



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

JONAS ATIQUE SAWAZAKI

**Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção
pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao
transplante renal**

Dissertação apresentada ao programa de
Mestrado Profissional em Medicina
(MEPAREM) da Faculdade de Medicina de
Botucatu – UNESP, para obtenção de título
de Mestre em Medicina

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Augusto Monteiro de Barros
Almeida**

Botucatu

2018

JONAS ATIQUE SAWAZAKI

**Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção
pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao
transplante renal**

Dissertação apresentada ao programa de
Mestrado Profissional em Medicina
(MEPAREM) da Faculdade de Medicina de
Botucatu – UNESP, para obtenção de título
de Mestre em Medicina

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Sawazaki, Jonas Atique.

Evolução clínica, laboratorial e imunológica da
infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao
transplante renal / Jonas Atique Sawazaki. - Botucatu,
2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida
Capes: 40100006

1. Dengue. 2. Imunossupressão. 3. Transplante de rins.

Palavras-chave: Dengue; Imunossupressão; Transplante
renal.

Jonas Atique Sawazaki

Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao transplante renal

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus pela vida, pelo amor e fidelidade.

Agradeço ao meu orientador pela paciência e disposição em ensinar os caminhos da ciência e o caminho da ética.

Aos amigos e familiares, obrigado pelo apoio e pelas palavras de conforto nos momentos complicados.

Agradeço à equipe do Núcleo Hospitalar de Epidemiologia do Hospital das Clínicas de Botucatu pelo auxílio na pesquisa de resultados sorológicos e da confirmação de notificação dos casos de dengue do presente estudo.

Jonas Atique Sawazaki

Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao transplante renal

RESUMO

Introdução: Grande número de transplantados renais encontram-se expostos a regiões endêmicas e epidêmicas da dengue, porém, dados sobre o comportamento desta infecção nesta população específica ainda são escassos na literatura.

Métodos: Estudo de série de casos, no qual foram incluídos todos os transplantados renais diagnosticados com dengue em nosso serviço dentro do período de janeiro de 2013 a julho de 2016. Foram avaliadas características demográficas, clínicas, laboratoriais gerais, sorológicas e antigênicas. Sempre que possível, foi avaliado o comportamento a longo prazo do antígeno NS1 e dos anticorpos das classes IgG e IgM através de teste de imunocromatografia comercial.

Resultados: Foram incluídos 16 pacientes. Houve predomínio do sexo masculino (87,5%), da cor branca (81,2%) e a média de idade foi de 42,0 anos. Metade de doadores eram falecidos. O esquema de manutenção da imunossupressão com tacrolimo, micofenolato sódico e prednisona foi o mais utilizado (62,5%). A mediana de tempo entre o transplante renal e o início dos sintomas foi de 1.426 dias. Apenas um paciente (6,3%) com suspeita de transmissão do vírus da dengue através do enxerto foi classificado como grave e necessitou enxertectomia. Nenhum óbito foi identificado. A disfunção renal ocorreu em 66,7% dos pacientes, mostrando-se transitória em 93,8% das vezes. Dentre os 13 (86,7%) pacientes com NS1 reagente, este mostrou-se ainda detectável até 28 dias após o início dos sintomas. Anticorpos IgM foram identificados em 93,3% dos pacientes. Em 85,7% dos pacientes que apresentaram anticorpos IgM, estes mantiveram-se detectáveis até o final do seguimento sorológico, que se estendeu por até 786 dias. A mediana de tempo entre o início dos sintomas e a primeira detecção de anticorpos IgG foi de 24 dias, porém, chegou a 266 dias. Metade dos pacientes deixaram de apresentar anticorpos IgG durante o acompanhamento sorológico.

Discussão: A sintomatologia da dengue na casuística estudada mostrou-se leve, exceto quando esta ocorreu dentro do período pós-operatório. O período de antigenemia NS1 apresentou-se bastante prolongado nos transplantados renais. Devido ao extenso período de detecção de anticorpos IgM, deve-se ter cuidado com futuros diagnósticos falso positivos. Sugere-se que testes para detecção de antígenos devam sempre ser realizados e, quando indisponíveis ou negativos, outros diagnósticos diferenciais não devam ser prontamente desconsiderados.

Jonas Atique Sawazaki

Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao transplante renal

ABSTRACT

Introduction: A large number of renal transplant recipients are exposed to endemic and epidemic areas for dengue fever, but data on the behavior of this infection in this specific population are still scarce in the literature. **Methods:** A case series study that included all renal transplant recipients with confirmed diagnosis of dengue fever followed at our institution between January 2013 and July 2016. Demographic, clinical, laboratory, serological and antigenic characteristics were evaluated. Whenever possible, the long-term behavior of NS1 antigen and IgG and IgM class antibodies were evaluated by commercial immunochromatographic test. **Results:** We included 16 patients. There was a predominance of males (87.5%), caucasians (81.2%) and mean age was 42.0 years. Half of donors were deceased. The most used immunosuppression regimen was tacrolimus, mycophenolate sodium and prednisone (62.5%). The median time between kidney transplantation and the onset of symptoms was 1,426 days. Only one patient (6.3%) with suspected transmission of the dengue virus through the graft was classified as severe and required removal of the graft. No deaths were identified. Graft dysfunction occurred in 66.7% of the patients and was transient in 93.8% of cases. NS1 antigen was detected in 13 patients (86.7%) and it was still detectable up to 28 days after the onset of symptoms. IgM antibodies were identified in 93.3% of the patients. In 85.7% of the patients who had IgM antibodies, they remained detectable until the end of the serological follow-up, which lasted for up to 786 days. Ten (76.9%) patients had IgG antibodies. The median time between the onset of symptoms and the first detection of IgG antibodies was 24 days, but reached 266 days. IgG antibodies were no longer detectable in half of the patients during the serological follow-up. **Discussion:** The clinical presentation of dengue fever in the study population was mild, except when it occurred within the postoperative period. The period of detection of NS1 antigenemia was quite prolonged in renal transplant recipients. Due to the long period of detection of IgM antibodies, care should be taken with future false positive diagnoses. It is suggested that tests for the detection of antigens should always be performed and, when unavailable or negative, other differential diagnoses should not be promptly disregarded.

SUMÁRIO

MANUSCRITO 1 (ARTIGO ORIGINAL).....	01
MANUSCRITO 2 (COMUNICAÇÃO BREVE).....	15
APÊNDICE.....	26

**MANUSCRITO 1 – ARTIGO ORIGINAL (FORMATAÇÃO:
TRANSPLANT INFECTIOUS DISEASES)**

Dengue em transplantados renais: série de casos brasileira.

Jonas Atique Sawazaki¹, Iago Perdoná Rodrigues da Silva¹, Ricardo de Souza Cavalcante², Sebastião Pires Ferreira Filho², Tassiana Rodrigues dos Santos Galvão¹, Luis Gustavo Modelli de Andrade³, Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida².

¹Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu.

²Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu, Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem.

³Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu. Departamento de Clínica Médica.

Correspondência

Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida. Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem, Faculdade de Medicina de Botucatu, Distrito de Rubião Junior, Botucatu, São Paulo, Brasil. Email: almeidaramb@yahoo.com.br.

RESUMO

Introdução: Grande número de transplantados renais encontram-se expostos a regiões endêmicas e epidêmicas da dengue, porém, dados sobre o comportamento desta infecção nesta população específica ainda são escassos na literatura.

Métodos: Estudo de série de casos, no qual foram incluídos todos os transplantados renais diagnosticados com dengue em nosso serviço dentro do período de janeiro de 2013 a julho de 2016. Foram avaliadas características demográficas, clínicas e laboratoriais. **Resultados:** Foram incluídos 16 pacientes. Houve predomínio do sexo masculino (87,5%), da cor branca (81,2%) e a média de idade foi de 42,0 anos. Metade de doadores eram falecidos. O esquema de manutenção da imunossupressão com tacrolimo, micofenolato sódico e prednisona foi o mais utilizado (62,5%). A mediana de tempo entre o TxR e o início dos sintomas foi de 1.426 dias. Em 86,7% dos pacientes o antígeno NS1 mostrou-se presente. Anticorpos IgM foram identificados em 93,3% dos pacientes. Apenas um paciente (6,3%) com suspeita de transmissão do vírus da dengue através do enxerto foi classificado como grave e necessitou enxertectomia. Nenhum óbito foi identificado. A disfunção renal ocorreu em 66,7% dos pacientes, mostrando-se transitória em 93,8% das vezes. De modo geral, as alterações laboratoriais foram menos frequentes que as descritas na literatura. **Discussão:** A sintomatologia da dengue na casuística estudada mostrou-se leve, exceto quando esta ocorreu dentro do período pós-operatório.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue, transplante renal, imunossupressão.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose de importância global, endêmica em regiões tropicais e sub-tropicais, e que acomete regiões urbanas populosas (1). Manifesta-se através de formas assintomáticas até graves, podendo evoluir para o óbito. Grupos específicos parecem apresentar maior risco de gravidade, dentre eles encontram-se os indivíduos imunossuprimidos (2,3).

O transplante renal (TxR) é a principal alternativa terapêutica para a insuficiência renal crônica terminal (IRCT) e um grande número de transplantados renais encontram-se expostos a regiões endêmicas e epidêmicas da dengue (1,2). Entretanto, os dados sobre o comportamento da dengue nesta população específica ainda são escassos na literatura (2).

O presente estudo busca, portanto, identificar as características demográficas, clínicas e laboratoriais de pacientes transplantados renais infectados pelo vírus da dengue, acompanhados em nosso serviço.

MÉTODOS

Foi realizado um estudo de série de casos, no qual foram incluídos todos os transplantados renais diagnosticados com dengue dentro do período de janeiro de 2013 a julho de 2016, atendidos pelo Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, localizado na cidade de Botucatu, interior do Estado de São Paulo, Brasil. Neste centro, já foram realizados cerca de 1300 TxR e, atualmente, são realizados aproximadamente 120 TxR por ano. Os pacientes submetidos a transplantes não exclusivamente renais foram excluídos.

O diagnóstico de dengue foi realizado através da presença de quadro clínico e laboratorial sugestivos, associados a teste de imunocromatografia (IC) reagente para o antígeno NS1 e/ou anticorpos da classe IgM (SD BIOLINE™ Dengue Duo rapid test, Standard Diagnostic Inc. Republic of Korea / SD BIOLINE™ Dengue NS1 Ag, Standard Diagnostic Inc. Republic of Korea). Em alguns casos, o diagnóstico através do teste de IC foi corroborado pela positividade de teste comercial de MAC-ELISA, realizado no laboratório de referência Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes incluídos no estudo foram revisados, retrospectivamente, por meio de prontuário eletrônico. Na

identificação de sinais e sintomas relacionados à dengue, quando não havia referência aos mesmos no prontuário médico, estes foram considerados como ausentes. Definiu-se como plaquetopenia a contagem de plaquetas inferior a 150.000 unidades/mm³ e leucopenia quando o número de leucócitos mostrou-se inferior a 4.000 células/mm³. Considerou-se hemoconcentração quando houve elevação de pelo menos 20% do hematócrito entre amostras coletadas durante o episódio agudo de dengue ou entre a fase aguda e o hematócrito imediatamente anterior ao diagnóstico. O clearance de creatinina foi calculado através da fórmula MDRD-4 (*Modification of Diet in Renal Disease*). A magnitude da alteração do clearance de creatinina durante a fase aguda foi avaliada em relação ao seu último valor disponível imediatamente antes do início dos sintomas.

Os casos de dengue foram classificados de acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde, 2009 (4).

Foi realizada análise estatística descritiva.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP (Parecer 1.621.922).

RESULTADOS

Dentre os 771 transplantados renais acompanhados no período proposto, 16 indivíduos foram incluídos no estudo. A taxa de ataque de dengue na população estudada foi de 2,1%. A tabela 1 apresenta as características demográficas, clínicas e laboratoriais, além dos desfechos dos pacientes incluídos. Dois casos foram diagnosticados em 2013, três casos em 2014, 10 casos em 2015 e um caso em 2016.

A média de idade foi de 42,0 anos, variando entre 21 e 75 anos. Houve predomínio do sexo masculino (87,5%) e da cor branca (81,2%). As etiologias da IRCT mais frequentes foram a indeterminada (37,5%) e a glomerulonefrite (25,0%). Todos os pacientes foram submetidos à diálise antes do TxR, sendo a hemodiálise a modalidade mais frequente (75,0%), e a mediana de tempo de diálise foi de 25,3 meses. Nenhum paciente era portador do HIV ou dos vírus das hepatites B e C. Não foram identificadas informações acerca de episódios prévios de dengue ou outras arboviroses no prontuário dos pacientes.

Os 16 pacientes haviam sido submetidos a apenas um TxR. Metade dos transplantes foram realizados com doadores falecidos. O esquema de indução da imunossupressão mais utilizado foi baseado em anticorpos anti-CD25 (43,7%). Seis pacientes (37,5%) não receberam esquemas indutores da imunossupressão. O esquema de manutenção da imunossupressão predominante na época do diagnóstico da dengue foi a associação de tacrolimo (FK), micofenolato sódico (MPS) e prednisona (PDN), utilizado por 62,5% dos pacientes. Nenhum dos pacientes transplantados há mais de seis meses recebeu intensificação da imunossupressão dentro dos seis meses anteriores ao diagnóstico de dengue.

A mediana de tempo entre o TxR e o início dos sintomas foi de 1.426 dias, variando entre 8 e 4.538 dias. Apenas dois diagnósticos foram realizados dentro dos primeiros seis meses após o TxR. A maioria dos pacientes (62,5%) foram diagnosticados com dengue no ano de 2015. Todos os casos ocorreram entre os meses de fevereiro a junho.

Os métodos que inicialmente confirmaram o diagnóstico de dengue foram a detecção isolada do antígeno NS1 (50,0%), detecção de NS1 associada a anticorpos da classe IgM e IgG (18,8%), anticorpos da classe IgM isoladamente (18,8%), detecção de NS1 associada a anticorpos da classe IgM (6,3%) e anticorpos da classe IgM e IgG (6,3%). O tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico sorológico foi de 6,9 dias, variando de 2 a 21 dias.

Febre (87,5%), mialgia (68,8%) e cefaleia (56,3%), foram os sinais e sintomas mais frequentes, ocorrendo em pelo menos metade dos pacientes. Apenas um paciente (6,3%) foi classificado como dengue grave.

Dentre os achados laboratoriais, 60,0% dos pacientes apresentaram trombocitopenia e elevação de alanina aminotransferase, e 53,0% evoluíram com leucopenia e elevação de aspartato aminotransferase. A redução do clearance de creatinina durante o diagnóstico de fase aguda da dengue ocorreu em 10 (66,7%) pacientes e um (6,3%) deles necessitou de diálise devido perda do enxerto. Excluindo-se o paciente que necessitou enxertectomia precoce, a redução média do clearance de creatinina foi de 19,6% ($\bar{x} = -9,7$ mL/min; DP = 8,3 mL/min), variando de 7,1% (-3,8 mL/min) a 37,2% (-31,1 mL/min).

O tempo de seguimento clínico variou de 357 a 1.546 dias, com média de 863 dias. Ao longo do seguimento, dois (12,5%) pacientes perderam o enxerto, sendo

que a dengue foi diretamente relacionada a esta perda em um deles. Nenhum paciente evoluiu para óbito.

Transmissão peri-transplante

Houve fortes evidências da transmissão do vírus da dengue através do enxerto para um dos pacientes. O receptor era do sexo masculino, 32 anos de idade, sua IRCT tinha origem indeterminada e não havia informações sobre episódios prévios de dengue. Na data do TxR (11/03/2015), o paciente apresentava-se completamente assintomático e seus exames laboratoriais mostravam apenas anemia (hemoglobina = 11,0 g/dL e hematócrito = 33,2%). O rim foi doado por sua esposa, a qual apresentava-se completamente assintomática e com exames laboratoriais sem alterações. A indução da imunossupressão foi realizada com timuglobulina e o esquema de manutenção utilizado foi MPS+PDN. Durante a cirurgia, houve sangramento importante em sutura arterial, associado a hipotensão e taquicardia, sendo controlado através de ponto hemostático. Até o 7º dia após o TxR (D+7), o paciente apresentou quadro importante de ansiedade e queda dos níveis de hemoglobina, sendo necessária transfusão de concentrado de hemáceas, além do que fora infundido no intraoperatório.

Em D+8, o paciente apresentou agitação importante e dor abdominal, evoluindo para choque hipovolêmico grave, necessitando reposição volêmica e uso de droga vasoativa. Em D+10, o paciente foi submetido a cirurgia exploradora, com retirada de grande quantidade de coágulos peri-enxerto e realizada rafia de anastomose arterial. Após a cirurgia, o receptor evoluiu novamente para choque e iniciou quadro de febre de 38,3 °C. Foi necessária reabordagem cirúrgica no dia seguinte (D+11), durante a qual seu enxerto foi extraído devido a sangramento incontrolável. Os exames laboratoriais apresentaram-se bastante alterados, dentre eles, leucopenia = 2.000/mm³, plaquetopenia = 32.000 mm³, ALT = 797 U/L, AST = 689 U/L, hemoglobina = 5,0 g/dL e hematócrito = 33%. Houve redução do clearance de creatinina de 88,9 mL/min para 8,9 mL/min (90,0%), imediatamente antes da enxertectomia.

Neste dia (D+11), a esposa doadora foi encaminhada para avaliação da equipe de infectologia. A mesma referiu que apresentara sangramento vaginal,

ansiedade, choro, fraqueza e náuseas na data da alta hospitalar (D+4). No dia seguinte, apresentara dor retroorbitária, mialgia e exantema pruriginoso. Devido a este quadro, retornou ao serviço de TxR em D+6. Nesta data, apresentava leucopenia = 3.200/mm³, plaquetopenia = 147.000 mm³, ALT = 145 U/L, AST = 143 U/L, hemoglobina = 13,9 g/dL e hematócrito = 38,6%, porém não houve diagnóstico ou condutas específicas. Considerando o quadro clínico e laboratorial identificado, foi solicitado em D+11 (sete dias após início dos sintomas) o teste rápido de imunocromatografia para dengue, que revelou a presença de anticorpos específicos da classe IgM e IgG e ausência do antígeno NS1. A paciente evoluiu bem.

Após o diagnóstico provável de dengue na doadora, foi solicitado teste rápido de imunocromatografia para o transplantado, que revelou o mesmo padrão sorológico da esposa, com a presença de anticorpos específicos da classe IgM e IgG e ausência do antígeno NS1. Em D+27, o paciente apresentou antigenemia positiva e foi instituída terapia contra citomegalovírus. O paciente evoluiu bem, recebendo alta hospitalar em esquema de hemodiálise, sendo seguido por 716 dias.

Tabela 1 – Características demográficas, clínicas, laboratoriais e desfechos dos pacientes submetidos ao transplante renal e diagnosticados com dengue.

Característica	Total
Número de pacientes – n (%)	16 (100)
Idade no transplante (anos; \bar{X}/DP/Var)	42,0/13,3/21-75
Sexo – n (%)	16 (100)
Masculino	14 (87,5)
Cor – n (%)	16 (100)
Branca	13 (81,2)
Preta	2 (12,5)
Parda	1 (6,3)
Etiologia da IRCT – n (%)	16 (100)
Indeterminada	6 (37,5)
Glomerulonefrite	4 (25,0)
Hipertensão arterial sistêmica	2 (12,5)
Diabetes mellitus	2 (12,5)
Urológica	1 (6,3)
AINE	1 (6,3)
Tipo de diálise – n (%)	16 (100)
Hemodiálise	12 (75,0)
Peritoneal	4 (25,0)
Tempo de diálise – (meses; Md/P25-P75/Var)	25,3/10,5-35,0/5-73
Doador falecido – n (%)	8 (50,0)
Esquema de indução da IS – n (%)	16 (100)
Anti-CD25	7 (43,7)
Sem indução	6 (37,5)
ATG	3 (18,8)

Esquema de manutenção da IS no Dx de dengue – n (%)	16 (100)
FK+MPS+PDN	10 (62,5)
FK+SRL+PDN	2 (12,5)
SRL+MPS+PDN	2 (12,5)
MPS+PDN	2 (12,5)
Tempo entre o TxR e os Sx – (dias; Md/P25-P75/Var)	1.426/255-2.660/8-4.538
Mês do Dx de dengue – n (%)	16 (100)
Fevereiro	4 (25,0)
Março	2 (12,5)
Abril	3 (18,8)
Mai	5 (31,2)
Junho	2 (12,5)
Método Dx confirmatório da dengue – n (%)	16 (100)
NS1	8 (50,0)
NS1/IgM/IgG	3 (18,8)
IgM	3 (18,8)
NS1/IgM	1 (6,3)
IgM/IgG	1 (6,3)
Tempo entre o início dos Sx e o Dx sorológico – (dias; \bar{X}/DP/Var)	6,9/4,7/2-21
Sintomatologia – n (%)	16 (100)
Febre	14 (87,5)
Mialgia	11 (68,8)
Cefaleia	9 (56,3)
Dor abdominal	6 (37,5)
Dor retro-orbitária	6 (37,5)
Diarreia	6 (37,5)
Náusea	6 (37,5)
Vômitos	4 (25,0)
Exantema	3 (18,8)
Artralgia	2 (12,5)
Hipotensão arterial	1 (6,3)
Oligúria	1 (6,3)
Hiperemia ocular	1 (6,3)
Síncope	1 (6,3)
Hemorragia	1 (6,3)
Exames laboratoriais – n (%)	15 (100)
Diminuição do ClCr	10 (66,7)
Trombocitopenia	9 (60,0)
Elevação de ALT	9 (60,0)
Leucopenia	8 (53,0)
Elevação de AST	8 (53,0)
Hipoalbuminemia	4 (27,0)
Hemoconcentração	0 (0,0)
Classificação de gravidade da OMS⁴ – n (%)	16 (100)
Dengue	15 (93,7)
Dengue com sinais de alarme	0 (0,0)
Dengue grave	1 (6,3)
Desfechos	
Tempo de seguimento (dias; \bar{X} /DP/Var)	863/299/357-1.546
Perda do enxerto – n (%)	2 (12,5)
Óbito – n (%)	0 (0,0)

n = número de pacientes avaliados; % = porcentagem dentre os pacientes com dados disponíveis para análise; \bar{X} = Média; DP = Desvio padrão; Var = variação; IRCT = insuficiência renal crônica terminal; AINE = anti-inflamatório não esteroide; Md = mediana; P25-P75 = percentil 25%-75%; IS = imunossupressão; Anti-CD25 = anticorpo anti-CD25; ATG = anticorpo anti-timócito; Dx = diagnóstico; FK = tacrolimo; MPS = micofenolato sódico; PDN = prednisona; SRL = sirolimo; TxR = transplante renal; Sx = sintomas; NS1 = proteína NS1; IgM = imunoglobulina M; IgG = imunoglobulina G; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; ClCr = clearance de creatinina; OMS = Organização Mundial da Saúde.

DISCUSSÃO

Durante os anos de 2013 a 2016, houve número expressivo de casos de dengue no Brasil, chegando a 1.649.008 casos notificados e incidência de 813,1 casos por 100 mil habitantes no ano de 2015. No Estado de São Paulo, onde nosso serviço de transplantes encontra-se, o número de casos também foi mais proeminente no ano de 2015, quando alcançou a marca de 733.490 notificações e incidência igual a 1.665,7 casos por 100 mil habitantes (1,5,6). Conseqüentemente, pode-se identificar o elevado número de casos de dengue em transplantados renais em pequeno espaço de tempo. A maior proporção de casos diagnosticados no ano de 2015 (62,5%) mostra-se compatível com os dados acima apresentados. Os meses do ano em que ocorreram os casos de dengue são compatíveis com os da população brasileira no período.

Algumas características gerais da população estudada diferiram das usualmente identificadas em nosso serviço. Dentre estas, destacam-se a maior proporção de indivíduos do sexo masculino e de cor branca, e de transplantes realizados a partir de doadores vivos. Pode-se notar, ainda, idade e tempo de diálise menores, além de modalidade de diálise peritoneal pré-TxR ter sido realizada em maior proporção de pacientes (7).

A quase totalidade dos diagnósticos laboratoriais foram realizados utilizando-se o teste imunocromatográfico (*lateral flow*) comercial. Estudos (8-12) indicaram que a sensibilidade e especificidade geral dos testes SD BIOLINE™ Dengue Duo rapid test e SD BIOLINE™ Dengue NS1 Ag mostraram-se muito boas quando comparadas com os testes de referência, geralmente acima de 90%.

A sintomatologia apresentada pelos pacientes foi, em sua maioria, de baixa gravidade. Apenas um (6,3%) paciente apresentou dengue grave. Estes dados, apesar de mostrarem maior gravidade que na população geral, discordam com os dados evidenciados pela revisão sistemática de Weerakkody *et al.*, a qual sugere incidência ainda maior de dengue grave e mortalidade, quando se compara com a população de pacientes não transplantados renais (2). A reduzida gravidade dos casos apresentados no presente estudo talvez possa ser explicada através de algumas hipóteses, abaixo discutidas.

Devido ao aumento alarmante do número de casos no período estudado, talvez a equipe do nosso serviço de transplantes tenha elevado seu nível de sensibilidade e detectado casos de dengue menos sintomáticos. A pronta disponibilidade do teste rápido também pode ter permitido diagnósticos e tratamentos mais oportunos. Alguns pacientes apresentaram-se ao nosso serviço após a fase inicial, geralmente mais sintomática e, talvez, alguns sinais de alarme podem ter deixado de ser identificados e devidamente registrados no prontuário dos pacientes. A mediana de tempo entre o TxR e o início dos sintomas da dengue foi muito elevada entre nossos pacientes (1.426 dias) e, apesar da maioria deles utilizarem esquema imunossupressor potente (FK/MPS/PDN), estes estariam em fase de imunossupressão mais reduzida. Não foi possível realizar isolamento viral e, conseqüentemente, identificar os sorotipos infectantes. Porém, havia circulação de todos os sorotipos no país, predominando o tipo 1 (5,6). O sorotipo 1 foi responsável por 99% dos episódios de dengue dentro do nosso Estado no ano de 2015 (5). A maioria dos pacientes utilizava esquema contendo FK, e a apresentação clínica mais leve identificada no presente estudo discorda de outros artigos que associaram este imunossupressor a maior gravidade, ocorrência de novos sangramentos e ascite (2,13).

A identificação de grande proporção de casos de primoinfecção talvez pudesse ser um dos fatores implicados na menor gravidade dos casos. Porém, assim como Weerakkody *et al.*, acreditamos que se deva ter bastante cuidado quanto à classificação de primoinfecção ou reinfecção da dengue em transplantados renais utilizando-se a identificação de anticorpos da classe IgG no momento do diagnóstico. Nasim *et al.* (13) mostraram que, dentre 21 pacientes transplantados renais que eram inicialmente IgM positivos e IgG negativos, 10 (48%) não haviam montado uma resposta de anticorpos IgG após 15 semanas, em média. Dados ainda não publicados relativos ao seguimento sorológico a longo prazo dos 16 transplantados renais do presente estudo revelaram que 50,0% dos pacientes que coletaram amostras sorológicas subsequentes, através da técnica de IC, perderam a capacidade de apresentar anticorpos IgG detectáveis. Um dos pacientes ainda não havia montado resposta de anticorpos IgG específicas após 278 dias do início dos sintomas.

O único caso classificado como dengue grave em nosso estudo foi relacionado ao período pós-operatório precoce, levando a quadro de choque e hemorragia grave peri-enxerto e, conseqüentemente, extração cirúrgica do rim transplantado 10 dias após o TxR. Acreditamos que a transmissão tenha ocorrido, mais provavelmente, através do enxerto. Porém, não se pode descartar infecção do paciente em período pré ou pós-TxR. Esta evolução mais grave do quadro de dengue em pacientes com diagnóstico próximo à cirurgia, muitas vezes levando choque e a sangramento importante no enxerto, também foi descrita em outros estudos (2,14-17). Considerando os achados acima, sugere-se extremo cuidado na avaliação clínica e laboratorial de doadores e receptores no momento do TxR, principalmente quando provenientes de localidades endêmicas/epidêmicas para a dengue. A utilização de testes diagnósticos para detecção de antígenos/anticorpos imediatamente antes do TxR nesta população também é foco de discussão. Deve-se, ainda, promover a prevenção de mosquitos nos hospitais, em conjunto com as comissões de controle de infecção hospitalar (18).

A sintomatologia da dengue em transplantados renais varia de forma relevante entre os artigos publicados (2). Dentre os pacientes avaliados neste estudo, destaca-se a ausência de febre em 12,5% dos pacientes e relevante incidência de sintomas gastrointestinais como dor abdominal, (leve e transitória), náuseas, vômitos e diarreia. Artralgia ocorreu em apenas 12,5% dos pacientes. Conforme já discutido, sangramentos, sinais de choque e derrames cavitários mostraram-se menos frequentes em nosso estudo.

De modo geral, as alterações laboratoriais mostraram-se menos frequentes que as apresentadas na revisão sistemática de Weerakkody *et al.* (2). Talvez isto tenha ocorrido devido à menor gravidade identificada na presente série de casos. O período mais prolongado entre o início dos sintomas e a realização dos exames laboratoriais, além de terapias iniciais realizadas previamente em outros serviços, também possam estar causando interferência nestes resultados. Deve-se destacar a intensa alteração dos exames laboratoriais presentes no paciente que apresentou dengue logo após o TxR.

Apenas um paciente necessitou terapia dialítica durante o episódio de dengue, visto que este teve que ser submetido a enxertectomia. A disfunção da

função renal relacionada à dengue ocorreu em 66,7% dos pacientes e foi transitória em sua maioria, corroborando dados encontrados na literatura (2,13,14,17,19)

Os desfechos clínicos de nossos pacientes foram bons. Não houve relato de óbitos e apenas dois pacientes evoluíram para perda do enxerto, apenas uma delas relacionada diretamente à dengue.

O presente estudo possui relevantes limitações. Por se tratar de estudo retrospectivo, através de estudo de prontuários, sofre dos vieses inerentes a esta metodologia. A maioria dos pacientes desta série de casos moram em outras cidades, às vezes localizadas a centenas de quilômetros do nosso centro de transplantes. Isto pode reduzir a oportunidade diagnóstica e limitar a identificação de alterações clínicas e laboratoriais iniciais. A maioria dos casos de dengue apresenta-se de forma oligossintomática ou assintomática na população geral. A ausência de estudos prospectivos que avaliem a real incidência da dengue na população de transplantados renais, incluindo casos assintomáticos, acaba gerando um viés importante na análise de gravidade e de alterações clínicas e laboratoriais associadas.

Não se pode desconsiderar a possibilidade da ocorrência de reação cruzada, principalmente com outras arboviroses. No início de 2015, foi detectada uma importante epidemia pelo Zika vírus no Brasil, principalmente na região nordeste do país (20). Apesar do reduzido número de casos de Zika vírus identificados na região de origem dos pacientes incluídos, dentro do período estudado (21), não é possível excluir completamente este diagnóstico diferencial. Porém, a presença de apresentação clínica compatível associada à detecção sérica do antígeno NS1 em 13 (81,3%) pacientes, corroboram fortemente o diagnóstico de dengue. Estudos (22-27) demonstraram que a frequência de resultados falso-positivos ao se realizar a pesquisa do antígeno NS1 da dengue em pacientes infectados pelo Zika vírus é muito baixa e afirmam que a pesquisa positiva de NS1 continua sendo uma ferramenta fundamental para o diagnóstico de dengue em cenários de cocirculação destes dois arbovírus (22, 26).

Como considerações finais, a apresentação clínica e laboratorial da dengue nos pacientes estudados em nosso serviço mostrou-se de baixa gravidade, com exceção do receptor diagnosticado dentro do período pós-operatório e que evoluiu para perda do enxerto precoce. Nenhum óbito foi identificado. Houve alterações da

função renal durante a fase aguda da doença, porém, se mostraram transitórias. A dengue aparentemente não interferiu nos desfechos clínicos dos pacientes não graves. Ainda são necessários estudos adicionais, utilizando-se metodologias mais adequadas, para que se possa alcançar evidências mais fortes e menos enviesadas acerca do comportamento da dengue na população de transplantados renais e dos fatores de risco associados à gravidade da mesma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Dengue and severe dengue; 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>. Accessed 02 Mar 2018.
2. Weerakkody RM, Patrick JA, Sheriff MHR. Dengue fever in renal transplant patients: a systematic review of literature. *BMC Nephrol.* 2017;18:15.
3. Garcia JH, Rocha TD, Viana CF, et al. Dengue shock syndrome in a liver transplant recipient. *Transplantation.* 2006;82:850–851.
4. World Health Organization and the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition; 2009. <http://www.who.int/rpc/guidelines/9789241547871/en/>. Accessed 13 Jun 2018.
5. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015. *Bol Epidemiol.* 2016;47:1-10.
6. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 50, 2014. *Bol Epidemiol.* 2015;46:1-7.
7. Nga HS, Andrade LGM, Contti MM, et al. Evaluation of the 1000 renal transplants carried out at the University Hospital of the Botucatu Medical School (HCFMB) - UNESP and their evolution over the years. *J. Bras. Nefrol.* [Internet]. [cited 2018 June 13]. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-28002018005013102&lng=en. In press 2018. Epub June 04, 2018.

8. Simonnet C, Okandze A, Matheus S, et al. Prospective evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test during a dengue virus epidemic. *Eur J Clin Micro Infect Dis.* 2017;496:504-507.
9. Sánchez-Vargas LA, Sánchez-Marce EE, Vivanco-Cid H. Evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test in the course of acute and convalescent dengue infection in a Mexican endemic region. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;8:368–372.
10. Vickers IE, Harvey KM, Brown MG, et al. The performance of the SD BIOLINE Dengue DUO[®] rapid immunochromatographic test kit for the detection of NS1 antigen, IgM and IgG antibodies during a dengue type 1 epidemic in Jamaica. *J Biomed Sci.* 2015;22:55.
11. Pal S, Dauner AL, Valks A, et al. Multicountry prospective clinical evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays and two rapid diagnostic tests for diagnosing dengue fever. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1092–1102.
12. Gan VC, Tan LK, Lye DC, et al. Diagnosing dengue at the point-of-care: utility of a rapid combined diagnostic kit in Singapore. *PLoS One.* 2014;9:e90037.
13. Nasim A, Anis S, Baqi S, et al. Clinical presentation and outcome of dengue viral infection in live-related renal transplant recipients in Karachi, Pakistan. *Transpl Infect Dis.* 2013;15:516-525.
14. Fernandes PFCBC, Siqueira RA, Girão ES, et al. Dengue in renal transplant recipients: clinical course and impact on renal function. *World J Transplant.* 2017;7:57-63.
15. Prasad N, Bhadauria D, Sharma RK, et al. Dengue virus infection in renal allograft recipients: a case series during 2010 outbreak. *Transpl Infect Dis.* 2012;14:163-168.
16. Rosso F, Pineda JC, Sanz AM, et al. Transmission of dengue virus from deceased donors to solid organ transplant recipients: case report and literature review. *Braz J Infect Dis.* 2018;22:63-69.
17. Costa SD, da Silva GB, Jacinto CN, et al. Dengue fever among renal transplant recipients: a series of 10 cases in a tropical country. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;93:394-396.

18. Almeida-Nunes J, Marcilio I, Oliveira MS, et al. Hospital-Acquired Vector-Transmitted Dengue Fever: An Overlooked Problem? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37:1387-1389.
19. Azevedo LS, Carvalho DBM, Matuck T, et al. Dengue in renal transplant patients: a retrospective analysis. *Transplantation.* 2007;84:792-794.
20. Zanluca C, de Melo VC, Mosimann AL, et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:569–572.
21. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – Brasil. Situação epidemiológica das arboviroses no estado de São Paulo: Dengue; Chikungunya; Zika vírus. *BEPA.* 2016;13:31-37.
22. Matheus S, Boukhari R, Labeau B, et al. Specificity of Dengue NS1 Antigen in Differential Diagnosis of Dengue and Zika Virus Infection. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:1691-1693.
23. Gao X, Wen Y, Wang J, et al. Delayed and highly specific antibody response to nonstructural protein 1 (NS1) revealed during natural human ZIKV infection by NS1-based capture ELISA. *BMC Infect Dis.* 2018;18:275.
24. Azeredo EL, dos Santos FB, Barbosa LS, et al. Clinical and laboratory profile of Zika and dengue infected patients: lessons learned from the co-circulation of dengue, Zika and Chikungunya in Brazil. *PLoS Curr.* 2018;10:ecurrents.outbreaks.0bf6aeb4d30824de63c4d5d745b217f5.
25. Gyurech D, Schilling J, Schmidt-Chanasit J, et al. False positive dengue NS1 antigen test in a traveller with an acute Zika virus infection imported into Switzerland. *Swiss Med Wkly.* 2016;146:w14296.
26. van Meer MPA, Mogling R, Klaasse J, et al. Re-evaluation of routine dengue virus serology in travelers in the era of Zika virus emergence. *J Clin Virol.* 2017;92:25–31.
27. Fernanda Estofolete C, Terzian AC, Parreira R, et al. Clinical and laboratory profile of Zika virus infection in dengue suspected patients: A case series. *J Clin Virol.* 2016;81:25–30.

**MANUSCRITO 2 – COMUNICAÇÃO BREVE (FORMATAÇÃO:
AMERICAN JOURNAL OF TRANSPLANTATION)**

Evolução antigênica e sorológica após infecção pelo vírus da dengue em receptores de transplante renal: há um padrão atípico?

Jonas Atique Sawazaki¹, Iago Perdoná Rodrigues da Silva¹, Ricardo de Souza Cavalcante², Sebastião Pires Ferreira Filho², Tassiana Rodrigues dos Santos Galvão¹, Luis Gustavo Modelli de Andrade³, Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida².

¹Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP, Brasil.

²Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem, Botucatu, SP, Brasil.

³Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Clínica Médica, Botucatu, SP, Brasil.

*Autor correspondente: Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida. Email: almeidaramb@yahoo.com.br.

Não foram identificados estudos que avaliassem a evolução sorológica e antigênica da dengue em pacientes transplantados renais a longo prazo. Este foi o objetivo do presente estudo de série de casos. Foram incluídos todos os transplantados renais diagnosticados com dengue em nosso serviço entre janeiro de 2013 a julho de 2016. Sempre que possível, foi avaliada a evolução do antígeno NS1 e dos anticorpos das classes IgG e IgM através de teste de imunocromatografia comercial. Foram incluídos 16 pacientes. Dentre os 13 (86,7%) pacientes com NS1 reagente, este mostrou-se ainda detectável até 28 dias após o início dos sintomas. Anticorpos IgM foram identificados em 93,3% dos pacientes. Em 85,7% dos pacientes que apresentaram anticorpos IgM, estes mantiveram-se detectáveis até o final do seguimento sorológico, que estendeu-se por até 786 dias. Dez (76,9%) pacientes apresentaram anticorpos IgG. A mediana de tempo entre o início dos sintomas e a primeira detecção de anticorpos IgG foi de 24 dias, porém, chegou a 266 dias. Metade dos pacientes deixaram de apresentar anticorpos IgG durante o acompanhamento sorológico. Devido ao extenso período de detecção de anticorpos IgM, deve-se ter cuidado com futuros diagnósticos falso-positivos. Sugere-se que testes para detecção de antígenos devam sempre ser realizados e, quando indisponíveis ou negativos, diagnósticos diferenciais não devam ser prontamente desconsiderados. Estudos prospectivos devem ser realizados, através de técnicas laboratoriais mais acuradas, para que este fenômeno antigênico e sorológico possa ser ratificado.

Abreviações: Nenhuma.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose de importância mundial, que pode resultar em casos graves e óbito (1). Algumas populações parecem mostrar-se predispostas a apresentações mais graves, como é o caso de pacientes imunossuprimidos (2,3).

Apesar de ampla distribuição e relevância, a literatura científica relacionada ao comportamento da dengue em pacientes transplantados renais é escassa. Há relatos de casos com evoluções mais graves e outros cuja apresentação clínica e laboratorial mostraram-se semelhantes às dos pacientes não imunossuprimidos. Uma revisão sistemática publicada em 2017 identificou 11 estudos e 168 pacientes transplantados renais com diagnóstico de dengue (3). Esta revisão mostrou evidências de que a incidência da forma grave da dengue, assim como a sua mortalidade, foram mais elevadas em pacientes transplantados renais, quando comparadas com a população geral. A apresentação clínica e laboratorial também se mostrou significativamente diferente. Contudo, o elevado risco de viés dos artigos existentes ainda dificulta a extrapolação destes dados para toda a população em questão (3).

Considerando a escassez de dados na literatura, propôs-se um estudo para identificar e descrever todos os casos de dengue acompanhados pelo nosso serviço de transplante renal no período de janeiro de 2013 a julho de 2016, durante o qual houve uma acentuada elevação do número de casos em nossa região, assim como em todo o Brasil (1). Considerando, ainda, a inexistência de estudos que avaliassem a evolução sorológica e antigênica da dengue em pacientes transplantados renais a longo prazo, propôs-se também realizar, sempre que possível, o acompanhamento mais prolongado do comportamento do marcador antigênico NS1 e dos anticorpos das classes IgG e IgM de cada paciente.

Os dados mais detalhados sobre as evoluções clínicas e laboratoriais gerais destes pacientes deverão ser apresentados oportunamente em outra publicação científica. Esta comunicação breve pretende chamar a atenção para os resultados relacionados às evoluções antigênicas e sorológicas atípicas identificadas, assim como para a sua consequente importância na prática clínica, além de realizar propostas de estudos complementares na área.

MÉTODOS

Foi realizado um estudo de série de casos, no qual foram incluídos todos os transplantados renais diagnosticados com dengue dentro do período de janeiro de 2013 a julho de 2016, atendidos pelo Serviço de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, localizado na cidade de Botucatu, interior do Estado de São Paulo, Brasil. Os pacientes submetidos a transplantes não exclusivamente renais foram excluídos.

O diagnóstico de dengue foi realizado através da presença de quadro clínico e laboratorial sugestivos, associados a teste de imunocromatografia reagente para o antígeno NS1 e/ou anticorpos da classe IgM (SD BIOLINE™ Dengue Duo rapid test, Standard Diagnostic Inc. Republic of Korea / SD BIOLINE™ Dengue NS1 Ag, Standard Diagnostic Inc. Republic of Korea). Em alguns casos, o diagnóstico através do teste de imunocromatografia foi corroborado pela positividade de teste comercial de MAC-ELISA, realizado no laboratório de referência Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil. O seguimento do comportamento do marcador antigênico NS1 e dos anticorpos das classes IgG e IgM de cada paciente foi realizado sempre que possível. Este ocorreu mais frequentemente durante a fase aguda e de convalescença e, posteriormente, de acordo com as consultas de rotina. Os testes comerciais baseados em imunocromatografia utilizados para esta avaliação foram os mesmos utilizados para o diagnóstico da dengue.

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes incluídos no estudo foram revisados de forma retrospectiva, por meio de prontuário eletrônico.

Foi realizada análise estatística descritiva.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP (Parecer 1.621.922).

RESULTADOS

A tabela 1 mostra os dados relativos a cada paciente estudado.

Tabela 1 – Características, desfechos clínicos e resposta sorológica de receptores de TxR infectados pelo vírus da dengue.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16
Idade (a)	28	48	57	43	40	35	24	48	21	48	75	58	35	40	37	35
Sexo	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	F	M	F	M
Tempo entre o TxR e Sx da dengue (d)	237	1659	4538	2993	215	370	3435	307	NR	NR	501	527	52	4164	952	8
Doador	Falecido	Falecido	Vivo	Vivo	Falecido	Falecido	Vivo	Falecido	Vivo	Falecido	Falecido	Vivo	Vivo	Vivo	Falecido	Vivo
Indução da IS	Basiliximabe	Basiliximabe	Não	Não	Basiliximabe	Timo	Não	Basiliximabe	Não	Basiliximabe	Basiliximabe	Basiliximabe	Não	Não	Timo	Timo
Manutenção da IS	FK/MPS/PDN	SIR/MPS/PDN	MPS/PDN	SIR/MPS/PDN	FK/MPS/PDN	FK/MPS/PDN	FK/MPS/PDN	FK/MPS/PDN	FK/SIR/PDN	FK+MPS+PDN	FK+SIR+PDN	FK+MPS+PDN	FK+MPS+PDN	MMF+PDN	FK+MPS+PDN	FK+MPS+PDN
Etiologia da IRCT	Des	Des	GN	GN	Des	DM	AETU	DM	GN	HAS	AINH	HAS	Des	Des	GN	Des
Data do Dx	23/02/2015	26/02/2015	09/05/2014	13/02/2015	14/05/2015	03/06/2015	20/04/2015	07/05/2015	09/02/2015	09/04/2013	06/05/2015	15/05/2014	08/04/2014	09/06/2013	29/03/2016	24/03/2015
Dx confirmatório	NS1/IgM/IgG	NS1/IgM/IgG	NS1	IgM	NS1/IgM/IgG	IgM/IgG	NS1/IgM/IgG	NS1/IgM/IgG	NS1/IgM/IgG	NS1/IgM/IgG	NS1	NS1/IgM/IgG	NS1/IgM	NS1/IgM	NS1/IgM/IgG	IgM/IgG
Tempo entre Sx e o Dx sorológico (d)	3	8	7	12	3	7	3	21	NR	NR	2	5	7	7	7	5
Seguimento sorológico desde o início dos Sx (d)	46	8	18	278	360	757	786	21	NR	NR	2	449	15	8	457	5
Seguimento sorológico desde a confirmação do Dx (d)	43	0	11	266	357	750	783	0	360	0	0	445	8	1	450	0
Tempo de seguimento clínico (d)	855	880	1140	879	357	750	783	817	918	1546	827	1227	1206	457	450	716
Desfecho clínico	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/PE	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/EF	Vivo/PE
NS1 positivo	Sim	Sim	Sim	NA	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
Tempo entre Sx e a 1ª detecção de NS1 (d)	3	8	7	NA	3	NA	3	21	NR	NR	2	14	7	7	7	NA
Tempo entre Sx e a última detecção de NS1 (d)	27	8	7	NA	17	NA	3	21 (AP)	NR	NR (AP)	2 (AP)	28	7 (AP)	7 (AP)	7	NA
IgM positivo	Sim	Sim	NA	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Tempo entre Sx e a 1ª detecção de IgM (d)	24	8	NA	12	17	7	39	21	NR	NR	NA	5	15	8	7	5
Tempo entre Sx e a última detecção de IgM (d)	46 (AP)	8 (AP)	NA	278 (AP)	262	757 (AP)	786 (AP)	21 (AP)	NR (AP)	NR (AP)	NA	448 (AP)	15 (AP)	8 (AP)	457 (AP)	5 (AP)
IgG positivo	Sim	Sim	NA	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	NA	NA	Sim	Sim
Tempo entre Sx e a 1ª detecção de IgG (d)	24	8	NA	NA	52	155	39	21	NR	NA	NA	266	NA	NA	7	5
Tempo entre Sx e a última detecção de IgG (d)	46 (AP)	8 (AP)	NA	NA	262	757 (AP)	693	21 (AP)	NR (AP)	NA	NA	266	NA	NA	457 (AP)	5 (AP)

TxR = transplante renal; a = anos; d = dias; M = masculino; F = feminino; Sx = sintomas; IS = imunossupressão; Timo = timoglogulina; FK = tacrolimo; MPS = micofenolato sódico; SIR = sirolimo; PDN = prednisona; Timo = timoglobulina; IRCT = insuficiência renal crônica terminal; Des = desconhecida; GN = glomerulonefrite; DM = diabetes mellitus; AETU = alteração estrutural do trato urinário; HAS = hipertensão arterial sistêmica; AINH = anti-inflamatório não hormonal; Dx = diagnóstico; EF = enxerto funcionante ; PE = perda do enxerto; NA = não disponível ou não aplicável; NR = não reportado; AP = ainda positivo ao final do seguimento sorológico.

Durante o período proposto, foram identificados 16 pacientes transplantados renais com infecção pelo vírus da dengue, incluindo uma possível transmissão através do enxerto oriundo de doador vivo (paciente nº 16 da tabela 1), que resultou em perda precoce do enxerto.

A pesquisa de NS1 esteve disponível para 15 pacientes. Dentre os 13 (86,7%) transplantados com NS1 reagente, pode-se observar que o mesmo mostrou-se positivo desde dois dias até 28 dias após o início dos sintomas.

A resposta através de anticorpos específicos da classe IgM foi identificada em 14 (93,3%) pacientes. A mediana de tempo entre o início dos sintomas e o primeiro exame reagente disponível foi de oito dias, variando entre cinco e 39 dias. Seis pacientes (85,7%), dentre os sete que apresentaram resposta sorológica inicial através de anticorpos tipo IgM e que coletaram pelo menos outra amostra subsequente, mantiveram a detecção sérica destes anticorpos até o final do período de seguimento sorológico, que foi, em média, de 448 dias após o início dos sintomas. Porém, este período estendeu-se por até 786 dias.

Dez (76,9%) pacientes apresentaram resposta sorológica com anticorpos específicos da classe IgG durante o seguimento sorológico médio de 288 dias. A mediana de tempo entre o início dos sintomas e a detecção dos anticorpos IgG foi de 24 dias, porém, chegou a 266 dias. Um dos pacientes ainda não apresentava anticorpos IgG após 278 dias do início dos sintomas (paciente nº 4 da tabela 1). Metade dos seis pacientes que montaram resposta inicial através de anticorpos IgG e que coletaram pelo menos outra amostra subsequente deixaram de apresentar anticorpos IgG detectáveis durante o acompanhamento sorológico.

Em um dos pacientes estudados (paciente nº 5 da tabela 1), os anticorpos das classes IgM e IgG deixaram de ser detectados 262 dias após o início dos sintomas, porém, após apresentar sintomatologia leve compatível com dengue, mostraram-se novamente reagentes, respectivamente, 91 dias e 105 dias após negatificação, mantendo-se detectáveis até o final do novo follow-up sorológico de 280 dias.

Não foram encontradas informações sobre episódios prévios de dengue e outras arboviroses nos prontuários dos pacientes incluídos no estudo.

DISCUSSÃO

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo que avaliou de forma seriada e prolongada a resposta antigênica e sorológica da infecção pelo vírus da dengue em transplantados renais. A identificação de período prolongado de antigenemia da dengue, chegando a 28 dias através da metodologia laboratorial utilizada, também parece ser inédita na literatura. de Souza Pereira et al. (2) demonstraram a presença de viremia, através de RT-PCR in-house, até 80 dias após início dos sintomas da dengue em paciente submetido a transplante de células-tronco hematopoiéticas. Estes resultados evidenciam o elevado tempo de viremia a que pacientes transplantados podem estar sujeitos.

Talvez o fenômeno sorológico mais atípico observado em nosso estudo tenha sido a manutenção da resposta de anticorpos IgM por períodos extremamente prolongados. A identificação deste padrão sorológico parece preocupante, visto ser provável que a manutenção de anticorpos da classe IgM por até pelo menos 786 dias após o episódio de dengue possa levar a diagnósticos falso-positivos. Consequentemente, pode haver conduções equivocadas de quadros clínicos semelhantes originados por outras etiologias, sejam infecciosas ou não, como no caso de rejeições agudas ao enxerto.

O período entre o início dos sintomas e a detecção de anticorpos da classe IgG também se mostrou bastante elevado. Nasim *et al.* (4) corroboram estes dados, mostrando que, de 21 pacientes transplantados renais que eram inicialmente IgM positivos e IgG negativos, 10 (48%) não haviam montado uma resposta de anticorpos IgG após 15 semanas, em média. Outro fenômeno relevante identificado no presente estudo foi que 50,0% dos pacientes tenham deixado de apresentar anticorpos IgG detectáveis durante o acompanhamento sorológico. Um dos pacientes não havia montado resposta de anticorpos IgG específicas após 278 dias do início dos sintomas. Considerando este comportamento, assim como Weerakkody *et al.* (3), acreditamos que se deva ter bastante cuidado quanto à classificação de primoinfecção ou reinfecção da dengue em transplantados renais utilizando-se a identificação de anticorpos da classe IgG no momento do diagnóstico. Deve-se estudar, ainda, as possíveis consequências deste fenômeno com relação à susceptibilidade a novas infecções pelo vírus da dengue, assim como a futuras formas clínicas da doença.

O padrão clínico-laboratorial do paciente em que os anticorpos das classes IgM e IgG haviam deixado de ser detectados e tornaram-se novamente reagentes, após apresentar sintomatologia compatível, sugere reinfecção pelo vírus da dengue. Neste caso, a sintomatologia mostrou-se leve.

Uma das limitações de nossa avaliação antigênica e sorológica prolongada talvez pudesse estar relacionada à técnica utilizada para a detecção dos seus marcadores. Estudos (5-9) mostraram que a sensibilidade e especificidade geral dos testes SD BIOLINE™ Dengue Duo rapid test e SD BIOLINE™ Dengue NS1 Ag mostraram-se muito boas quando comparadas com os testes de referência, geralmente acima de 90%. Esta adequada acurácia foi demonstrada em várias regiões do mundo, nas infecções primárias e secundárias, durante as fases aguda e de convalescença da doença, e para os diferentes sorotipos da dengue. Alguns artigos demonstraram que a sensibilidade na detecção específica de anticorpos da classe IgM pelo teste de imunocromatografia utilizado foi menor, quando comparada ao antígeno NS1 e com os anticorpos IgG (5-7). Porém, este fato talvez possa indicar que o período de detecção dos anticorpos da classe IgM contra dengue nos transplantados renais possa ser ainda mais prolongado do que os apresentados no presente estudo.

Cabe ressaltar que, na prática clínica, a imunocromatografia geralmente é a técnica mais rápida e muitas vezes a única disponível para a tomada de decisões clínicas devendo, portanto, ser amplamente estudada nesta população específica de transplantados renais. Não foi possível a realização de técnicas laboratoriais que pudessem identificar os tipos virais da dengue implicados nas infecções dos pacientes estudados. Porém, de acordo com dados oficiais do Ministério da Saúde do Brasil, o vírus da dengue tipo 1 prevaleceu em nosso Estado entre os anos de 2014 e 2016, variando entre 84,6% a 99% (10-12).

Não se pode desconsiderar a possibilidade da ocorrência de reação cruzada, principalmente com outras arboviroses, destacando-se a infecção pelo Zika vírus. No início de 2015, foi detectada uma importante epidemia pelo Zika vírus no Brasil, principalmente na região nordeste do país (13). Apesar do reduzido número de casos de Zika vírus identificados na região de origem dos pacientes incluídos, dentro do período estudado (14), não é possível excluir completamente este diagnóstico diferencial. Porém, a presença de apresentação clínica compatível e a detecção sérica do antígeno NS1 em 13 (81,3%) pacientes, acompanhada de

positivação ordenada e sustentada de anticorpos da classe IgM e IgG, são fortes evidências de se tratar de infecções pelo vírus da dengue. Estudos (15-20) demonstraram a possibilidade de ocorrerem resultados falso-positivos ao se realizar a pesquisa do antígeno NS1 da dengue em pacientes infectados pelo Zika vírus. Porém, estes estudos evidenciam que tal fenômeno possui frequência muito baixa e que a pesquisa positiva de NS1 continua sendo uma ferramenta fundamental para o diagnóstico de dengue em cenários em que haja a circulação de ambos os vírus.

Acreditamos que estes resultados inéditos devam ser amplamente divulgados e que novos estudos prospectivos sejam desenhados para que este fenômeno antigênico e sorológico possa ser ratificado e melhor explorado através de técnicas laboratoriais mais acuradas.

Propõe-se, à luz das novas evidências, que se tenha maior cuidado ao interpretar resultados de testes sorológicos em situações clínicas sugestivas de infecção pelo vírus da dengue em transplantados renais, e talvez até mesmo quando se tratar de outros tipos de transplante e imunossupressão. A identificação de anticorpos da classe IgM, pelo menos através do método de imunocromatografia utilizado, pode não corresponder à infecção aguda pelo vírus da dengue no momento da coleta mas, na verdade, a infecções adquiridas previamente, há vários meses ou anos. Sugerimos que, para estes casos, sejam solicitados exames que sejam capazes de detectar antígenos, como a proteína NS1 e RT-PCR, mesmo quando já se tenham passado cinco dias do início dos sintomas. Quando não houver disponibilidade de exames para a detecção de antigenemia e/ou viremia, ou no caso em que estes se mostrarem negativos, sugere-se fortemente que outras infecções ou até mesmo quadros febris não infecciosos, como rejeições agudas, não sejam prontamente desconsiderados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Dengue and severe dengue; 2018 [updated 2018 Feb 2; cited 2018 Aug 13]. Available from: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
2. de Souza Pereira BB, Darrigo Junior LG, de Mello Costa TC, et al. Prolonged viremia in dengue virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients

- and patients with hematological malignancies. *Transpl Infect Dis* 2017; 19: e12721.
3. Weerakkody RM, Patrick JA, Sheriff MHR. Dengue fever in renal transplant patients: a systematic review of literature. *BMC Nephrol* 2017; 18: 15.
 4. Nasim A, Anis S, Baqi S, Akhtar SF, Baig-Ansari N. Clinical pre-sentation and outcome of dengue viral infection in live-relatedrenal transplant recipients in Karachi, Pakistan. *Transpl Infect Dis* 2013; 15: 516–525.
 5. Simonnet C, Okandze A, Matheus S. et al. Prospective evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test during a dengue virus epidemic. *Eur J Clin Micro Infect Dis* 2017; 496: 504-507.
 6. Sánchez-Vargas LA, Sánchez-Marce EE, Vivanco-Cid H. Evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test in the course of acute and convalescent dengue infection in a Mexican endemic region. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 8: 368–372.
 7. Vickers IE, Harvey KM, Brown MG, et al. The performance of the SD BIOLINE Dengue DUO[®] rapid immunochromatographic test kit for the detection of NS1 antigen, IgM and IgG antibodies during a dengue type 1 epidemic in Jamaica. *J Biomed Sci* 2015; 22: 55.
 8. Pal S, Dauner AL, Valks A, et al. Multicountry prospective clinical evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays and two rapid diagnostic tests for diagnosing dengue fever. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 1092–1102.
 9. Gan VC, Tan LK, Lye DC, et al. Diagnosing dengue at the point-of-care: utility of a rapid combined diagnostic kit in Singapore. *PLoS One* 2014; 9: e90037.
 10. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue e febre de Chikungunya até a Semana Epidemiológica (SE) 53 de 2014. *Bol Epidemiol* 2015; 46 (3): 1-7.
 11. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015. *Bol Epidemiol* 2016; 47 (3): 1-10.
 12. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de Chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 32, 2016. *Bol Epidemiol* 2016; 47 (33): 1-10.

13. Zanluca C, de Melo VC, Mosimann AL, Dos Santos GI, Dos Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015; 110: 569–572.
14. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – Brasil. Situação epidemiológica das arboviroses no estado de São Paulo: Dengue; Chikungunya; Zika vírus. *BEPA* 2016; 13: 31-37.
15. Matheus S, Boukhari R, Labeau B, et al. Specificity of Dengue NS1 Antigen in Differential Diagnosis of Dengue and Zika Virus Infection. *Emerg Infect Dis* 2016; 22:1691-1693.
16. Gao X, Wen Y, Wang J, et al. Delayed and highly specific antibody response to nonstructural protein 1 (NS1) revealed during natural human ZIKV infection by NS1-based capture ELISA. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 275.
17. Azeredo EL, dos Santos FB, Barbosa LS, et al. Clinical and laboratory profile of Zika and dengue infected patients: lessons learned from the co-circulation of dengue, Zika and Chikungunya in Brazil. *PLoS Curr* 2018; 10: ecurrents.outbreaks.0bf6aeb4d30824de63c4d5d745b217f5.
18. Gyurech D, Schilling J, Schmidt-Chanasit J, Cassinotti P, Kaeppli F, Dobec M. False positive dengue NS1 antigen test in a traveller with an acute Zika virus infection imported into Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2016; 146: w14296.
19. van Meer MPA, Mogling R, Klaasse J, et al. Re-evaluation of routine dengue virus serology in travelers in the era of Zika virus emergence. *J Clin Virol* 2017; 92: 25–31.
20. Fernanda Estofolete C, Terzian AC, Parreira R, et al. Clinical and laboratory profile of Zika virus infection in dengue suspected patients: A case series. *J Clin Virol* 2016; 81: 25–30.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Evolução clínica, laboratorial e imunológica da infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos ao transplante renal.

Pesquisador: Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 56635216.8.0000.5411

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.621.922

Apresentação do Projeto:

Projeto adequadamente apresentado.

Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar a evolução clínica, laboratorial, antigênica e imunológica da infecção pelo vírus da dengue em pacientes submetidos a transplante renal.

Serão incluídos pacientes cuja infecção pelo vírus da dengue tenha sido comprovada por exames sorológico imunoenzimático e/ou imunocromatográfico e que tenham sido acompanhados no ambulatório de Infectologia em Imunossuprimidos no período de janeiro de 2013 a julho de 2016.

Critérios de exclusão: pacientes cujo transplante não seja exclusivamente renal.

Tamanho amostral estimado: 10 indivíduos.

Apresenta planilha com os dados a serem coletados.

A confidencialidade dos dados pessoais dos pacientes incluídos no estudo será garantida.

Custo estimado de R\$ 200,00 a ser financiado pelos autores.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto não envolverá riscos ou benefícios aos sujeitos da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de interesse em sua área.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 1.621.922

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os autores solicitam dispensa da aplicação do TCLE, uma vez que haverá dificuldade para contatar os pacientes transplantados. Adicionalmente, trata-se de projeto observacional.

Recomendações:

Apresentar Relatório Final de Atividades.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo a aprovação pelo CEP, sem necessidade de envio à CONEP

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião ORDINÁRIA do CEP de 04 de Julho de 2.016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP, no entanto, solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado para análise o respectivo "Relatório Final de Atividades", o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_707754.pdf	01/06/2016 17:44:43		Aceito
Outros	1183_EAP_ANUENCIA.pdf	01/06/2016 17:43:47	Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_dengue_TxR_Jonas_CEP.pdf	25/05/2016 01:51:21	Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_dengue_TxR.pdf	25/05/2016 01:49:02	Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



UNESP -FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU



Continuação do Parecer: 1.621.922

BOTUCATU, 05 de Julho de 2016

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br