

Análise de métodos diagnósticos de vigilância para detecção de nefropatia pelo vírus BK em pacientes transplantados renais

Analysis of diagnostic methods as a screening test to detect BK virus nephropathy in kidney transplant patients

Autores

Camila Hitomi Nihei ¹
Lígia Camera Pierrotti ¹
Elias David-Neto ¹

¹ Hospital das Clínicas,
Universidade de São Paulo.

A nefropatia associada ao poliomavírus BK (BKPyVAN) surgiu como uma importante causa de insucesso no transplante renal, afetando até 10% dos receptores de transplante de rim (KTX). ¹O BKPyV é adquirido na infância e persiste latente no trato urinário até à sua reativação no estado de imunossupressão. A nefropatia é uma consequência da reativação do BKPyV no trato urinário do rim/ureter do doador, com subsequente viremia e invasão do enxerto pelo vírus, causando mudanças citopatológicas virais, resposta inflamatória e subsequente deterioração funcional.

A replicação do BKPyV na urina precede a viremia por BKPyV por uma mediana de 4 semanas, e a nefropatia é histologicamente documentada por uma mediana de 12 semanas.^{2,3} A perda do aloenxerto renal, secundária a BKPyVAN, varia de 10% a 100% dos casos, e o prognóstico depende da intensidade de infiltrados inflamatórios e da tubulite ativa no momento do diagnóstico.⁴

Uma vez que não existe uma terapia antiviral eficaz para o BKPyV, faz-se imperativa a identificação precoce de doentes com replicação BKPyV, pois permite a elaboração de estratégias para redução da imunossupressão, para interromper ou retardar a progressão da inflamação causada pelo vírus.

Existem vários estudos avaliando o impacto da detecção precoce da replicação do BKPyV na progressão da perda do enxerto, utilizando marcadores substitutos na urina ou no sangue.^{3,5}

Portanto, a triagem rotineira pós-transplante para monitorar a replicação

do BKPyV é atualmente recomendada para todos transplantados renais. Diretrizes internacionais recomendam a triagem da replicação do BKPyV, avaliando-se a urina ou plasma, pelo menos a cada 3 meses durante os primeiros 2 anos após o transplante, em seguida, anualmente durante 5 anos, e um aumento inexplicável da creatinina sérica pós-tratamento indica rejeição aguda.^{1,6}

Os exames disponíveis atualmente para triagem, incluem: citologia da urina para identificar células epiteliais carregadas com o vírus (também denominadas “células Decoy”), exame quantitativo de amplificação do ácido nucleico (NAT) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), para identificar BKPyV na urina, em amostras de plasma ou de sangue, ou microscopia eletrônica da urina para detectar três agregados virais dimensionais (Haufen).¹ No entanto, métodos de triagem para BKPyVAN têm apenas valor preditivo positivo limitado para prever o desenvolvimento de nefropatia, uma vez que o diagnóstico definitivo requer confirmação histológica com base nas alterações citopatológicas e imunohistoquímicas (anticorpos de reação cruzada aumentados contra clones do vírus simiano 40) ou hibridação *in situ*. A biópsia renal é invasiva e pouco prática para ser utilizada largamente como exame de triagem para permitir a detecção precoce da nefropatia. Por outro lado, a replicação do BKPyV tem um valor preditivo negativo (VPN) superior a 99%. Portanto, o objetivo é obter um exame de triagem perfeito como substituto para o diagnóstico preciso da replicação

Data de submissão: 15/06/2016.
Data de aprovação: 05/08/2016.

Correspondência para:
Elias David-Neto.
Hospital das Clínicas da
Faculdade de Medicina de São
Paulo.
Avenida Dr. Eneas de
Carvalho Aguiar, nº 255, ICHC
7º Andar, Sala 7036, São
Paulo, SP, Brasil.
CEP: 05403-900
E-mail: consultorio.elias.
david@cntt.com.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20160042

do BKPyV e sua correlação clínica com o risco de desenvolvimento de nefropatia.

Poucos estudos compararam diretamente o desempenho dos métodos de triagem disponíveis para prever BKPyVAN. Nesta edição da Revista Brasileira de Nefrologia, o estudo de Pinto *et al.* apresentou uma revisão sistemática de estudos que compararam diretamente o desempenho analítico de métodos de triagem para prever o diagnóstico de BKPyVAN, comprovado pela histopatologia.⁷ De 707 potenciais artigos identificados inicialmente, apenas 12 preencheram os critérios de inclusão e foram incluídos na análise final, representando a escassez de dados na literatura sobre este assunto, e a falta de dados de qualidade. Os autores demonstraram um diagnóstico de NAT quantitativo com melhor desempenho do que a citopatologia urinária para a detecção de BKPyVAN.

A citopatologia urinária para detectar a presença de células “Decoy” é um método alternativo aceitável e inespecífico de triagem. Essas células também foram descritas em infecções por adenovírus e citomegalovírus. O exame é barato e tem um alto VPN, mas um valor preditivo positivo (VPP) muito baixo para BKPyVAN. Caso esse exame seja utilizado, faz-se necessário um exame confirmatório adicional antes de se trocar o tratamento de tais pacientes com base apenas na presença de células “Decoy” na urina. O NAT quantitativo possui VPP e VPN superiores quando comparado à citologia urinária e, na ausência de virúria ou viremia por BKPyV detectado por PCR, o diagnóstico de PVAN é altamente improvável.

É controverso se a triagem de transplantados renais deva ser feita com NAT de plasma ou urina. O NAT urinário negativo para BKPyV tem quase 100% de VPN, mas os pacientes com virúria por BKPyV acima dos limiares seguros devem ser avaliados mais profundamente por NAT sérico.^{1,2} O NAT urinário, na ausência de uma elevada carga de BKPyV plasmático não está associado a um aumento no risco para desenvolvimento de BKPyVAN. Pinto *et al.*⁷ concluíram que o BKPyV positivo em duas ou mais amostras de urina foi útil para prever viremia por BKPyV, com 100% de sensibilidade, especificidade de 94%, VPP de 50% e VPN de 100%. O NAT plasmático tem o melhor VPP para BKPyVAN e tem sido utilizado pela a maioria dos centros de transplante para a triagem de BKPyV; a sensibilidade em prever BKPyVAN foi 60-100%, a especificidade de 33-100% e o VPP foi 72-100%.

Apesar de o valor de limiar para virúria e viremia por BKPyV associada à PVAN não tenha sido definido em pacientes com carga sustentada de DNA BKPyV sérico > 4 log₁₀ GEq/mL ou equivalente, o diagnóstico presuntivo de BKPyVAN pode ser feito.

A técnica de Haufen confirmou o BKPyVAN com uma taxa de concordância de 99%; o VPP foi de 97% e VPN foi de 100%.⁸ Embora pareça promissor, a microscopia eletrônica não está amplamente disponível e outros estudos reprodutíveis se fazem necessários.

Há muitas limitações para se validar a precisão de um teste de triagem para detectar replicação de BKPyV. Primeiro de tudo, a validade de um exame de triagem só pode ser determinada se o rigor do exame de triagem puder ser comparado a algum “padrão ouro”, que estabelece o verdadeiro diagnóstico da doença. No entanto, o diagnóstico “padrão ouro” do BKPyVAN (biópsia renal), não é eficaz em pelo menos 10 a 36,5% dos casos em que uma biópsia negativa não pode excluir o diagnóstico de BKPyVAN devido à natureza focal da doença,⁴ e uma segunda biópsia deverá ser realizada mais tarde nos casos suspeitos.⁹ Portanto, a avaliação da precisão de um exame de triagem determinante é dificultado pela ausência de um diagnóstico realmente “padrão ouro”.

Em segundo lugar, existem muitas variações intra-laboratoriais e muitos laboratórios utilizam seus próprios métodos de PCR. Variações no tipo de amostra, extração do DNA, técnicas, iniciadores (primers) e as sequências de sondas podem causar significativas diferenças na quantidade de vírus quantificados e limitar a detecção do ensaio. Como relatado por Pinto *et al.*, As diferentes técnicas limitam a comparação entre NATs quantitativos e existe uma necessidade de normalização para exames relacionados aoBKPyV.⁷ A PCR, com primers e sondas para variadas regiões de segmentação do genoma, como as regiões NCCR ou regiões VP1, podem originar resultados falso negativos ou cargas virais incorretas quando as amostras contêm genótipos raros.¹⁰ Além disso, a detecção de “células decoy” na urina exige considerável logística pré-analítica e muita experiência analítica por parte do laboratório; o exame deve ser realizado com urina fresca e resultados inconclusivos são frequentes durante os primeiros meses após o transplante, devido à alta quantidade de sedimentos urinários.¹

Os exames de triagem são largamente utilizados em medicina para avaliar a probabilidade de uma população definida ter uma determinada doença, e o substituto ideal deve preencher quatro critérios: 1 - a medida do substituto deve ser claramente definida, reprodutível e de fácil acesso quando comparado ao *endpoint* (medida de desfecho) correspondente; 2 - Precisa haver uma forte razão biológica entre o *endpoint* clínico e o substituto; 3 - a relação entre o substituto e o desfecho clínico deve ser bem estabelecida, tanto qualitativa quanto quantitativamente, por meio de estudos epidemiológicos relevantes e 4 - uma estimativa do benefício clínico esperado deve ser derivada da redução de estimativa da incidência do substituto em estudos clínicos randomizados.

Atualmente, nenhum dos testes disponíveis inclui todos os requisitos acima, e a NT sérica ainda é a melhor opção disponível.

Protocolos de pesquisas futuras devem incluir ensaios clínicos multicêntricos para validar novos exames de triagem como preditores de desenvolvimento de BKPyVAN, tais como títulos de anticorpos específicos contra BKPyV e resposta imune celular,¹¹ e a presença de variantes virais portando regiões de controle reorganizadas não- codificadas (rr-NCCRs) associadas a um aumento na capacidade de replicação e de doença no transplante renal.¹²

REFERÊNCIAS

- Hirsch HH, Randhawa P. BK Polyomavirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2013;13:179-88.
- Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002;347:488-96.
- 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;5:582-94.
- 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;4:2082-92.
- Elfadawy N, Flechner SM, Schold JD, Srinivas TR, Poggio E, Fatica R, et al. Transient *versus* persistent BK viremia and long-term outcomes after kidney and kidney-pancreas transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9:553-61.
- Hirsch HH, Babel N, Comoli P, Friman V, Ginevri F, Jardine A, et al.; ESCMID Study Group of Infection in Compromised Hosts. European perspective on human polyomavirus infection, replication and disease in solid organ transplantation. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:74-88.
- Pinto GG, Poloni JAT, Rotta LN, Razonable RR, Pasqualotto AC. Screening for BK virus nephropathy in kidney transplant recipients: comparison of diagnostic tests. *J Bras Nefrol* 2016;356-62.
- Singh HK, Andreoni KA, Madden V, True K, Detwiler R, Weck K, et al. Presence of urinary Haufen accurately predicts polyomavirus nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:416-27.
- Jones S, Waller S, Lai K, Hibbard A, Trevillian P, Heer M. Results of a biopsy based, early intervention treatment protocols for BK viremia and Bk virus associated nephropathy. *Am J Transpl* 2016;16:Abstract 1767.
- Rinaldo CH, Tylden GD, Sharma BN. The human polyomavirus BK (BKPyV): virological background and clinical implications. *APMIS* 2013;121:728-45.
- Lamarque C, Julie O, Carli C, Delisle JS. Autologous BK-Specific T-Cell Lines in Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2016;16:Abstract 1045.
- Bethge T, Hachemi HA, Manzetti J, Gosert R, Schaffner W, Hirsch HH. Sp1 sites in the noncoding control region of BK polyomavirus are key regulators of bidirectional viral early and late gene expression. *J Virol* 2015;89:3396-411.