropathy
CKD-EPI equation	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CMV	Citomegalovírus
CNI	Inibidor da calcineurina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HLA	Antígeno leucocitário humano
IL1	Interleucina 1
IL3	Interleucina 3
IL6	Interleucina 6
IS	Imunossupressor/Imunossupressores
ISCMPA	Instituição Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre
IVIg	Imunoglobulina humana intravenosa
JCV	JC vírus
PCR	Reação em cadeia da polimerase
qPCR	Reação em cadeia da polimerase - quantitativo
SV 40	Simian polyomavirus 40

RESUMO

Introdução: A nefropatia associada ao vírus BK (BKVAN) é importante complicação após o transplante renal, com prevalência entre 1-10% e perda do enxerto em aproximadamente 50% dos casos. Sem tratamento eficaz, sendo que a detecção viral precoce e redução da imunossupressão (IS) é a estratégia atual para prevenir a BKVAN. **Objetivos:** verificar incidência de BKVAN em um único centro e avaliar a resposta à redução dos imunossupressores através da análise de sobrevida do enxerto renal. **Métodos:** avaliação retrospectiva da coorte de transplantados renais com BKVAN comprovado por biópsia em comparação com pacientes sem BKVAN em relação a aspectos clínicos, imunossupressão e sobrevida do enxerto durante pelo menos 2 anos. **Resultados:** 58 biópsias comprovaram BKVAN entre 1532 transplantados renais no período de estudo, apresentando incidência cumulativa de 4,1% e tempo médio do transplante ao diagnóstico de 187 (IC 61-1275) dias. BKVAN foi associado ao sexo masculino receptor (p = 0,042), doador falecido (p = 0,007) e diabetes pré-existente (p = 0,017). Doze (20,6%) pacientes tiveram um episódio de rejeição aguda após o diagnóstico de BKVAN e redução de IS. A sobrevida do enxerto foi inferior para os pacientes com BKVAN e a sobrevida em 5 anos foi inferior para os estágios B de Banff (69,7%) em relação ao estágio A (80,8%) e não-BKVAN (88,0%) (p = 0,017). Treze (22,4%) pacientes com BKVAN perderam os enxertos, 9 (15,5%) atribuídos à infecção por BKV. Três pacientes com perda de enxerto associada ao BKV foram submetidos a novo transplante de rim e sem evidência de replicação viral (seguimento de 7, 12 e 31 meses). **Conclusão:** a incidência cumulativa em nosso estudo foi 4,1%, o que está de acordo com o relatado na literatura. Nenhuma conclusão sobre a melhor estratégia de tratamento pode ser elaborada neste momento, sendo necessários estudos complementares.

Palavras-chaves: poliomavírus, transplante renal, BK vírus.

1. Introdução

1.1. Poliomavírus

Os poliomavírus são pequenos vírus com 30 a 45nm, não envelopados, com capsídeo icosaédrico que abriga um genoma de DNA de cadeia dupla com mais de 5.000 pares de nucleotídeos (Eash e cols., 2006). Seu genoma é composto por: 1) uma região precoce altamente conservada, que codifica o chamado "antígeno T / t" (AgT), envolvido na transformação, replicação viral, regulação e expressão gênica; 2) uma região “tardia", codificando as três proteínas do capsídeo, chamadas VP1, VP2 e VP3 (DeCapri e cols., 2013), e 3) por uma proteína chamada agnoproteína, uma região reguladora não codificante localizada entre as outras duas, em que se estabelecem os determinantes para o início da replicação, a ligação do AgT e os elementos reguladores da transcrição (Bratt e cols., 1999).

A soroprevalência é de 60 a 80% em seres humanos (Stoian e cols., 1983; Gardner e cols., 1984; Bratt e cols., 1999; Drachenberg e cols., 1999; Randhawa e cols., 1999; Nickeleit e cols., 2000b; Hirsch, 2002; Burgos e cols., 2010) e a replicação ocorre no núcleo das células hospedeiras. As espécies mais relevantes que possuem potencial patogênico em seres humanos são o BK vírus (BKV), JC vírus e o Simian Vírus 40 (Hariharan, 2006).

O BKV foi inicialmente isolado em 1971 por Gardner e colaboradores na urina de um receptor de transplante renal sudanês que apresentava estenose ureteral (Gardner e cols., 1971). Após, foram relatados alguns casos semelhantes até ser descrito o primeiro caso de nefrite associada ao BKV (BKVAN, do inglês *BK virus-associated nephropathy*) por Purighalla e

colaboradores. (1995).

O vírus BK é dividido em quatro grupos sorológicos (I a IV) e genótipos, que podem ter diferentes graus de virulência. Em outro estudo, foram analisadas 19 biópsias renais com poliomavírus e, entre estas, 11 pacientes eram infectados pelo grupo sorológico I (Baksh e cols., 2001), sendo este o mais prevalente. O subtipo I é predominante em todo o mundo, seguido do subtipo IV predominando na Ásia e parte da Europa, e os subtipos II e III são raros em todo o mundo (Zhong e cols., 2009).

A infecção primária por BKV tende a ocorrer mais cedo na infância através da exposição oral e respiratória (Bratt e cols., 1999), além de transfusões sanguíneas, transplantes e gestação (Hirsch e Steiger, 2003). Em relação às manifestações clínicas da primoinfecção, poucas observações foram feitas em indivíduos submetidos à soroconversão de BKV, mas acredita-se que a maioria das infecções primárias sejam subclínicas variando desde casos assintomáticos, sintomas sugestivos de resfriado (Mäntyjärvi e cols., 1973; Randhawa e cols., 2002; Pang e cols., 2007), tonsilite (Goudsmit e cols., 1982) e cistite com ou sem hematúria (Hashida e cols., 1976). Após a infecção primária, em indivíduos imunocompetentes, o vírus entra em um período de latência com tropismo pelo trato urinário (células tubulares renais, cápsula de Bowman e células uroteliais) (Agha e Brennan, 2002; Randhawa e cols., 2002; Pang e cols., 2007). Também tem sido demonstrado DNA do poliomavirus em tecidos cervicais e vulvares do trato genital feminino e esperma masculino (Randhawa e cols., 2002).

A replicação ativa intermitente e excreção viral assintomática ocorrem em até 20% dos indivíduos imunocompetentes e em 10 a 60% dos pacientes imunocomprometidos (Bratt e cols., 1999; Drachenberg e cols., 1999; Howell e

cols., 1999; Nickeleit e cols., 2000a; Peinemann e cols., 2000; Bressollette-Bodin e cols., 2005). Entre os receptores de transplante renal, nefrite tubulointersticial e estenose ureteral são as principais consequências da infecção pelo BKV. A prevalência estimada de BKVAN é de 1 a 10% nesta população (Nickeleit e cols., 2000a; Hirsch e cols., 2002; Hirsch e cols., 2005; Dharnidharka e cols., 2009; Schold e cols., 2009; van Aalderen e cols., 2012), já a estenose ureteral é menos comum entre pacientes transplantados (Hirsch e Steiger, 2003).

1.2. Nefropatia associada ao BKV

1.2.1. Mecanismo de lesão

O mecanismo das lesões celulares nos túbulos proximais envolve vários componentes celulares do hospedeiro, incluindo microtúbulos, retículo endoplasmático e ativação de proteossoma. Ainda há evidência de o fator de transformação de crescimento β poder elevar a atividade precoce de BKV de uma maneira dependente da deformação, o que poderia explicar, pelo menos em parte, o papel potencial de certos fármacos imunossupressores na reativação do BKV (Kuypers, 2012).

Também é sugerido que citocinas produzidas por monócitos e as células T-*helper* 2 estejam envolvidas na patogênese da BKVAN e na contenção das respostas inflamatórias do hospedeiro, respectivamente, pois os receptores de transplante renal com alta carga viral de BKV têm níveis elevados na urina do receptor de IL1 solúvel proteína antagonista, IL 3, IL 6 e receptor solúvel de IL 6 em comparação com pacientes com BKV negativos

(Kuypers, 2012).

Sendo assim, evidenciou-se que a resposta imune do hospedeiro, características virais e o tipo, carga e sequência da terapia imunossupressora são igualmente importantes na determinação do equilíbrio clínico final entre a depuração adequada de BKV ou progresso para BKVAN (Kuypers, 2012).

1.2.2. Manifestações Clínicas

A infecção secundária pelo BKV geralmente é assintomática, podendo evoluir com uma elevação aguda ou piora progressiva das provas de função renal (Vasudev e cols., 2005; Dall e Hariharan, 2008) e pode ser devido à reativação do vírus latente ou reinfecção com uma nova cepa (Hirsch e cols., 2002). O início da doença se dá em média entre 10 e 13 meses após o transplante (Ramos, 2002; Sachdeva e cols., 2004; Vasudev e cols., 2005) e a evolução para perda do enxerto renal pode ocorrer em 30-60% dos casos após 2 a 3 anos de acompanhamento (Hussain e cols., 2002; Ramos, 2002; Vasudev e cols., 2005; Hariharan, 2006). Ocasionalmente pode manifestar-se como obstrução ureteral e hidronefrose, bem como casos de cistite hemorrágica (Gupta e cols., 2003). O envolvimento inicial costuma ser na medula renal e após evoluir com comprometimento do córtex renal, porém pode ser simultâneo em 70% casos (Drachenberg e cols., 2004).

A perda de aloenxertos deve-se principalmente à replicação viral extensa em células epiteliais tubulares que evoluem para necrose tubular franca. Embora potencialmente e totalmente reversível no início da doença, o dano viral persistente leva à fibrose intersticial irreversível e à atrofia tubular (Nickeleit e cols., 1999).

1.2.3. Fatores de Risco

Os fatores de risco para desenvolvimento de infecção pelo vírus não estão bem definidos, sendo descritos pacientes com função tardia do enxerto renal (Bressollette-Bodin e cols., 2005), extremos de idade, sexo masculino, trauma ureteral, diabetes mellitus, infecção por citomegalovírus (CMV), tratamento de rejeição aguda, etnia branca e uso de terapia de manutenção de glicocorticoides (Ramos, 2002; Olsen e cols., 2006; Randhawa e Ramos, 2007; Thomas e cols., 2007; Schold e cols., 2009; Sharif e cols., 2012; Knight e cols., 2013).

Entretanto, o grau de imunossupressão é provavelmente o fator de risco mais importante subjacente à infecção viral e à replicação de BKV, sendo considerado um marcador confiável do excesso de imunossupressão segundo Gralla e colaboradores (2012). A introdução de novos imunossupressores tem sido associada à BKVAN, mas nenhuma droga ou combinação imunossupressora específica foi relacionada conclusivamente (Gardner e cols., 1984; Nickeleit e cols., 2000b; Mengel e cols., 2003; Bressollette-Bodin e cols., 2005; Hirsch e cols., 2005; Dadhania e cols., 2008; Schold e cols., 2009)

Um estudo demonstrou que a incidência de BKVAN é oito vezes maior quando se utiliza o esquema tríplice contendo tacrolimo, micofenolato e glicocorticoide, e que o risco de BKVAN é 13 vezes maior em comparação com o grupo controle. Consequentemente, a sobrevida do enxerto em pacientes com BKV foi significativamente pior quando comparada com o grupo controle (Mengel e cols., 2003). No ano de 2005, Bressollete-Bodin e colaboradores compararam os pacientes imunossuprimidos com tacrolimo e com ciclosporina,

concluindo que a virúria e a viremia para BKV foi significativamente maior nos pacientes do primeiro grupo com seis e nove meses de avaliação. No acompanhamento de um ano deste mesmo grupo não foram identificados casos de BKVAN e isto foi provavelmente associado à interrupção da terapia com corticoide no terceiro mês após o transplante renal (Bressollette-Bodin e cols., 2005).

Em um estudo prospectivo foram randomizados 200 pacientes transplantados renais para receber imunossupressão com tacrolimo ou ciclosporina associados a micofenolato ou azatioprina, para avaliar a ocorrência de BKV em um ano de acompanhamento. Não houve diferença na ocorrência de virúria nos indivíduos recebendo tacrolimo em comparação com ciclosporina (36% *vs.* 31%), nem em indivíduos que receberam azatioprina em comparação com micofenolato (33% *vs.* 38%). Também não houve diferença na ocorrência de viremia para BKV entre os grupos (Brennan e cols., 2005). Não foram encontradas evidências de maior risco entre as drogas imunossupressoras em estudo de Vasudev e colaboradores (2005).

Outro fator de risco descrito é o uso da timoglobulina na indução para o transplante renal, entretanto dois estudos não demonstraram aumento na incidência de virúria ou viremia (Brennan e cols., 2005) ou BKVAN (Hirsch e cols., 2002).

Em uma análise de Binet e colaboradores na década de 1990, evidenciou-se que os episódios de rejeição recorrente e a terapia imunossupressora de alta dose, são fatores de risco para infecção manifesta do enxerto renal pelo BKV, que tem um pior prognóstico quando não acompanhada e tratada em tempo hábil, corroborando com as afirmações anteriores (Randhawa e cols., 1999). Também em outros dois estudos,

identificou-se que tratamento com doses elevadas de corticosteróides para rejeição é fator de risco para o aumento da patogenicidade de BKV (Hirsch e cols., 2002; Ramos, 2002).

A incompatibilidade ABO e o grau de incompatibilidade HLA (do inglês, *Human Leukocyte Antigen*, ou antígeno leucocitário humano) do doador e receptor também são fatores de risco em investigação, provavelmente por aumento na taxa de rejeição e aumento na intensidade de imunossupressão desses pacientes (Awadalla e cols., 2004; Sharif e cols., 2012; Masutani e cols., 2013).

Foram analisados o grau de compatibilidade HLA entre doador e receptor e a associação dos antígenos HLA em 40 pacientes transplantados renais com BKVAN comparados com um grupo controle de 404 receptores de transplante não afetados e que receberam imunossupressão com tacrolimus sem indução. As análises estatísticas de regressão logística univariada e multivariada mostraram associação significativa entre BKVAN e incompatibilidade HLA, porém não houve associação com qualquer alelo HLA específico. Foi proposto que a incompatibilidade HLA promova o desenvolvimento de BKVAN através de processos inflamatórios relacionados à rejeição e imunossupressão mais intensa, levando à reativação do vírus e lesão do epitélio tubular (Awadalla e cols., 2004).

Outro estudo analisou retrospectivamente os receptores adultos de transplantes de rim incompatíveis entre 1998 e 2010 (62 pacientes ABO-incompatíveis e 221 pacientes HLA incompatíveis) quanto à BKVAN comprovada por biópsia (protocolar ou por causa). O risco de BKVAN foi significativamente maior entre os pacientes com incompatibilidade ABO que os com incompatibilidade HLA (17,7% *vs.* 0,9%; P = 0,008) (Sharif e cols., 2012).

Masutani e colaboradores tentaram identificar quais HLAs estariam associados à infecção pelo BKV em uma coorte retrospectiva envolvendo 998 pacientes transplantados de rim com viremia, analisando os parâmetros clínicos e a correspondência do doador-receptor para HLA específicos. Na análise multivariada, a correspondência de HLA-A2, HLA-B44 e HLA-DR15 foi associada a baixo risco de viremia por BKV, e não foi identificado maior risco associado a nenhum HLA específico (Masutani e cols., 2013).

Alguns estudos relataram a associação entre a ocorrência de viremia por BKV e infecção por citomegalovírus (Howell e cols., 1999; Toyoda e cols., 2005), e uma associação negativa entre virúria por JC vírus e virúria por BKV (Cheng e cols., 2011).

1.2.4. Métodos Diagnósticos

A maioria dos casos de BKVAN ocorre no primeiro ano pós-transplante, mas cerca de um quarto dos casos são diagnosticados mais tarde. De forma geral, se manifesta no final do primeiro e início do segundo ano, em média no décimo terceiro mês. Apenas 5% dos casos ocorrerão entre o segundo e o quinto ano após o transplante renal (Ramos, 2002; Hirsch e Steiger, 2003; Vasudev e cols., 2005).

É importante realizar a triagem para replicação de poliomavírus, uma vez que permite uma intervenção precoce reduzindo a perda do aloenxerto e retorno para diálise (Hirsch e cols., 2002; Buehrig e cols., 2003; Brennan e cols., 2005; Hirsch e cols., 2005). Para equilibrar o custo e a eficiência de rastreio, recomenda-se que os receptores de transplante renal sejam rastreados pelo menos a cada três meses durante os dois primeiros anos pós-

transplante e anualmente até o quinto ano pós-transplante. Também deve ser realizado o rastreio sempre que o paciente apresentar declínio inexplicável da função renal ou realizar tratamento para rejeição aguda (Hirsch e cols., 2005; KDIGO, 2009).

Um estudo sugere que fazer o rastreamento da infecção por BKV mais frequente (por exemplo, quinzenalmente durante os primeiros 3 meses, mensalmente aos 3-6 meses e a cada 3 meses depois) aumentaria o fardo financeiro inicialmente, mas que após 2 anos 61% dos custos da triagem seriam cobertos pela redução dos custos pela redução da imunossupressão. Sendo assim, dependendo dos recursos e da frequência de seguimento clínico, qualquer uma das duas estratégias de triagem de BKV poderia ser implementada no acompanhamento pós transplante renal (Kuypers, 2012).

No serviço de transplante renal da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, o rastreio é mensal nos primeiros seis meses de imunossupressão através da pesquisa de células *decoy* na urina (citologia urinária) e após, a cada três meses até finalizar o primeiro ano de transplante renal. É realizada a viremia quantitativa nos casos em que é positiva a citologia em duas amostras. Ao confirmar viremia significativa é indicado redução da imunossupressão e realização de biópsia renal com imunohistoquímica, independente da função renal. Além disso, os ensaios de rastreio são realizados sempre que uma biópsia é realizada por disfunção do aloenxerto, o que está de acordo com Hirsch e colaboradores (2005). Vale ressaltar que o rastreio realizado através da pesquisa de células *decoy* e DNA viral urinário precede o diagnóstico da viremia em torno de 4 semanas (Hirsch e cols., 2002; Brennan e cols., 2005) e a confirmação histológica em 12 semanas (Hirsch e cols., 2005).

As células *decoy* são identificadas através da citologia urinária, e são

células tubulares renais com inclusões virais intranucleares provenientes dos segmentos distais e do ducto coletor, bem como das camadas superficiais do epitélio urotelial (Nickeleit e cols., 1999), sendo um sinal de replicação viral fortemente sugestiva de infecção por poliomavírus (Hirsch e cols., 2002; Sachdeva e cols., 2004). No entanto, possuem baixo valor preditivo para identificar BKVAN, mesmo quando a presença do vírus é abundante (Hirsch e cols., 2002; Hariharan, 2006), com especificidade de 71% (Hirsch e cols., 2002), podendo representar um bom teste para rastreamento (Hariharan, 2006). Outro fator importante é a relação custo-benefício, com um estudo demonstrando evidente redução dos valores gastos no período de dois anos quando comparado citologia urinária (positividade de células *decoy* sustentada no intervalo de duas semanas em duas ou mais amostras urinárias) com a monitorização pela técnica de PCR na urina (Kuypers, 2012).

Este segundo método de rastreio, virúria por PCR quantitativo apresenta sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo de 70%, 70%, 53% e 83% para qualquer viremia isolada e 91%, 66%, 33% e 98% para viremia sustentada, respectivamente (Brennan e cols., 2005). Já o PCR qualitativo de urina tem aumento de 18% na sensibilidade em detectar BKV quando comparado à citologia urinária (Brennan e cols., 2005).

Em caso de teste de rastreio positivo, é recomendado que o resultado de triagem seja confirmado dentro de quatro semanas ou seguidos de ensaios de diagnóstico quantitativos adjuntos de maior valor preditivo positivo para BKVAN, como a quantificação da carga de DNA de BKV no plasma (viremia) (Limaye e cols., 2001; Agha e Brennan, 2002; Hirsch e cols., 2002). O nível plasmático de BKV >10.000 cópias por ml está associado a uma especificidade

de 93% para a presença de BKVAN (Hirsch e cols., 2002; Hirsch e Steiger, 2003; Randhawa e cols., 2004).

Diretrizes de 2005 recomendam que virúria acima de 10^7 cópias por ml e/ou viremia superior a 10^4 cópias por ml persistindo por 3 semanas são altamente sugestivas de BKVAN, sendo indicada biópsia do aloenxerto (Hirsch e cols., 2005). Outros autores também encontraram uma correlação entre PCR negativo na urina e PCR negativo no plasma (Randhawa e Demetris, 2000).

O diagnóstico definitivo de BKVAN é estabelecido através da biópsia renal que também auxilia na diferenciação com rejeição aguda, toxicidade por drogas e recorrência de doença de base (Hirsch e Steiger, 2003). O diagnóstico de BKVAN é confirmado por mudanças citológicas características (corpos de inclusão de poliomavírus intranucleares em células parietais epiteliais tubulares e/ou glomerulares, frequentemente associadas à necrose celular epitelial e lesão tubular aguda) (Nickeleit e cols., 1999; Buehrig e cols., 2003) associadas a um teste imunohistoquímico positivo, com anticorpo dirigido especificamente contra BKV ou contra SV40, com especificidade de quase 100% (Drachenberg e cols., 2004; Hirsch e cols., 2005; Wiseman, 2009). Alguns centros utilizam a hibridização *in situ* para identificar genomas de poliomavírus ou microscopia eletrônica (Hirsch e cols., 2005).

É necessário ressaltar que a sensibilidade da biópsia renal pode ser reduzida em virtude da possibilidade de ocorrência focal da BKVAN (Nickeleit e cols., 1999; Drachenberg e cols., 2001; Hirsch e Steiger, 2003; Drachenberg e cols., 2004) e pode ser associado a diferentes graus de infiltrados de células inflamatórias, atrofia tubular e fibrose (Nickeleit e cols., 1999; Buehrig e cols., 2003). A lesão tubular induzida por poliomavírus é vista como correlação morfológica maior para a disfunção do aloenxerto e o infiltrado inflamatório é

variável, podendo ser rico em leucócitos polimorfonucleares e/ou linfócitos e células plasmáticas, algumas vezes mostrando também uma rejeição concomitante do aloenxerto (Hirsch e cols., 2005).

Um sistema de classificação histológica foi proposto para correlacionar a extensão do dano tecidual do enxerto (Sis e cols., 2010). O padrão histológico A é caracterizado por alterações citopatogênicas virais leves a moderadas (<25% dos núcleos da biópsia), acompanhadas apenas de inflamação intersticial mínima, fibrose e atrofia tubular (≤ 10%). No padrão B, as alterações citopatogênicas variam de moderadas (11 a 25%) a extensas (26% a > 50%), juntamente com inflamação intersticial leve (11-25%), moderada (26-50%) e grave (> 50%), descrevendo os subtipos B1, B2 e B3, respectivamente. A atrofia tubular e fibrose intersticial são mínimas, leves (11-25%) e moderadas (26-50%) (26-50%) em B1, B2 e B3, respectivamente. No padrão C, fibrose intersticial e atrofia tubular severas (> 50%) indicam danos crônicos irreversíveis do aloenxerto associados a graus variáveis de inflamação intersticial e alterações citopatogênicas virais (Hirsch e cols., 2009).

Através desta classificação, foi analisado risco de perda do enxerto renal, sendo constatado que os piores padrões histológicos de BKVAN estão associados a um risco crescente de perda de enxerto (BKVAN A: 12,9%, B1: 40%, B2: 56%, B3: 77,7% e C: 100%) (Hirsch e cols., 2009).

A biópsia renal é considerada necessária para o diagnóstico inicial, mas a contribuição da avaliação tecidual em estágios posteriores ainda não é conhecida, uma vez que temos poucos estudos na área e a descrição sistemática de alterações histológicas tardias após o diagnóstico e tratamento da BKVAN não está disponível (Menter e cols., 2013; Drachenberg e cols., 2017).

1.2.5. Tratamento

O manejo da infecção tem como objetivo reduzir a replicação viral, evitar episódios de rejeição aguda associada e preservar a função renal. Entretanto, atualmente não existe uma terapia antiviral eficaz estabelecida para BKVAN, que está associada com perda do enxerto em 15 a 50% dos indivíduos afetados (Howell e cols., 1999; Ramos, 2002; Wadei e cols., 2006). Dada a ausência de um agente antiviral específico comprovado para poliomavírus e a clara relação de BKVAN com a carga de imunossupressão, em um primeiro momento, deve-se considerar o tratamento primário como a redução judiciosa da imunossupressão, porém as descrições publicadas dos métodos utilizados para reduzir a imunossupressão variam tanto no grau de redução quanto na troca da droga.

Nos estudos iniciais sobre tratamento da BKVAN, tem-se relato do uso de esteróides em pulso devido à ansiedade sobre a rejeição aguda concomitante desencadeada pela presença de tubulite (Celik e cols., 2003). Atualmente, a estratégia utilizada com mais frequência é a redução da imunossupressão permitindo ao sistema imune do hospedeiro combater a infecção viral (Brennan e cols., 2005; Hirsch e cols., 2005), o que pode implicar aumento do risco de rejeição aguda (Bressollette-Bodin e cols., 2005). Análises de Celik e colaboradores mostraram que a redução da imunossupressão é mais eficaz na redução da carga viral do que a terapia com esteróides ou o não tratamento com qualquer alteração na imunossupressão, observando na sua análise que a creatinina sérica permaneceu estável em 20% e piorou em 80% das biópsias nos pacientes não tratados (Celik e cols.,

2003).

Já Vasudev e colaboradores demostraram que a redução de imunossupressão estabiliza a função renal de transplantados com BKVAN (Vasudev e cols., 2005). Entretanto, a eficácia desta estratégia não foi avaliada sistematicamente. Estudos retrospectivos e séries de casos examinaram a eficácia de diminuir a imunossupressão geral (Randhawa e cols., 1999; Celik e cols., 2003; Saad e cols., 2008; Wiseman, 2009) mas uma estratégia ideal ainda não foi definida.

Quando se questiona a redução mais agressiva da imunossupressão, suprimindo o uso de uma droga utilizada previamente, também ainda não se têm respostas definitivas. Weiss e colaboradores compararam uma estratégia de redução "agressiva" em que uma droga (principalmente o inibidor da calcineurina) foi eliminada *versus* uma redução padrão de agentes em um regime de 3 medicamentos. Os pacientes submetidos a uma redução "agressiva" tiveram significativamente maior sobrevida do enxerto em relação aos pacientes com somente redução das doses (Weiss e cols., 2008).

Outra alternativa seria a troca da imunossupressão de tacrolimo para ciclosporina, mas não se observaram resultados animadores (Wadei e cols., 2006). Um estudo recente de conversão para sirolimo ou everolimo associada a tacrolimo ou ciclosporina mostrou títulos de virúria significativamente reduzidos no grupo de conversão, apesar das limitações do mesmo (Yen e cols., 2016).

Além da redução da imunossupressão, as terapias auxiliares que ganharam maior interesse incluem o agente antiviral cidofovir, a leflunomida, antibióticos como fluoroquinolonas e imunoglobulina humana intravenosa (IVIg), um agente imunomodulador. Infelizmente nenhum estudo clínico

prospectivo randomizado testou o valor de adicionar esses agentes à estratégia de redução da imunossupressão.

O cidofovir tem sido usado no tratamento da infecção, mas este agente é nefrotóxico e excretado pelo rim, necessitando adequada hidratação durante o seu uso. É um inibidor de DNA-polimerase viral com atividade antiviral *in vitro* (Farasati e cols., 2005), e seu efeito inibidor *in vivo* está relacionado à inibição da replicação do genoma do BKV intracelular, dependente dos fatores de replicação das células hospedeiras e, portanto, está associado a altos graus de toxicidade (Bernhoff e cols., 2008). Clinicamente, o cidofovir é utilizado para tratamento do citomegalovírus e está associado à diminuição da função renal e proteinúria. É altamente concentrado na urina e, portanto, doses de 1/10 a 1/20 das doses de tratamento para o citomegalovírus (por exemplo, 0,25 a 0,5 mg / kg a cada 1 a 2 semanas) podem ser utilizadas em pacientes com BKVAN (Kuypers e cols., 2005).

Uma alternativa a ser investigada é a leflunomida, um análogo de pirimidina aprovado para o tratamento de pacientes com artrite reumatóide. Além de possuir atividade imunossupressora, parece eficaz contra o citomegalovírus e parece ter atividade contra o BKV *in vitro* e em animais (Farasati e cols., 2005; Chong e cols., 2006; Josephson e cols., 2006). O uso desta droga associada à redução da imunossupressão em pacientes com BKVAN demonstrou importante redução na viremia e virúria (Josephson e cols., 2006; Leca e cols., 2008). Um estudo constatou que a terapia com leflunomida, onde os níveis sanguíneos da droga são cuidadosamente monitorados, parece ser um tratamento seguro e eficaz para a BKVAN (Josephson e cols., 2006). Por outro lado, Krisl e colaboradores não demonstrou efeito na depuração viral do BKV (Krisl e cols., 2012). Desta forma,

ainda são necessários mais estudos sobre o uso da leflunomida na BKVAN (Faguer e cols., 2007).

Em relação ao uso de antibióticos do grupo das quinolonas, a hipótese de atividade antiviral contra o BKV deve-se à inibição da enzima girase, consequentemente inibindo as helicases, que são essenciais para a replicação do DNA viral (Leung e cols., 2005; Josephson e cols., 2006; Ali e cols., 2007; Gabardi e cols., 2010). Gabardi e colaboradores concluíram que as quinolonas são efetivas na prevenção de viremia por BKV após transplante renal quando utilizadas em um curso de 1 mês após o transplante, promovendo taxas significativamente mais baixas de viremia por BKV ao final do primeiro ano em comparação com aqueles sem fluoroquinolona; e na análise do subgrupo, a exposição à fluoroquinolona para o tratamento de infecções bacterianas no prazo de 3 meses após o transplante foi associada a taxas de viremia BKV significativamente mais baixas no primeiro ano (Gabardi e cols., 2010). Dois estudos randomizados não mostraram nenhum benefício da levofloxacina, tanto profilaticamente como para tratamento para a viremia por BKV ativa (Knoll e cols., 2014; Lee e cols., 2014). Sendo assim, esses achados não suportam o uso de levofloxacina para prevenir a infecção pelo BKV pós-transplante.

Finalmente, a imunoglobulina endovenosa (IVIg, *intravenous immunoglobulin*) foi utilizada em pacientes com BKVAN como agente imunomodulador e com potencial antiviral. O primeiro estudo a relatar uma série clínica envolvendo IVIg e redução de imunossupressão para tratamento da BKVAN foi em 2006, em que após um acompanhamento de 15 meses, 88% dos pacientes estavam livres de diálise embora a função renal não tenha apresentado uma melhora estatisticamente significativa (Sener e cols., 2006).

Depois, foi relatada a estabilização da função renal, a resolução histológica da BKVAN e a redução significativa da viremia BKV em um paciente pediátrico com o uso de IVIg, após uma resposta inadequada à redução da imunossupressão e à terapia com cidofovir (Sharma e cols., 2009). A eficácia do uso de IVIg não foi consolidada, e novos ensaios multicêntricos randomizados prospectivos são necessários para validar a utilidade da droga no tratamento de BKVAN.

Vale lembrar ainda que a IVIg tem alto custo financeiro, o que limita a sua utilização, além de ter efeitos colaterais conhecidos que vão desde reações alérgicas, cefaleias, disfunção renal e trombose venosa profunda (Wittstock e cols., 2003).

A análise de Wadei e colaboradores não encontrou evidências para um efeito benéfico de intervenções auxiliares (incluindo uso de IVIg) em comparação com a redução isolada da imunossupressão (Wadei e cols., 2006).

Diante do exposto, continua difícil definir uma estratégia padrão para reduzir a terapia imunossupressora quando a viremia de BKV ou BKVAN ocorre em receptores de transplante renal por uma série de razões, dentre elas as diferenças na distribuição de fatores de risco conhecidos para BKVAN em diferentes populações de estudo; a falta de estudos prospectivos de intervenção aleatória; a variada mistura de casos de pacientes com viruria BKV, viremia ou BKVAN; a falta de esquemas de redução padronizados predefinidos para terapia imunossupressora; a falta de controle de exposição longitudinal para todos os medicamentos imunossupressores utilizados; a falta de estratégias comparáveis de monitoramento de BKV e o viés de relatórios (Kuypers, 2012). Sendo assim, há necessidade de estudos prospectivos e randomizados maiores para se definir a eficácia das terapias existentes até o

momento.

Além dos estudos citados acima, também outros foram revisados, porém são limitados e todos se encontram resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Estudos sobre tratamentos diversos para BKV E BKVAN.

Tratamento	Referência	Ajuste de imunoterapia	Pacientes com BKV ou BKVAN	Desfechos	Efeitos adversos
Imunossupres-sores	Ramos, 2002	Redução da IC em 50% associada a descontinuação ou redução do micofenolato.	67	A função de enxerto não foi estatisticamente diferente entre os grupos no final do acompanhamento.	8 pacientes apresentaram rejeição aguda.
	Celik e cols., 2003	Grupo 1: tratamento com doses elevadas de corticosteroides. Grupo 2: redução da imunossupressão Grupo 3: sem alteração na imunossupressão.	45	Aumento ou persistência da carga viral em 16/20 no grupo 1, 3/10 no grupo 2, 3/6 no grupo 3.	Sem eventos adversos relatados.
	Vasudev e cols., 2005	Redução da imunossupressão em 40%	25	Estabilização da função renal em 16 dos 25 pacientes.	3 dos 25 pacientes apresentaram rejeição. 9 pacientes evoluíram para perda da função renal.
	Saad e cols., 2008	Redução do tacrolimo e do micofenolato mofetil em 41 e 44%	24	Redução da viremia em todos os pacientes.	3 pacientes tiveram rejeição aguda. 1 paciente com falha do enxerto após reativação do BKV.
	Weiss e cols., 2008	Descontinuação do CNI ou redução de >/=50% e < 50% do CNI no primeiro mês após o diagnóstico.	35	A eliminação precoce de um imunossupressor foi significativamente mais eficaz na preservação da função do enxerto do que uma estratégia de redução de	1 paciente em cada grupo deve rejeição aguda.

				dois agentes.	
	Yen e cols., 2016	Conversão para Sirilimo ou Everolimo ou Não conversão	63	O grupo da conversão teve redução significativa da virúria.	limitações importantes por ser retrospectivo, o número de casos foi relativamente pequeno e os pacientes inscritos não apresentaram infecções graves pelo vírus BK
Cidofovir	Kyupers e cols., 2005	Redução do inibidor da calcineurina e do micofenolato mofetil associado ou não ao cidofovir	21	6/8 pacientes que usaram cidofovir tiveram redução do BKV.	Duas rejeições agudas no grupo do cidofovir. Nenhum pciente do grupo do cidofovir teve perda do enxerto renal.
Leflunomida	Josephson e cols., 2006	Leflunomida ou leflunomida e cidofovir.	26	22/26 com redução significativa da carga viral na urina e no soro.	4/26 não tiveram nível sérico da droga mantida e não tiveram redução da virúria ou do vírus no soro.
	Faguer e cols., 2007	Redução da imunossupressão e leflunomida	12	5/12 ausência de vírus no soro após tratamento.	4/12 estabilizaram função renal e 2/12 tiveram piora da função renal
	Leca e cols., 2008	Grupo 1: 12/21 dose baixa de leflunomida 9/21 dose alta de leflunomida	21	Sem redução significativa a viremia.	3/12 com perda do enxerto. 1/9 com perda do enxerto.

	Krisl e cols., 2012	52 tratados com leflunomida, 24 não	76	Sem redução significativa da viremia.	15% dos pacientes que receberam leflunomida tiveram rejeição aguda
Fluoroquinolonas	Gabardi e cols., 2010	Ciprofloxacino ou levofloxacino durante 1 mês	Grupo I: 160 pacientes no grupo controle. Grupo II: 25 receberam fluoroquinolonas.	Viremia maior após 1º ano de trasnplante nos pacientes que não receberam fluoroquinolona.	6 pacientes do grupo 1 apresentram rejeição aguda.
	Lee e cols., 2014	Levofloxacino (20/39) ou placebo (19/39) e redução da imunossupressão	39	Sem diferença significativa da redução da viremia entre os grupos.	2/20 pacientes desenvolveram dor no tendão de Aquiles. 1/20 rejeição aguda.
	Knoll e cols., 2014	Levofloxacino a partir do 5º pós-operatório, mantido por 3 meses ou placebo.	154	Virúria sem diferença significativa entre os dois grupos.	Aumento da resistência bacteriana no grupo que uso antibiótico.
IVIg	Sener e cols., 2006	IVIg e redução da imunossupressão em 50%.	8	- 4/8 com viremia negativa. - 1 paciente retorno para diálise	2/8 tiveram rejeição aguda
	Wadei e cols, 2006	Cidofovir (55%) IVIg (20%) Conversão para ciclosporina (55%)	55	-Nenhuma intervenção isolada foi associada com resultados melhorados.	-Rejeição celular aguda em 9 pacientes. - 8 pacientes com perda do enxerto renal. - Não teve efeitos adversos associados a baixa dose de cidofovir, IVIg e a conversão para ciclosporina.

1.2.6. Prognóstico

Após o diagnóstico da BKVAN, em torno de 50% dos pacientes evoluem para perda progressiva de função do enxerto renal em 2 anos (Ramos, 2002; Gupta e cols., 2003; Sachdeva e cols., 2004; Bressollette-Bodin e cols., 2005), com necessidade de retorno a terapia renal substitutiva. Estudo retrospectivo, comparativo demonstrou sobrevida média do enxerto de 47,8 meses e 88,7 meses, respectivamente, para pacientes com e sem presença de BKVAN (Bressollette-Bodin e cols., 2005). Na ausência de intervenções, a falência do enxerto é evidenciada em 45% dos casos após 6 meses do diagnóstico (Sharif e cols., 2012). O diagnóstico precoce da replicação viral permite intervenção terapêutica com redução do risco de desenvolvimento da doença e, por conseguinte, da perda de enxerto (Sachdeva e cols., 2004; Knight e cols., 2013).

Sendo assim, a BKVAN tem se tornado um problema emergente na população de receptores de transplante renal, apresentando prevalência elevada e sem tratamento específico, podendo levar a perda precoce do enxerto com grande morbidade, fazendo com que o paciente retorne a programas de terapia de substituição renal, o que eleva os custos do tratamento, sendo motivo de estudo em centros transplantadores de todo o mundo.

1.3. Referências bibliográficas

Agha IA, Brennan DC. BK Virus and current immunosuppressive therapy. Graft 2002;5(suppl 1):S65-S72.

Ali SH, Chandraker A, DeCaprio JA. Inhibition of Simian virus 40 large T antigen helicase activity by fluoroquinolones. Antiviral Therapy 2007;12:1-6.

Awadalla Y, Randhawa P, Ruppert K, Zeevi A, Duquesnoy RJ. HLA mismatching increases the risk of BK virus nephropathy in renal transplant recipients. Am J Transplant 2004;4(10):1691-1696.

Baksh FK, Finkelstein SD, Swalsky PA, Stoner GL, Ryschkewitsch CF, Randhawa P. Molecular genotyping of BK and JC viruses in human polyomavirus-associated interstitial nephritis after renal transplantation. Am J Kidney Dis 2001;38(2):354-365.

Bernhoff E, Gutteberg TJ, Sandvik K, Hirsch HH, Rinaldo CH. Cidofovir inhibits polyomavirus BK replication in human renal tubular cells downstream of viral early gene expression. Am J Transplant 2008;8(7):1413-1422.

Binet, I., Nickeleit, V., Hirsch, H. H., Prince, O., Dalquen, P., Gudat *et al*. (1999). Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. Transplantation, 67(6), 918-922.

Bratt G, Hammarin AL, Grandien M, Hedquist BG, Nennesmo I, Sundelin B*, et al.* BK virus as the cause of meningoencephalitis, retinitis and nephritis in a patient with AIDS. AIDS 1999;13:1071-1075.

Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M*, et al.* Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. Am J Transplant 2005;5(3):582-594.

Bressollette-Bodin C, Coste-Burel M, Hourmant M, Sebille V, Andre-Garnier E, Imbert-Marcille BM. A prospective longitudinal study of BK virus infection in 104 renal transplant recipients. Am J Transplant 2005;5(8):1926-1933.

Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers W, Gloor JM*, et al.* Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. Kidney Int 2003;64:665-673.

Burgos D, Jironda C, Martin M, Gonzalez-Molina M, Hernandez D. BK-virus-associated Nephropathy. Nefrologia 2010;30(6):613-617.

Celik B, Shapiro R, Vats A, Randhawa PS. Polyomavirus allograft nephropathy: sequential assessment of histologic viral load, tubulitis, and graft function following changes in immunosuppression. Am J Transplant 2003;3(11):1378-1382.

Cheng XS, Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C, Gaudreault-Keener M, Major EO*, et al.* Inhibitory interactions between BK and JC virus among kidney transplant recipients. J Am Soc Nephrol 2011;22(5):825-831.

Chong AS, Zeng H, Knight DA, Shen J, Meister GT, Williams JW*, et al.* Concurrent antiviral and immunosuppressive activities of leflunomide in vivo. Am J Transplant 2006;6(1):69-75.

Dadhania D, Snopkowski C, Ding R, Muthukumar T, Chang C, Aull M*, et al.* Epidemiology of BK virus in renal allograft recipients: independent risk factors for BK virus replication. Transplantation 2008;86(4):521-528.

Dall A, Hariharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3(Suppl 2):S68-75.

DeCaprio, J. A., Garcea, R. L. A cornucopia of human polyomaviruses. Nature reviews Microbiology 2013;11(4), 264.

Dharnidharka VR, Cherikh WS, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. Transplantation 2009;87(7):1019-1026.

Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, Bourquin PM, Simsir A, Fink J*, et al.* Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. Human Pathology 1999;30(8):970-977.

Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, Wali R, Crowder C, Nogueira J*, et al.* Histological patterns of Polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. Am J Transplant 2004;4:2082-2092.

Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Chaudhry MR, Ugarte R, Mavanur M, Thomas B*, et al.* Histological evolution of BK Virus-associated nephropathy: importance of integrating clinical and pathological findings. Am J Transplant 2017;17(8):2078-2091.

Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Ramos E, Fink JC, Wali R*, et al.* Morphological spectrum of Polyoma Virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology. Am J Transplant 2001;1:373-381.

Eash S, Manley K, Gasparovic M, Querbes W, Atwood WJ. The human polyomaviruses. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS 2006; 63: 865-876.

Faguer S, Hirsch HH, Kamar N, Guilbeau-Frugier C, Ribes D, Guitard J*, et al.* Leflunomide treatment for polyomavirus BK-associated nephropathy after kidney transplantation. Transpl Int 2007;20(11):962-969.

Farasati NA, Shapiro R, Vats A, Randhawa P. Effect of Leflunomide and Cidofovir on replication of BK virus in an *in vitro* culture system. Transplantation 2005;79(1):116-118.

Gabardi S, Waikar SS, Martin S, Roberts K, Chen J, Borgi L*, et al.* Evaluation of fluoroquinolones for the prevention of BK viremia after renal transplantation. Clin J Am Soc Nephrol 2010;5(7):1298-1304.

Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. Lancet 1971;i:1253-1257.

Gardner SD, Mackenzie EFD, Smith C, Porter AA. Prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. J Clin Pathol 1984;37:578-586.

Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK Virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. J Med Virol 1982;10(2):91-99.

Gralla J, Huskey J, Wiseman AC. Trends in immune function assay (ImmuKnow; Cylex) results in the first year post-transplant and relationship to BK virus infection. Nephrol Dial Transplant 2012;27(6):2565-2570.

Gupta M, Miller F, Nord EP, Wadhwa NK. Delayed renal allograft dysfunction and cystitis associated with human polyomavirus (BK) infection in a renal transplant recipient: a case report and review of literature. Clinical Nephrology 2003;60(6):405-414.

Hariharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. Kidney Int 2006;69(4):655-662.

Hashida Y, Gaffney PC, Yunis EJ. Acute hemorrhagic cystitis of childhood and papovavirus-like particles. J Pediatr 1976;89(1):85-87.

Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. Am J Transpl 2002;2:25-30.

Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch M*, et al.* Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. N Engl J Med 2002;347(7):488-496.

Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. Lancet Infect Dis 2003;3(10):611-623.

Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP*, et al.* Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. Transplantation 2005;79(10):1277-1286.

Hirsch HH, Randhawa P, AST Infectious Diseases Community of Practice. BK virus in solid organ transplant recipients. Am J Transplant 2009;9(Suppl 4):S136-146.

Howell DN, Smith SR, Butterly DW, Klassen PS, Krigman HR, Burchette JLJ*, et al.* Diagnosis and management of BK Polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. Transplantation 1999;68(9):1279-1288.

Hussain SA, Breshahan B, Cohen EP, Hariharan S. Rapid Kidney allograft failure in patients with polyoma virus nephritis with prior treatment with antilymphocyte agents. Clin Transplant 2002;16:43-47.

Josephson MA, Gillen D, Javaid B, Kadambi P, Meehan S, Foster P*, et al.* Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. Transplantation 2006;81(5):704-710.

KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Am J Transplant 2009;9(Suppl 3):S1-S157.

Knight RJ, Gaber LW, Patel SJ, DeVos JM, Moore LW, Gaber AO. Screening for BK viremia reduces but does not eliminate the risk of BK nephropathy: a single-center retrospective analysis. Transplantation 2013;95(7):949-954.

Knoll GA, Humar A, Fergusson D, Johnston O, House AA, Kim SJ*, et al.* Levofloxacin for BK virus prophylaxis following kidney transplantation: a randomized clinical trial. JAMA 2014;312(20):2106-2114.

Krisl JC, Taber DJ, Pilch N, Chavin K, Bratton C, Thomas B*, et al.* Leflunomide efficacy and pharmacodynamics for the treatment of BK viral infection. Clin J Am Soc Nephrol 2012;7(6):1003-1009.

Kuypers DR, Vandooren AK, Lerut E, Evenepoel P, Claes K, Snoeck R, et al. Adjuvant low-dose cidofovir therapy for BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. Am J Transpl 2005;5(8):1997-2004.

Kuypers DR. Management of polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients. Nat Rev Nephrol 2012;8(7):390-402.

Leca N, Muczynski KA, Jefferson JA, de Boer IH, Kowalewska J, Kendrick EA, et al. Higher levels of leflunomide are associated with hemolysis and are not superior to lower levels for BK virus clearance in renal transplant patients. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3(3):829-835.

Lee BT, Gabardi S, Grafals M, Hofmann RM, Akalin E, Aljanabi A*, et al.* Efficacy of levofloxacin in the treatment of BK viremia: a multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. Clin J Am Soc Nephrol 2014;9(3):583-589.

Leung AYH, Chan MTL, Yuen K-Y, Cheng VCC, Chan K-Y, Wong CLP*, et al.* Ciprofloxacin decreased polyoma BK virus load in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Clin Infect Dis 2005;40:528-537.

Limaye AP, Jerome KR, Kuhr CS, Ferrenberg J, Huang ML, Davis CL*, et al.* Quantitation of BK virus load in serum for the diagnosis of BK virus-associated nephropathy in renal transplant recipients. J Infect Dis 2001;183(11):1669-1672.

Mäntyjärvi RA, Meurman OH, Vihma L, Berglund B. A human papovavirus (B.K.), biological properties and seroepidemiology. Ann Clin Res 1973;5:283-287.

Masutani K, Ninomiya T, Randhawa P. HLA-A2, HLA-B44 and HLA-DR15 are associated with lower risk of BK viremia. Nephrol Dial Transplant 2013;28(12):3119-3126.

Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, Eden G, Schwarz A, Haller H*, et al.* Incidence of polyomavirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. Nephrol Dial Transplant 2003;18(6):1190-1196.

Menter T, Mayr M, Schaub S, Mihatsch MJ, Hirsch HH, Hopfer H. Pathology of resolving Polyomavirus-associated nephropathy. Am J Transplant 2013 13(6):1474-1483.

Nickeleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P*, et al.* Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. J Am Soc Nephrol 1999;10:1080-1089.

Nickeleit V, Hirsch HH, Zeiler M, Gudat F, Prince O, Thiel G*, et al.* BK-virus nephropathy in renal transplants - tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. Nephrol Dial Transplant 2000a;15:324-332.

Nickeleit V, Klimkait T, Binet I, Dalquen P, Del Zenero V, Thiel G*, et al.* Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. N Engl J Med 2000b;342(18):1309-1315.

Olsen GH, Andresen PA, Hilmarsen HT, Bjorang O, Scott H, Midtvedt K*, et al.* Genetic variability in BK Virus regulatory regions in urine and kidney biopsies from renal-transplant patients. J Med Virol 2006;78(3):384-393.

Pang XL, Doucette K, LeBlanc B, Cockfield SM, Preiksaitis JK. Monitoring of polyomavirus BK virus viruria and viremia in renal allograft recipients by use of a quantitative real-time PCR assay: one-year prospective study. J Clin Microbiol

2007;45(11):3568-3573.

Peinemann F, de Villiers EM, Dörries K, Adams O, Vögeli TA, Burdach S. Clinical course and treatment of haemorrhagic cystitis associated with BK type of human polyomavirus in nine paediatric recipients of allogeneic bone marrow transplants. Eur J Pediatr 2000;159:182-188.

Purighalla R, Shapiro R, McCauley J, Randhawa P. BK virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. Am J Kidney Dis 1995;26(4):671-673.

Ramos E. Clinical course of Polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. J Am Soc Nephrol 2002;13(8):2145-2151.

Randhawa P, Finkelstein S, Scantlebury V, Shapiro R, Vivas C, Jordan M*, et al.* Human Polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney. Transplantation 1999;67:103-109.

Randhawa PS, Demetris AJ. Nephropathy due to polyomavirus type BK. N Engl J Med 2000;342(18):1361-1363

Randhawa P, Vats A, Shapiro R, Weck K, Scantlebury V. BK Virus: discovery, epidemiology, and biology. Graft 2002;5:S19-S27.

Randhawa P, Ho A, Shapiro R, Vats A, Swalsky P, Finkelstein S*, et al.* Correlates of quantitative measurement of BK Polyomavirus (BKV) DNA with clinical course of BKV infection in renal transplant patients. J Clin Microbiol 2004;42(3):1176-1180.

Randhawa P, Ramos E. BK viral nephropathy: an overview. Transplantation Reviews 2007;21(2):77-85.

Saad ER, Bresnahan BA, Cohen EP, Lu N, Orentas RJ, Vasudev B*, et al.* Successful treatment of BK viremia using reduction in immunosuppression without antiviral therapy. Transplantation 2008;85(6):850-854.

Sachdeva MS, Nada R, Jha V, Sakhuja V, Joshi K. The high incidence of BK polyoma virus infection among renal transplant recipients in India. Transplantation 2004;77(3):429-431.

Schold JD, Rehman S, Kayle LK, Magliocca J, Srinivas TR, Meier-Kriesche HU. Treatment for BK virus: incidence, risk factors and outcomes for kidney transplant recipients in the United States. Transpl Int 2009;22(6):626-634.

Sener A, House AA, Jevnikar AM, Boudville N, McAlister VC, Muirhead N*, et al.* Intravenous Immunoglobulin as a treatment for BK Virus associated nephropathy: one-year follow-up of renal allograft recipients. Transplantation 2006;81(1):117-120.

Sharif A, Alachkar N, Bagnasco S, Geetha D, Gupta G, Womer K*, et al.* Incidence and outcomes of BK virus allograft nephropathy among ABO- and HLA-incompatible kidney transplant recipients. Clin J Am Soc Nephrol 2012;7(8):1320-1327.

Sharma AP, Moussa M, Casier S, Rehman F, Filler G, Grimmer J. Intravenous immunoglobulin as rescue therapy for BK virus nephropathy. Pediatr Transplant 2009;13(1):123-129.

Sis B, Mengel M, Haas M*, et al.* Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. Am J Transplant 2010;10(3):464-71.

Stoian M, Hozoc M, Iosipenco M, Nastac E, Melencu M. Serum antibodies to papova viruses (BK and SV 40) in subjects from the area with Balkan endemic nephropathy. Virologie 1983;34(2):113-117.

Thomas A, Dropulic LK, Rahman MH, Geetha D. Ureteral stents: a novel risk factor for polyomavirus nephropathy. Transplantation 2007;84(3):433-436.

Toyoda M, Puliyanda DP, Amet N, Baden L, Cam V, Radha R*, et al.* Co-infection of Polyomavirus-BK and Cytomegalovirus in Renal Transplant Recipients. Transplantation 2005;80(2):198-205.

van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, ten Berge IJM. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response. Neth J Med 2012;70(4):172-183.

Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA, Zhu Y-R, Bresnahan B, Cohen EP. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. Kidney Int 2005;68:1834-1839.

Wadei HM, Rule AD, Lewin M, Mahale AS, Khamash HA, Schwab TR*, et al.* Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN). Am J Transplant 2006;6:1025-1032.

Weiss AS, Gralla J, Chan L, Klem P, Wiseman AC. Aggressive immunosuppression minimization reduces graft loss following diagnosis of BK virus-associated nephropathy: a comparison of two reduction strategies. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3(6):1812-1819.

Wiseman AC. Polyomavirus nephropathy: a current perspective and clinical considerations. Am J Kidney Dis 2009;54(1):131-142.

Wittstock M, Benecke R, Zettl UK. Therapy with intravenous immunoglobulins: complications and side-effects. Eur Neurol 2003;50(3):172-175.

Yen CL, Tian YC, Wu HH, Weng CH, Chen YC, Tu KH*, et al.* Conversion to mTOR-inhibitors with calcineurin inhibitor elimination or minimization reduces urinary polyomavirus BK load in kidney transplant recipients. J Formos Med Assoc 2016;115(7):539-546.

Zhong, S., Randhawa, P. S., Ikegaya, H., Chen, Q., Zheng, H. Y., Suzuki, M., Yogo, Y. (2009). Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race. Journal of General Virology, 90(1), 144-152.

2.. Objetivos

2.1. Objetivos primárioss

Avaliar a incidência cumulativa de BKVAN em uma amostra de paciente submetidos a transplante renal na Instituição Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) no período de 1º de agosto de 2008 a 31 de julho de 2015.

2.2. Objetivos secundários

Avaliar a resposta aos ajustes dos imunossupressores através da análise de sobrevivência do enxerto.

3 Artigo científico redigido em inglês

Epidemiology and outcomes of BK Nephropathy management by screening policy in real world

F.V.V. Raupp[1,2], G. Meinerz [1,2], Pegas K[2,3], Stolfo JB[3], E. Keitel [1,2]

1 Department of Nephrology and Kidney Transplantation, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil
2 Post Graduation Program in Pathology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil
3 Department of Pathology, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

A ser submetido à Transplant Infectious Disease

Abstract

Background

BK-associated nephropathy (BKVAN) is an important complication after kidney transplantation, with prevalence of 1 to 10%, leading to graft loss in approximately 50% of cases. There is no effective treatment, so early viral detection through nucleic acid tests or urine cytology associated with immunosuppression reduction is the current strategy to prevent BKVAN.

Aims

To verify the frequency of BKVAN in a single center and evaluate the response to immunosuppressive adjustments through graft survival analysis.

Methods

Retrospective evaluation of a cohort of kidney transplant recipients with biopsy-proven BKVAN, compared with no-BKVAN patients regarding clinical aspects, immunosuppression and graft survival over at least 2 years.

Results

There were 1404 kidney transplants analysed in the study period, 58 of them with biopsy-proven BKVAN. The cumulative incidence was 4.1% during follow-up: 2%, 3.1% and 4% in 6, 12, 24 months after transplantation, respectively. Median time from transplantation to BKVAN diagnosis was 187 (61-1275) days. BKVAN was associated with recipient male gender ($p = 0.042$), deceased donor ($p = 0.007$) and preexisting diabetes ($p = 0.017$). Twenty-one (36.2%) patients had at least an acute rejection episode before BKVAN, and twelve (20.6%) after BKVAN diagnoses and IS reduction. Graft survival was inferior in BKVAN compared to no-BKVAN patients ($p = 0.019$). Survival in 5 years was inferior for Banff stages B/C (69.7%) compared to stage A (80.8%)

and no-BKVAN patients (88.0%) (p = 0.017). Thirteen (22.4%) BKVAN patients lost their grafts, 9 (15.5%) losses attributed to BKV infection. Three patients with BKV-associated graft losses were submitted to a successful second kidney transplant, with no evidence of viral replication (follow-up of 7, 12 and 31 months).

Conclusion

The cumulative incidence of BKVAN in our study was 4.1%. There was 15% of graft loss directly associated to BKVAN by management with immunosuppression adjustment. The graft survival was lower in BKVAN compared to non-BKVAN, specially for grades B and C. In summary, BKVAN still is an important cause of kidney graft failure, and although active vigilance an immunosuppressive adjustments are the main tools available at present, in this real life single center study the detection in early stages was associated with superior graft survival.

Key words: polyomavirus, kidney transplant, BK virus

Background

BK virus-associated nephropathy (BKVAN) is an important complication after kidney transplantation, with prevalence of 1 to 10%, leading to graft loss in approximately 50% of cases [1].

Most BKVAN cases occur within the first post-transplant year, coinciding with higher immunosuppressive burden, with a smaller proportion of cases diagnosed between 2 and 5 years after transplantation [1, 2].

The pathogenesis of BKVAN involves the interaction of multiple agents, such as intensity of immunosuppression, donor's and recipient's factors and virus characteristics. Older age, male gender, diabetes, number of HLA-mismatches and acute rejection episodes have been inconsistently described as risk factors, but the general understanding is that overall immunosuppression is the most important one [2].

Viral replication in urine precedes viremia in about 4-7 weeks, and viremia precedes nephropathy in 8-12 weeks [2, 3]. Current screening guidelines suggest using nucleic acid testing monthly for the first 3–6 months, then every 3 months until the end of the first year, and at every unexplained decline in renal function [1, 4]. However, nucleic acid testing is costly, and regular urine cytology screening (decoy cells) to target serological testing is an acceptable and cost-effective strategy [4, 5].

Definite diagnosis of BKVAN requires a histological evidence of viral cytopathic changes in tubular epithelial cells (Figure 1) accompanied by inflammatory cell infiltrates and a positive immunostaining with cross-reacting monoclonal antibodies against the LT antigen of Simian polyomavirus SV40 (Figure 2) [6].

There is no effective treatment, so early detection of viral replication associated with immunosuppression reduction is the current strategy to prevent BKVAN [4]. Associations with leflunomide and cidofovir did not result in reduction of graft loss in a systematic review conducted in 2010, although the quality of the studies was not adequate [7].

Therefore, BKVAN is an important complication in kidney transplantation that can lead to early graft loss. In this study, our objective is to analyze the frequency of BKVAN in a real life single center setting and evaluate the response to immunosuppressive adjustments through graft survival analysis.

Methods

We retrospectively evaluated a cohort of patients that received kidney transplants at Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCMPA) from August, 1st 2008 to July, 31st 2015, with follow-up until October, 31st 2017.

In June 2008 the immunostaining with cross-reacting monoclonal antibodies against the Simian polyomavirus antigen SV40 was introduced as a routine assessment in kidney graft biopsies performed after 3 months of transplantation and/or at clinical suspicion of BKVAN. In 2011, quantitative BKV PCR (Nanogen®) was introduced at our center.

Our clinical protocol is monthly urinary cytologic smears stained by Papanicolau method up to six months after transplantation, then every three months in the first year and annually until the fifth year post-transplantation, and at every unexplained decline in renal function. Since 2011, we assess BKV viremia when two urinary cytology results are positive. When an elevated viral load (> 10^4 copies/mL) is detected we reduce immunosuppression and perform a graft biopsy.

We reviewed our database and pathology results to locate BKVAN cases. All patients underwent graft biopsies due to elevated viremia results and/or impaired kidney function. The fragments were analyzed by two pathologists in the same laboratory, with description of the cytopathic changes in the renal tubular epithelia and SV40 immunostaining confirmation and classified following Banff criteria [8].

We included all patients with BKVAN, adults and children, excluding those that had concomitant other solid organ transplants and those with follow-up shorter than 3 months.

Collected data included the recipients' and donors' clinical and demographic information and immunosuppressive protocol. In the BKVAN group, results from urinary cytology, BKV viremia, creatinine clearance at time of diagnosis and at 6, 12, 18 and 24 months after, immunosuppression adjustments, rejection episodes and graft loss were also recorded.

Statistical analysis: quantitative variables are presented as medians and minimum-maximum and compared using non-parametric tests. Qualitative variables are presented as numbers and percentages and compared using Fisher's exact test. All tests were two sided, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Cumulative incidence of BKVAN and graft survival were analyzed using Kaplan-Meier method, and significant values were determined by log rank test in graft survival analysis. Cox proportional hazards model was used to estimate the survival difference magnitude, with confidence interval (CI) 95%. Patients were censored at death or loss of follow-up. Graft loss was defined as return to dialysis or new transplantation. All the analyses were made with SPSS® version 20.

The study was approved by the ethics commit of ISCMPA (approval

number 1.236.868).

Results

There were 1404 kidney transplants analyzed in the study period. There were 58 patients with biopsy-proven BKVAN, a cumulative incidence of 4.1% during follow-up: 2%, 3.1% and 4% in 6, 12, 24 months after transplantation, respectively (Figure 3).

The recipients' and donors' characteristics are presented in Table 1. There was a significant association between BKVAN and recipient male gender (p = 0.041), deceased donor (p = 0.005) and preexisting diabetes (p = 0.022). The standard immunosuppression (IS) protocol consisted in tacrolimus and mycophenolic acid with maintenance steroids.

Median follow-up time from transplantation to BKVAN diagnosis was 187 (61-1275) days.

All 58 BKVAN patients had IS reduction, 19 of them had therapy switches: mTORi for mycophenolate (n = 6), cyclosporine for tacrolimus (n = 8), azathioprine for mycophenolate (n = 3), and antiproliferative discontinuation (maintained on CNI and steroids, n = 2). Through tacrolimus levels were significantly reduced after BKVAN [7.17 ± 2.28 vs. 5.55 ± 1.84 ng/mL; CI 95% (-2.53, -0.71), p = 0.001].

None of the patients presented ureteral obstruction due to viral activity. Twenty-one (36.2%) patients had an acute rejection episode before BKVAN, in a median of 122 (48-308) days. Twelve (20.7%) patients presented an acute rejection episode after BKVAN diagnoses and IS reduction, in a median of 330 (54-1210) days.

Actuarial graft survival was inferior for BKVAN compared to no-BKVAN

patients (Figure 4A and 4B), with mean follow-up of 85.9 ± 4.8 months vs. 98.2 ± 0.8 months, respectively (p = 0.019).

BKVAN graft survival difference did not reach statistical significance when separating according to Banff classification with mean follow-up of 61.6 ± 28.7 months for stage A vs. 47.3 ± 28.5 months for stages B/C (grouped for analysis purposes), p = 0.062. However, survival in 5 years was inferior for Banff stages B/C (69.7%) compared to stage A (80.8%) and no-BKVAN patients (88.0%) (p = 0.017) (Figure 4C).

Thirteen (22.4%) BKVAN patients lost their grafts and 7 (12.0%) died (infection = 6, cardiovascular = 1). Graft loss due to BKV infection occurred in 9 (15.5%) patients in a mean of 268.5 ± 254.4 days, compared to 593.0 ± 537.1 days for BKVAN patients that lost their grafts due to chronic rejection (n = 3) and late renal vein thrombosis (n = 1) (p = 0.32).

Mean creatinine clearance (CKD-EPI) at time of BKVAN diagnosis was 34.3 ± 19.9 ml/min/1,73m^2, and in the patients that remained with functioning grafts it was 34.3 ± 16.4; 38.5 ± 17.7; 38.0 ± 15.5 and 38.4 ± 15.9 ml/min/1,73m^2 at 6, 12, 18 and 24 months, respectively (no statistical difference in paired *t*-test).

Three patients with BKV-associated graft losses were submitted to a successful second kidney transplant after 5, 7 and 29 months on dialysis. All of them had thymoglobulin induction therapy and were maintain with tacrolimus, mycophenolic acid and steroids. None was submitted to graft removal before retransplantation. There is no evidence of viral replication during follow-up (7, 12 and 31 months for each patient).

Additionally, we analyzed all the quantitative BKV PCR results from 2011 to 2015, comprising 230 patients: 52 (22.6%) had elevated viral loads (> 10^4

copies/mL). Amongst these, 31 (59.6%) had biopsy-proven BKVAN, 16 (30.7%) had biopsies without evidence of polyomavirus, and 5 (9.6%) were not submitted to a graft biopsy. Six (10.3%) BKVAN patients did not have elevated viremia, 4 with results below the detection capacity of the test and 2 with low replication values.

All patients with elevated viral loads had immunosuppression reduction:39 (75%) cleared or presented a significant reduction on the viral load, 6 (11.5%) were followed with negative urinary cytology (and remain with stable graft function), 3 (5.7%) lost their grafts and 4 (7.6%) died before viral clearance was achieved.

Discussion

BKV-associated nephropathy (BKVAN) remains a challenge after kidney transplantation, demanding surveillance in an attempt to early detection and intervention to prevent progression of subclinical virological reactivation to overt clinical disease.

Consistent with previous reports that estimated BKVAN occurrence as 1-10% in kidney transplant recipients [1, 3, 9-11], with most cases occurring during the first year after transplant [9, 10], the cumulative incidence in our study was 4.1%, in a median of 187 (61-1275) days of follow-up, this is an agreement with another recent study [22]. This higher incidence in early post-transplant period corresponds with stronger immunosuppressive burden, and afterwards viral replication usually recedes [1].

Our BKV screening strategy follows current guidelines [4], using urinary decoy cells and plasma quantitative PCR. Quantitative PCR is a highly sensitive method for BKV screening that allows an early diagnosis of viral replication.

BKVAN has a focal characteristic, and even though graft biopsy immunostaining with SV40 antibodies is considered the gold standard, it is subjected to sampling error, with 36% of false-negative results if only one tissue core is analyzed [2, 12]. Based on studies that show a strong correlation with viremia and BKVAN, with a positive predictive value of approximately 60% [10, 13], at our center an elevated viremia prompts immunosuppressive reduction, sometimes even before graft biopsy is performed, which could explain the number of patients with elevated viremia and no BKVAN confirmation (30.7%).

Most authors find that positive viremia is present in nearly 100% of patients with BKVAN [10, 13], but we found 10% of BKVAN patients with low or undetectable viral loads. These patients were submitted to kidney biopsies because of impaired graft function.

There were no ureteral obstruction cases due to BKV infection in our cohort, as other study also failed to observe [14].

Reported risk factors for BKVAN include treatment for acute rejection, induction therapy with thymoglobulin, deceased donor transplant, advanced donor age, male recipient, diabetes mellitus, HLA mismatching, tacrolimus and mycophenolic acid maintenance therapy, ureteral stent, leukopenia, although there is no consensus between authors [1, 2, 11]. We found a significant association between BKVAN and recipient male gender ($p = 0.041$), deceased donation ($p = 0.005$) and preexisting diabetes ($p = 0.022$). Our standard immunosuppression protocol consists in tacrolimus and mycophenolic acid with maintenance steroids. One third of the BKVAN patients presented an acute rejection episode before the diagnosis, and 20% experienced rejection after immunosuppressive reduction, in a median of 330 (54-1210) days.

Treatment strategies vary greatly amongst centers. The most frequent

approach is immunosuppressive reduction, but no standardised protocol is established. Recommendations include reducing calcineurin inhibitors by 25-50%, reducing antiproliferatives by 50%, discontinuing antiproliferatives, switching from tacrolimus to low-dose cyclosporine or low-dose sirolimus, switching from mycophenolic acid to sirolimus [1, 15]. These recommendations could also be applied to presumptive BKVAN cases (sustained elevated viral loads over 3 weeks) [2, 15]. When viral loads remain elevated despite IS reduction, use of adjuvant therapies (cidofovir, leflunomide, immunoglobulins, fluoroquinolones) could be considered, although there are no randomized controlled trials to support this approach [7, 15].

At our center, protocol IS reduction involves CNI reduction by 25-50%, aiming a tacrolimus through level below 6ng/mL, associated with mycophenolic acid reduction by 50%. Individual approach may involve switching to sirolimus, based on immunological risk and/or CMV status, proteinuria and graft function. Some of our patients received fluoroquinolones in the initial years, but this therapy was dropped due to lack of supporting evidence. These variations on individual cases make treatment analysis difficult to evaluate, and therefore no conclusion on the best strategy can be drawn at this point.

Johnston *et al*. conducted a systematic review on BKVAN treatment. When analysing immunosuppressive reduction alone, the pooled death-censored graft failure rate was 8 per 100 patient-years (95% CI 0.04–0.12), with variations between 0-67%. The strategies varied greatly amongst studies, and viruria and viremia clearances were achieved in 40–96% and 7–80% of patients, respectively. Acute rejection episodes were reported from none to 75% of patients after immunosuppression reduction. Patient survival ranged from 91-100% by the last follow-up [7]. Other authors found biopsy-proven acute

rejection following reduction of immunosuppression in approximately a quarter of patients [16], generally responsive to steroid treatment [2].

We found an inferior graft survival for BKVAN patients compared to no-BKVAN patients (p = 0.019). Survival in 5 years was inferior for Banff stages B/C (69.7%) compared to stage A (80.8%) and no-BKVAN patients (88.0%) (p = 0.017). Our results corroborate previous studies findings [6, 14] showing an association between renal graft loss and Banff's stages. One quarter of the BKVAN patients lost their grafts, 69% of them directly related to BKV infection. Studies prior to 2005 demonstrated a loss of renal graft related to polyomavirus between 10 and 80%. The most recent study in 2017 has shown a loss of approximately 15%, which is in line with our cohort findings [17-19]. The patients that remained with functioning grafts had sustained creatinine clearances throughout the follow-up. Twenty percent of our patients experienced acute rejection episodes after BKVAN diagnosis, and there was no significant association with graft loss.

Retransplantation after kidney allograft due to BKVAN has been successfully performed, with recurrence rates of 10-17.5% [15, 20, 21]. In our study, three (33.3%) patients that lost their grafts due to BKVAN were submitted to a second kidney transplant with success, all of them are currently with more than six months of follow-up, without evidence of recurrence. None was submitted to graft removal before retransplantation.

In conclusion, the cumulative incidence of BKVAN in our study was 4.1%. There was 15% of graft loss directly associated to BKVAN by management with immunosuppression adjustment. The graft survival was lower in BKVAN compared to non-BKVAN, specially for grades B and C. In summary, BKVAN still is an important cause of kidney graft failure, and although active vigilance

an immunosuppressive adjustments are the main tools available at present, in this real life single center study the detection in early stages was associated with superior graft survival.

Table 1. Kidney transplant recipients and donors characteristics and immunosuppression in BKV-associated nephropathy

	All patients N = 1404	**BKVAN N = 58**	**No-BKVAN N = 1346**	**p**
Recipient age, years (mean ± SD)	41.5 ±18.2	46.2 ± 17.1	41.4 ± 18.3	0.052
Recipient male gender (%)	803 (57.2)	41 (70.7)	762 (56.8)	0.041
DM* (preexistence) (%)	180/909 (19.8)	5/58 (8.6)	175/851 (20.6)	0.026
First Transplant (%)	1244 (88.6)	51 (87.9)	1193 (88.6)	0.90
Donor age, years (mean/SD)	40.4 ± 18.7	40.3 ± 19.5	40.4 ± 18.7	0.95
Donor male gender (%)	758 (53.9)	27 (48.2)	731 (54.3)	0.22
Deceased donor (%)	1103 (78.6)	54 (93.1)	1049 (77.9)	0.005
DGF* (%)	415/842 (49.3)	31/51 (60.8)	384/791 (48.5)	0.11
HLA class I mismatch, median (range)	3 (0 – 4)	2 (0 - 4)	2 (0 - 4)	0.81
HLA class II mismatch, median (range)	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	0.82
DSA presence (%)	303 (28.7)	17 (33.3)	286 (28.4)	0.43
Induction Therapy Anti-CD25 Thymoglobulin	879/1070 (82.1) 548/879 (62.3) 331/879 (37.7)	47/56 (83.9) 25/47 (53.1) 22/47 (46.8)	832/1014 (82.0) 523/832(62.8) 309/832 (37.1)	0.59
Maintenance therapy (%)				0.53
CNI based	1375 (97.9)	57 (98.3)	1318 (97.9)	
mTORi based	12 (0.9)	1 (1.7)	11 (0.8)	
Others	17 (1.2)	0	17 (1.3)	
Median follow-up, months (95% CI)	54.4 ± 28.0	54.5 ± 29.3	54.4 ± 27.9	0.98
Banff classification A B C		 29 (50.0) 26 (44.8) 3 (5.2)		

* analyses performed with available data

BKVAN = BK virus-associated nephropathy, DM = diabetes *mellitus*, DGF = delayed graft function, HLA = Human Leukocyte Antigen, DSA = donor specific antibody, CNI = calcineurin inhibitor, mTORi = mammalian target of rapamicin inhibitor

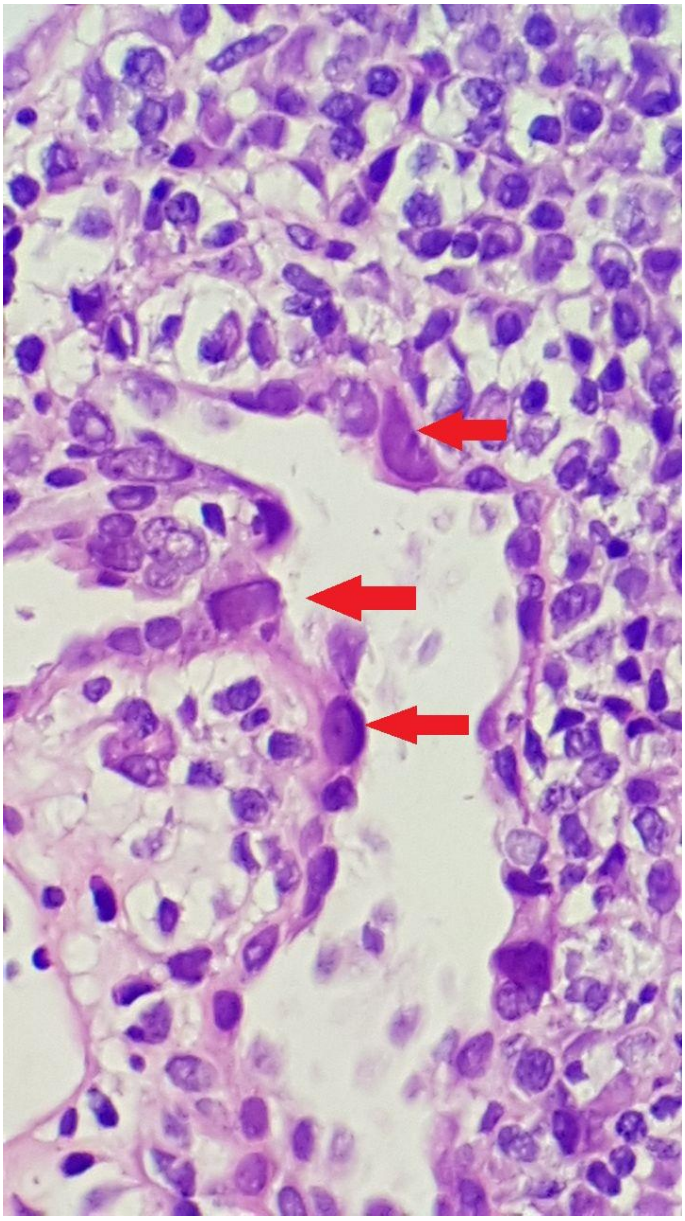


Figure 1. Inclusions of basophilic viral pattern in the renal tubular epithelium stained with hematoxylin and eosin (200X).
Image provided by Dr. Karla Lais Pêgas of the pathology department of ISCMPA.

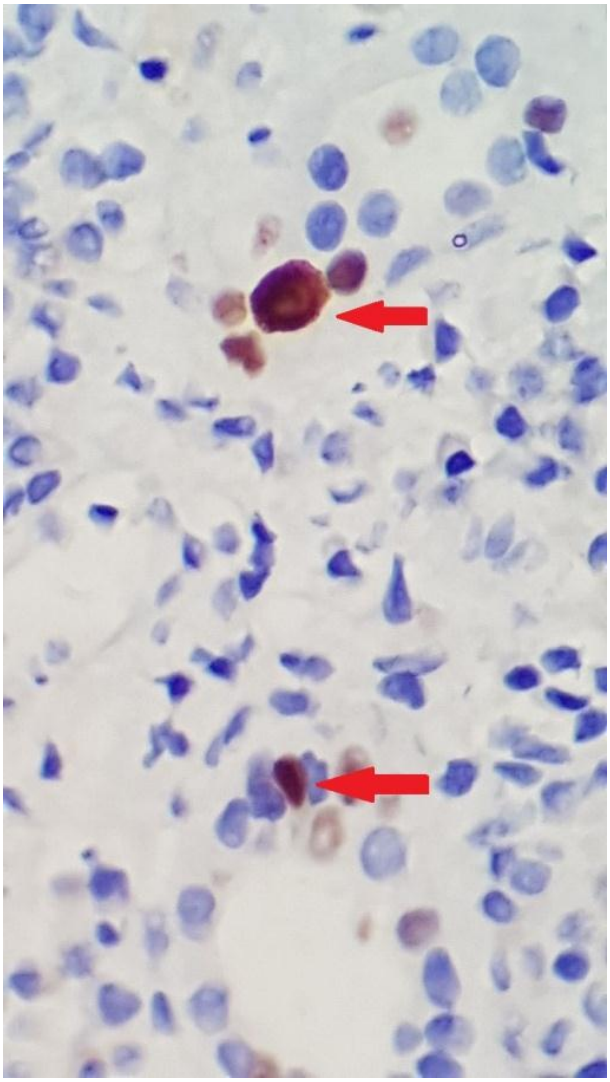


Figure 2. Immunohistochemistry with SV40 antibody revealing chromosome positivity of infected tubular epithelial nuclei. Image provided by Dr. Karla Lais Pêgas of the pathology department of ISCMPA (200X).

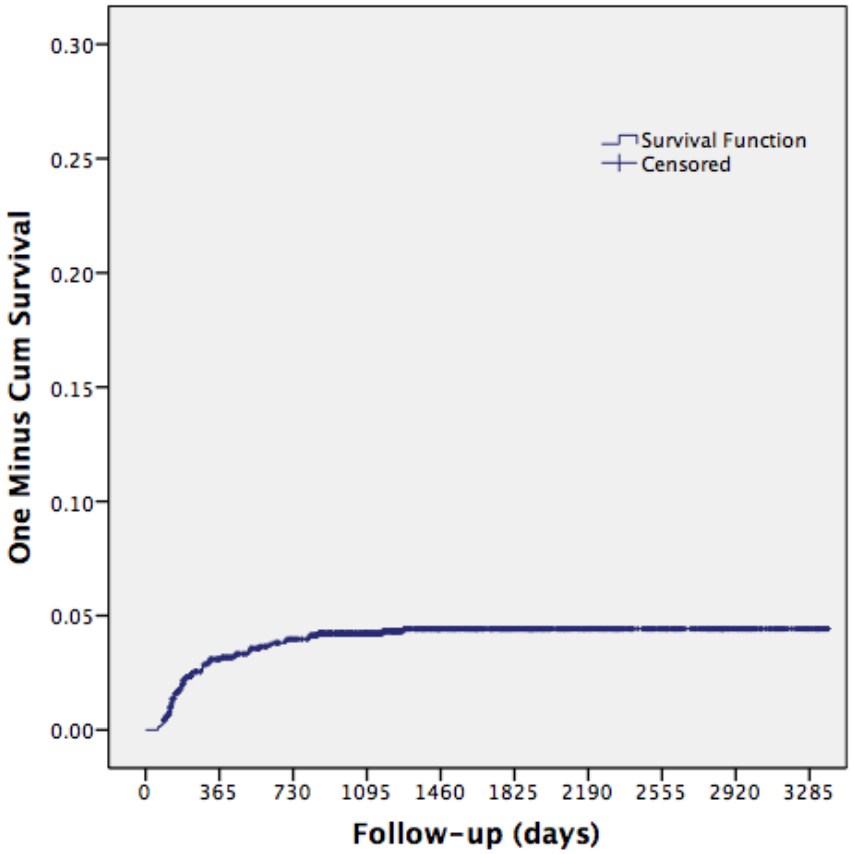
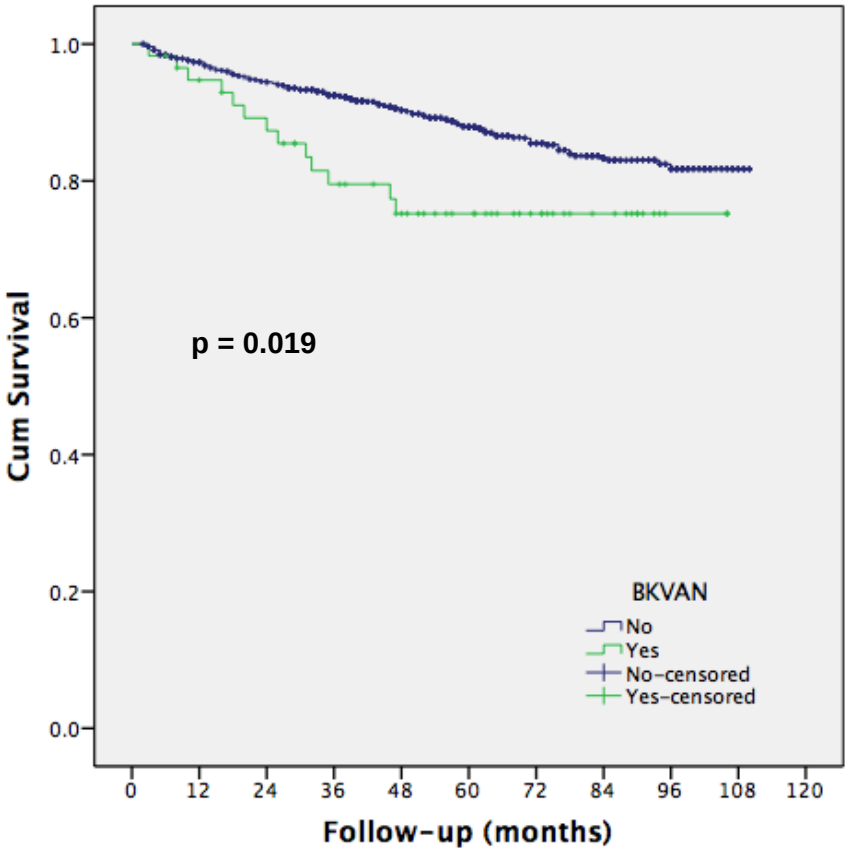
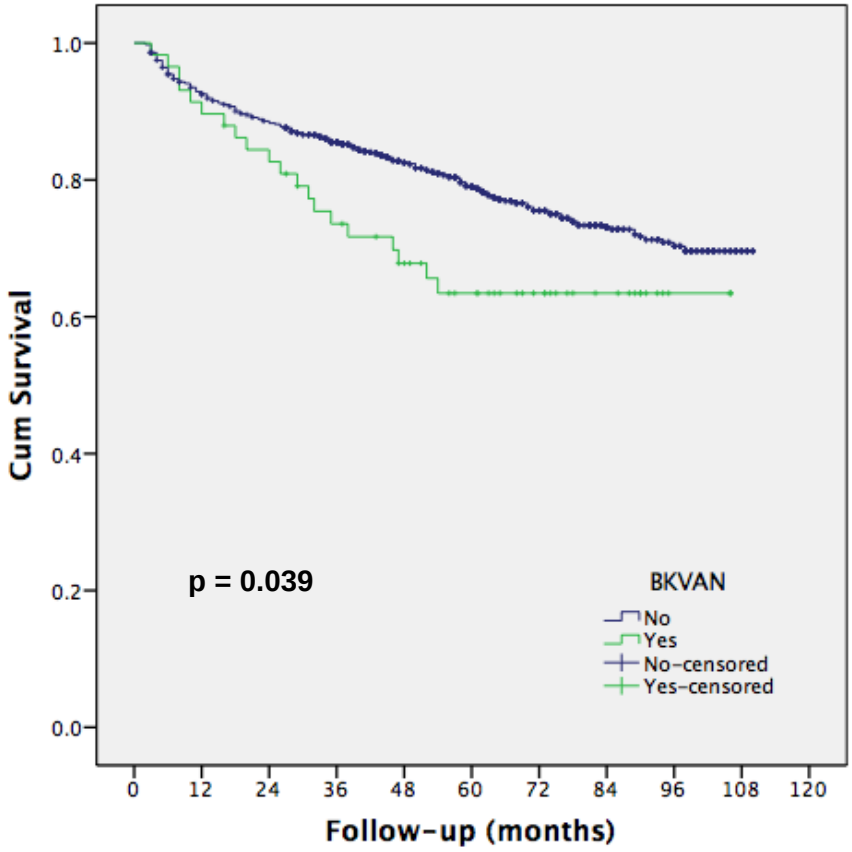


Figure 3: Cumulative incidence of BK virus-associated nephropathy after kidney transplantation



Patients at risk									
No-BKVAN	1346	1235	1166	979	758	562	378	251	128
BKVAN	58	52	47	40	33	27	19	12	3
KM (%)									
No-BKVAN	100	97.3	94.4	92.6	90.6	87.9	85.5	83.3	81.8
BKVAN	100	94.7	87.3	79.5	75.2	75.2	75.2	75.2	75.2

Figure 4A: Graft survival (censored by death) according to BK virus-associated nephropathy (BKVAN) after kidney transplantation



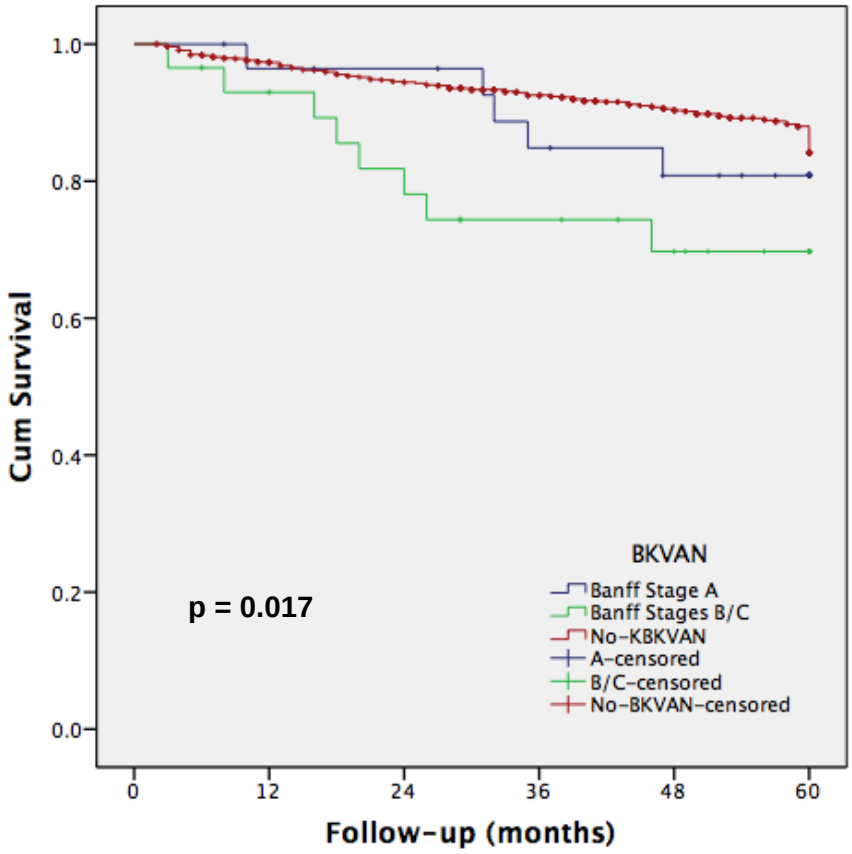
Patients at risk

No-BKVAN	1346	1235	1166	979	758	562	378	251	128
BKVAN	58	52	47	40	33	27	19	12	3

KM (%)

No-BKVAN	100	92.9	88.6	85.5	82.7	79.0	75.5	73.1	70.3
BKVAN	100	89.7	82.7	73.6	67.8	63.4	63.4	63.4	63.4

Figure 4B: Graft survival (uncensored by death) according to BK virus-associated nephropathy (BKVAN) after kidney transplantation



Patients at risk						
No-BKVAN	1404	1235	1166	979	758	562
BKVAN A	29	27	26	22	19	15
BKVAN B/C	29	26	21	18	14	10
KM (%)						
No-BKVAN	100	97.3	94.4	92.6	90.6	88.0
BKVAN A	100	96.4	96.4	84.9	80.8	80.8
BKVAN B/C	100	93.0	78.1	74.4	69.7	69.7

Figure 4C: 5-year graft survival (uncensored by death) according to BK virus-associated nephropathy (BKVAN) Banff stages after kidney transplantation

References

1. Kuypers DR. Management of polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients. Nat Rev Nephrol 2012;8(7):390-402.
2. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB*, et al.* Polyomavirus-Associated Nephropathy in Renal Transplantation: Interdisciplinary Analyses and Recommendations. Transplantation 2005;79(10):1277-86.
3. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M*, et al.* Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. N Engl J Med 2002;347(7):488-96.
4. KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Am J Transplant 2009;9(Suppl 3):S1-S157.
5. Chakera A, Dyar O-J, Hughes E*, et al.* Detection of Polyomavirus BK Reactivation After Renal Transplantation Using an Intensive Decoy Cell Surveillance Program Is Cost-Effective. Transplantation 2011;92(9):1018-23.
6. Drachenberg C, Papadimitriou JC, Hirsch HH*, et al.* Histological Patterns of Polyomavirus Nephropathy: Correlation with Graft Outcome and Viral Load. Am J Transplant 2004;4:2082-92.
7. Johnston O, Jaswal D, Gill JS*, et al.* Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: a systematic review. Transplantation 2010;89(9):1057-70.
8. Sis B, Mengel M, Haas M*, et al.* Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. Am J Transplant 2010;10(3):464-71.
9. Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA*, et al.* BK virus nephritis: Risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. Kidney Int 2005;68:1834-9.
10. Viscount HB, Eid AJ, Espy MJ*, et al.* Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. Transplantation 2007;84(3):340-5.
11. Schold JD, Rehman S, Kayle LK*, et al.* Treatment for BK virus: incidence, risk factors and outcomes for kidney transplant recipients in the United States. Transpl Int 2009;22(6):626-34.
12. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Polyomavirus-associated nephropathy: update in diagnosis. Transpl Infect Dis 2006;8:68-75.
13. Wiseman AC. Polyomavirus nephropathy: a current perspective and clinical considerations. Am J Kidney Dis 2009;54(1):131-42.
14. Drachenberg C, Beskow CO, Cangro CB*, et al.* Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. Human Pathology 1999;30(8):970-7.
15. Hirsch HH, Randhawa P, AST Infectious Diseases Community of Practice. BK virus in solid organ transplant recipients. Am J Transplant 2009;9(Suppl 4):S136-46.
16. Randhawa P, Finkelstein S, Scantlebury V*, et al.* Human Polyoma Virus-associated Interstitial Nephritis in the Allograft Kidney. Transplantation 1999;67:103-9.
17. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. The Lancet Infectious Diseases 2003;3(10):611-23.
18. Hariharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. Kidney Int 2006;69(4):655-62.
19. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Chaudhry MR*, et al.* Histological

Evolution of BK Virus-Associated Nephropathy: Importance of Integrating Clinical and Pathological Findings. Am J Transplant 2017;17(8):2078-91.
20. Ramos E, Vincenti F, Lu WX*, et al.* Retransplantation in patients with graft loss caused by polyoma virus nephropathy. Transplantation 2004;77(1):131-3.
21. Dharnidharka VR, Cherikh WS, Neff R*, et al.* Retransplantation after BK virus nephropathy in prior kidney transplant: an OPTN database analysis. Am J Transplant 2010;10(5):1312-5.
22. Pinto GG, Poloni JAT, Paskulin DD, *et al*. Quantitative detection of BK virus in kidney transplant recipients: a prospective validation study. J Bras Nefrol 2018;40(1):59-65.

4. Considerações finais

O poliomavírus e a BKVAN permanecem sendo desafiadores para os serviços transplantadores renais em todo mundo. Apesar de várias tentativas de tratamento, a redução da imunossupressão é o tratamento de escolha e novos estudos são necessários. A identificação de um tratamento definitivo é necessária, uma vez que proporcionaria maior durabilidade ao órgão transplantado e melhor qualidade de vida aos pacientes com insuficiência renal.

5. Anexos

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Nefropatia por BK vírus em pacientes transplantados renais em um hospital terciário de Porto Alegre

Pesquisador: ELIZETE KEITEL

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48400315.1.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericordia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.236.868

Apresentação do Projeto:

A nefropatia associada ao vírus BK tem se tornado um problema emergente na população de receptores de transplante renal. Com prevalência elevada e sem tratamento específico, pode levar a perda precoce do enxerto apresentando grande morbidade, fazendo com que o paciente retorne a programas de terapia de substituição renal, elevando os custos do tratamento. O presente estudo tem como objetivo geral identificar a incidência cumulativa de nefropatia causada por BK vírus comprovada por biópsia renal nos pacientes transplantados renais no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2014.

Este estudo é uma coorte retrospectiva que será realizada no Serviço de Transplante Renal da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, será revisado o banco de dados do serviço e nos casos de necessidade o prontuário dos pacientes. Serão incluídos pacientes transplantados no Serviço de Transplante renal da Santa Casa, pacientes de ambos os sexos, adultos e crianças, tanto receptores de doador vivo relacionado como de doador falecido. Serão excluídos pacientes com dados incompletos ou prontuários não localizados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: avaliar o perfil dos pacientes readmitidos nas UTIs participantes e os fatores de risco preditores da taxa de readmissão ou óbito hospitalar após a alta da UTI.

Objetivos Secundários: avaliar o desempenho do SAPS 3 do dia da admissão como preditor da taxa de readmissão ou óbito hospitalar após a alta da UTI; avaliar subpopulações especificas como pacientes críticos crônicos, pacientes oncológicos e pacientes transplantados; correlacionar alguns marcadores clínicos no momento da admissão e da alta da UTI com o risco de readmissão e óbito intra-hospitalar.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O estudo é retrospectivo observacional sem riscos associados aos participantes onde serão registrados apenas os dados demográficos e clínicos obtidos a partir do Sistema Epimed Monitor, em uso nas unidades da Santa Casa e sendo complementado com os prontuários eletrônicos quando necessário. Os únicos riscos associados ao protocolo referem-se ao manejo das informações dos participantes. A confidencialidade e a privacidade estarão garantidas pelos pesquisadores respeitando os princípios contidos na Resolução nº 466/2012.Os participantes não terão benefício com o protocolo. Entretanto, as conclusões obtidas serão úteis para a criação de ferramentas que auxiliem na identificação dos riscos de reinternação e dos óbitos. No gerenciamento dos pacientes criticamente doentes quanto à decisão de alta da UTI ou quanto ao seu manejo fora da mesma, podendo otimizar o cuidados e potencialmente reduzindo a morbimortalidade hospitalar fora da UTI sendo de grande relevância para a gestão clínica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto de pesquisa é um estudo observacional, desta forma, serão analisados os dados obtidos a partir de registro de informações e indicadores rotineiramente coletados nas unidades. Sendo assim, não haverá nenhuma forma de intervenção diagnóstica, terapêutica ou de qualquer natureza. A confidencialidade e o anonimato das informações será preservada. Portanto, foi solicitado a dispensa da necessidade de obtenção do termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As informações serão analisadas de modo agregado, preservando a confidencialidade e a identidade dos participantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os termos de apresentação obrigatória ao CEP - Comitê de Ética e Pesquisa.

Recomendações:

Não há recomendações a serem apontadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto de pesquisa com parecer aprovado após discussão e apreciação do CEP - Comitê de Ética e

Pesquisa da Santa Casa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Nefropatia por BK vírus em pacientes transplantados renais em um hospital terciário de Porto Alegre.doc	17/08/2015 00:22:08		Aceito
Outros	Cronograma.pdf	17/08/2015 00:22:39		Aceito
Outros	Declaração de Confidencialidade do sujeto no estudo.pdf	17/08/2015 00:23:00		Aceito
Outros	Declaração de Isenção de ônus a instituição.pdf	17/08/2015 00:23:23		Aceito
Outros	Declaração de Risco e Benefício.pdf	17/08/2015 00:23:52		Aceito
Outros	Declaração de Uso de dados Materias.pdf	17/08/2015 00:24:29		Aceito
Outros	Declaração de Uso de publicação de Dados.pdf	17/08/2015 00:24:50		Aceito
Outros	Declaração do respnsável pela área.pdf	17/08/2015 00:25:27		Aceito
Outros	Formulário de inscrição.pdf	17/08/2015		Aceito

Continuação do Parecer: 1.236.868

Outros	Formulário de inscrição.pdf	00:25:50		Aceito
Outros	Orçamento.pdf	17/08/2015 00:26:11		Aceito
Outros	Termo de Compromisso para utilização de prontuários.pdf	17/08/2015 00:26:44		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_nefropatia_por_BK_virus_em_pacientes_transplantados_renais_em_um_hospital_de_porto_alegre.pdf	17/08/2015 16:22:53		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_571025.pdf	17/08/2015 17:06:50		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 21 de Setembro de 2015

Assinado por:
Carlos Henrique Munhoz Olea
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br