



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELOS *POLYOMAVIRUS JC E BK* EM  
PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA E TRANSPLANTADOS**

ELIZABETE PEREIRA PIRES

Belém-Pará

2009

**ELIZABETE PEREIRA PIRES**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELOS *POLYOMAVIRUS JC E BK* EM  
PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA E TRANSPLANTADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto

Belém-Pará

2009

Pires, Elizabete Pereira

Prevalência da infecção pelos *Polyomavirus JC* e *BK* em Pacientes com Doença Renal Crônica e Transplantados, Belém, Pará, 2009, 89p., Dissertação de Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

1. *Polyomavirus JC* e *BK* 2. Doença renal crônica 3. Transplantados

ELIZABETE PEREIRA PIRES

ELIZABETE PEREIRA PIRES

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELOS *POLYOMAVIRUS JC E BK* EM  
PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA E TRANSPLANTADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Banca Examinadora: Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dra. Izaura Maria Vieira Cayres Vallinoto  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Ricardo Ishak  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Sandro Percário (Suplente)  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Belém, 30 de setembro de 2009

“...David filho de Jessé, da tribo de Judá; derrotou o gigante Golias, da tribo de Gate, pertencente ao povo filisteu.

O tamanho e a força do gigante guerreiro, que nunca havia sido derrotado, intimidavam o exército de Israel.

David, ao contrário dos demais do seu povo, olhava muito além, pois tinha os olhos voltados para o Criador dos céus e da terra, cuja força é inigualável.

Eu não sei qual o gigante que você, não está conseguindo derrotar. Contudo, tal como David, não fixe os olhos no seu problema. Olhe para cima e veja Aquele que é superior a tudo e a todos”.

(Rogério Greco, adaptado do Direito Penal)

A Deus, sobre todas as coisas, pelas oportunidades a mim oferecidas.

Ao meu querido e amado esposo Antonio pelo companheirismo incondicional.

Aos meus filhos, Danilo, Yasmin, Daniel, Adriana e  
Thiago que me alimentaram com amor e esperança.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto pela oportunidade de vivenciar experiências engrandecedoras, dando-me suporte intelectual e orientações objetivas, o que certamente foi de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Doutores Ricardo Ishak, Antonio Carlos R. Vallinoto, Luiz Fernando Machado, Sandro Percário e Marluísa Ishak, que por meio do Programa de pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários nos oferece ensino da mais alta qualidade e as condições necessárias para a execução das atividades práticas no laboratório de virologia.

Ao corpo docente do programa de pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, pelas aulas maravilhosas e empolgantes, que me serviram de estímulo e a perceber a importância da continuidade do estudo em uma busca incessante de novos conhecimentos.

A Dr<sup>a</sup> Cristina Viegas Bernardino da UDI, pela receptividade, permissão e ajuda ao acesso aos pacientes e coleta de amostras.

A querida Dr<sup>a</sup> Denise de Melo Alves, pelas amostras cedidas dos pacientes da CCI-NEFRO, pela amizade carinhosa desenvolvida ao longo deste trabalho, pelos esclarecimentos de dúvidas e pelas nossas conversas amistosas e divertidas.

A Dr<sup>a</sup> Silvia Regina Cruz Migone do Hospital Ophir Loyola, pela facilitação de obtenção de amostras dos pacientes transplantados, por ter me adotado, orientado, ministrado aulas de nefrologia básica nos seus plantões e esclarecido minhas dúvidas, sempre de forma receptiva e calorosa.

Ao meu querido companheiro, esposo, meu amor Antonio, pela compreensão e dedicação, gerando todas as condições favoráveis para que eu pudesse ter equilíbrio para estudar, assumindo de forma competente a gerência do nosso lar, cuidando dos nossos filhos e me proporcionando tranqüilidade e paz. Te amo eternamente.

Aos meus amados filhos Danilo, Yasmin, Daniel, Thiago e Adriana; netas: Isabelle e Mariana e meu sobrinho/filho André, que muitas vezes reclamaram a minha ausência, mas que puderam superá-la, compreendendo o amor que sinto pelo que faço e que devemos expandir a nossa família e servi-la de maneira universal. Vocês sempre serão a minha maior motivação por tudo que representam na minha vida; além de todas as estrelas do céu e do infinito.

A minha mãe, que sempre foi o meu maior exemplo de perseverança, competência, humildade e amor a profissão. Tenho orgulho de ser sua filha e a pretensão de me achar parecida com a senhora. Obrigada minha mãe pelo seu zelo, amor e dedicação.

A minha irmã preferida Ester Pires que sempre me recebeu com afeto quando precisei. E ao meu irmão Nilson Pires (*in memorian*) que certamente estará sempre ao meu lado.

Aos meus entes queridos que durante a realização do mestrado, foram para o outro plano. Tia Rosilda (*in memorian*), meu pai Nilson (*in memorian*) e o meu sobrinho/primo Bruno Abner (*in memorian*), que não estarão presente em corpo para assistir o desfecho deste trabalho, mas que em alma estarão sempre no meu coração e nas minhas lembranças.



Aos pacientes doentes renais crônicos e transplantados que disponibilizaram as amostras para a execução deste trabalho.

A Associação dos Renais Crônicos e Transplantados do Pará (ARCT-PA), pelos esclarecimentos e dados fornecidos pela diretora Belina Soares.

Ao Laboratório de análises clínicas da Universidade Federal do Pará, pela colaboração e doação de material biológico.

Aos gentis professores doutorandos: Simone Conde, Rosimar Neris e Carlos Barros, e a Dr<sup>a</sup> Izaura Vallinoto, pela presteza, auxílio, ensinamentos e por acreditarem no trabalho por mim desenvolvido.

A grande família do laboratório de Virologia, que me acolheu e me ensinou a prática laboratorial permitindo o meu crescimento intelectual e espiritual, ajudando-me a superar os meus momentos de angústias com gestos e palavras de carinho dando-me forças para perseverar na minha luta e concluir este trabalho. Aos meus queridos mestres e alunos: Maria Helena, professora Vânia Nakuth, aos meninos: Alexandre, Tiago Medina, Felipe, Leonardo, Lúcio, Iran, Igor; as meninas maravilhosas, flores do meu jardim: Di Paula, Jacqueline, Ethienne, Núbia Caroline, Carol Miranda, Larissa, Ana Cássia, Paula, Andréa, Tany, Érica, Juliana, Samara, Priscila, Luana, Izete, Roberta, Gisele Ruela, Sandra e Steffany. Muito obrigada, que os nossos bons momentos de alegria e festa sejam eternizados em nossas mentes.

As meninhas super poderosas Lucinda, pelo gesto carinhoso de me receber, no grupo de estudo, sem sequer me conhecer e pelo incentivo e carinho filial que me dispensa; Renata, minha outra filha do coração que recebi de Deus, amorosa e dedicada. Ambas sempre solícitas para todos que

precisam de ajuda, constituindo-se em verdadeiros exemplos de desenvolvimento intelectual e humano. Minhas mestras em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários e minhas doutoras em humanidade.

Diante de tantos desafios erros e acertos, nunca deixei de acreditar que os esclarecimentos das minhas dúvidas, viriam na hora certa. Não me refiro às técnicas moleculares, aos inúmeros artigos que li ou na complexidade da pesquisa executada. Refiro-me ao papel que desempenhei dentro do laboratório de Virologia.

Deus na sua infinita misericórdia me fez entender que eu devia simplesmente servi-lo em nome daqueles que sofrem.

Refliro, sobre a longa caminhada e atuação do laboratório de Virologia no decorrer dos anos, da doação e entrega dos nobres doutores e alunos que conduzem as pesquisas neste laboratório e que devolvem para a sociedade os resultados que ajudarão a transformar a realidade e melhorar a qualidade de vida da população. Por isso, agradeço a Deus pelo merecimento de ter compartilhado desta família e peço-lhe que abençoe a todos que incansavelmente trabalham em nome Dele.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS E QUADROS .....</b>	<b>13</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>14</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>15</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>16</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1 OS POLIOMAVÍRUS.....	17
1.2 BIOLOGIA DOS POLIOMAVÍRUS .....	20
<b>1.2.1 Classificação Genotípica do JCV .....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.2 Classificação Genotípica do BKV .....</b>	<b>24</b>
1.3 REPLICAÇÃO DOS POLIOMAVÍRUS.....	24
1.4 EPIDEMIOLOGIA DO JCV E DO BKV.....	27
<b>1.4.1 Transmissão .....</b>	<b>27</b>
<b>1.4.2 Distribuição Geográfica.....</b>	<b>28</b>
1.5 A PATOGENIA DA INFECÇÃO POR POLIOMAVÍRUS .....	29
<b>1.5.1 Manifestações Clínicas.....</b>	<b>31</b>
1.6 DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC) .....	33
<b>1.6.1 Classificação da DRC .....</b>	<b>36</b>
<b>1.6.2 Epidemiologia da DRC.....</b>	<b>37</b>
1.7 DRC NO PARÁ .....	39
1.8 TRANSPLANTE RENAL .....	42
1.9 POLIOMAVÍRUS NA DRC E NO TRANSPLANTE RENAL.....	44
1.10 OBJETIVOS.....	47
<b>1.10.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>47</b>

<b>1.10.2 Objetivos Específicos</b> .....	47
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	48
2.1 POPULAÇÕES EXAMINADAS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS .....	48
2.1.1 População Assintomática.....	48
2.1.2 População de Pacientes com DRC .....	48
2.1.3 Transplantados .....	49
2.1.4 Aspectos éticos.....	49
2.1.5 Coleta de Amostras.....	50
2.1.5.1 Amostras de urina .....	50
2.2 EXTRAÇÃO DO DNA .....	50
2.3 REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR).....	51
2.4 DIGESTÃO ENZIMÁTICA.....	52
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
<b>3 RESULTADOS</b> .....	53
3.1 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR POLIOMAVÍRUS.....	53
3.1 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR JCV E BKV.....	54
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	57
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	62
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	63
<b>ANEXO 01</b> .....	88
<b>ANEXO 02</b> .....	89

**LISTA DE TABELAS E QUADROS**

Tabela 1 - Distribuição da prevalência da infecção por <i>Polyomavirus</i> .....	54
Tabela 2 - Distribuição do JCV e BKV entre os grupos analisados.....	55
Quadro 1 - Gênero <i>Polyomavirus</i> da família <i>Polyomaviridae</i> .....	18
Quadro 2 - Serviços de Nefrologia existentes no Estado do Pará .....	40
Quadro 3 - Pacientes em lista de espera por tratamento.....	41

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Esquema representativo dos 72 capsômeros pentaméricos do capsídeo dos poliomavírus .....	20
Figura 2 - Organização Genômica do JCV .....	22
Figura 3 - Representação esquemática da replicação dos poliomavírus em uma célula permissiva .....	26
Figura 4 - Representação esquemática da infecção do JCV, BKV e do SV40 .....	30
Figura 5 - Patologias associadas à DRC nos pacientes submetidos a transplante renal .....	33
Figura 6 - Prevalência de pacientes em diálise no Brasil, 1994 a 2008.....	38
Figura 7 - Resultado da PCR para detecção de Polyomavirus na amostra analisada no presente estudo .....	53

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo realizar a investigação molecular da infecção pelos *Poliomavírus JC* e *BK* em pacientes com Doença Renal Crônica (DRC) terminal, transplantados e em indivíduos sem DRC. Foram testadas 295 amostras de urina, que após a extração de DNA, foram submetidas à amplificação de um fragmento de 173 pb do gene do antígeno-T de *Polyomavirus* por meio da PCR seguida pela análise de RFLP, utilizando a endonuclease de restrição *BamHI*, na qual foi detectado 17,6% (52/295) de infecção por *Polyomavirus*, sendo 3,9% (4/102) nos pacientes com DRC, 30,5% (18/59) nos pacientes transplantados e 22,4% (30/134) nos assintomáticos. A prevalência da infecção pelo BKV foi de 88,9% (16/18) nos transplantados e de 10,0% (3/30) nos assintomáticos, não sendo detectada a infecção pelo BKV em pacientes com DRC. A prevalência de infecção pelo JCV foi de 3,9% (4/102) nos pacientes com DRC, de 11,1% (2/16) no transplantados e de 90,0% (27/30) nos assintomáticos. O risco de infecção por BKV foi determinada ser 72 vezes maior em pacientes transplantados do que em assintomáticos. A baixa frequência de infecção encontrada entre os pacientes com DRC pode estar relacionada ao fato de que esses pacientes apresentam uma elevada taxa de excreção de uréia na urina, assim como, baixo volume e densidade urinária, podem ser outros dois fatores contribuintes para a ausência de amplificação por estarem associados à baixa carga viral presente. De acordo com estes resultados, sugere-se que a investigação da infecção por *Polyomavirus* deve ser realizada, rotineiramente, nos pacientes pré e pós-transplante, assim como nos doadores de órgãos, uma vez que a infecção por BKV tem sido associada com rejeição de enxerto em transplante de rins.

## ABSTRACT

This study aimed to perform molecular studies of infection by Polyomavirus *JC* and *BK* among patients with chronic renal disease (CRD), kidney transplanted recipients and asymptomatic subjects. We tested a total of 295 urine samples. After DNA extraction from urine, samples were subjected to PCR to amplify a fragment of 173 bp of the antigen-T gene of the Polyomavirus followed by RFLP analysis using the restriction endonuclease *BamHI*. Infection by *Polyomavirus* was detected in 17.6% (52/295) of the subjects, being 3.9% (4/102) in the DRC, 30.5% (18/59) among renal transplanted recipients and 22.4% (30/134) among asymptomatic subjects. The prevalence of BKV infection was 88.9% (16/18) among renal transplant recipients and 10.0% (3/30) among asymptomatic, but it was not detected BKV infection among CRD. The prevalence of JCV infection was 3.9% (4/102) among chronic renal patients, 11.1% (2/16) among transplanted and 90.0% (27/30) in the asymptomatic individuals. The risk of BKV infection was 72 times higher in renal transplanted patients than in asymptomatic subjects. The low frequency of infection found among patients with chronic renal disease may be related to the fact that these patients have a high rate of urea excretion in the urine. Furthermore, the low urine volume and low presence of cells from urine may be two factors contributing to the absence of amplification and consequently associated with a low viral load. According to these results, it is suggested that the investigation of Polyomavirus infection should be performed routinely in patients before and after transplantation, as well as in organ donors, since the BKV infection has been associated with graft rejection in kidney transplant.



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 OS POLIOMAVÍRUS

Os poliomavírus pertencem à família *Polyomaviridae*, gênero *Polyomavirus* (Grego: *poly*, muitos; *oma*, tumor), que é constituído de várias espécies que podem infectar humanos e outros animais, tais como: macacos, coelhos, roedores e aves (ICTV, 2006). Os dois primeiros vírus desta família a serem identificados foram o *Mouse polyomavirus* (PyV) e o *Simian virus 40* (SV40), os quais têm sido intensamente estudados como modelos para investigação em processos como replicação de ácido desoxirribonucléico (DNA), transcrição, transformação maligna e transdução de sinal (Stewart *et al.*, 1998).

Em 1971, foram descritos dois poliomavírus que infectam somente humanos, o *JC polyomavirus* (JCPyV) e o *BK polyomavirus* (BKPyV), cujos nomes provêm das iniciais dos pacientes a partir dos quais foram isolados pela primeira vez, e que são usualmente denominados de JCV e BKV, respectivamente (Gardner *et al.*, 1971; Padgett *et al.*, 1971). Padgett *et al.* (1971) isolaram o JCV de tecido cerebral de um paciente com Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP) e com Linfoma de Hodgkin. No mesmo ano, Gardner *et al.* isolaram o BKV da urina de um paciente submetido a transplante renal. Posteriormente, foram descritos outros poliomavírus infectando outras espécies de mamíferos e aves (Imperiale & Major, 2007; Zur Hausen 2008; Quadro 1).

**Quadro 1** - Gênero *Polyomavirus* da família *Polyomaviridae*

<b>Espécie tipo</b>	<b>Hospedeiro</b>
<i>African green monkey polyomavirus</i>	Macacos
<i>Baboon polyomavirus 2</i>	Macacos
<i>BK polyomavirus</i>	Homem
<i>Bovine polyomavirus</i>	Bovino
<i>Budgerigar fledgling disease polyomavirus</i>	Periquito
<i>Hamster polyomavirus</i>	Hamster
<i>Human polyomavirus</i>	Homem
<i>JC polyomavirus</i>	Homem
<i>MC polymomavirus</i>	Homem
<i>Murine pneumotropic vírus</i>	Camundongos
<i>Murine polyomavirus</i>	Camundongos
<i>KI polyomavirus</i>	Homem
<i>WU polyomavirus</i>	Homem
<i>Rabbit kidney vacuolating virus</i>	Coelho
<i>Simian virus 12</i>	Macacos
<i>Simian virus 40</i>	Macacos

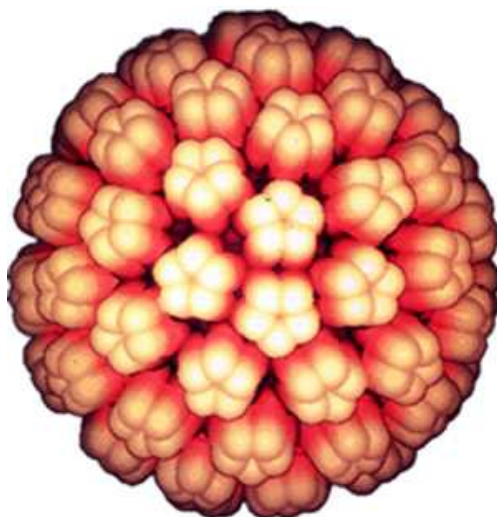
Fonte: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/fs\\_polyo.htm#Type1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/fs_polyo.htm#Type1). Acesso 13/08/2008.

Allander *et al.*, (2007), detectaram, em aspirados de nasofaringe, um DNA que apresentava uma baixa identidade com a região VP1 do SV-40. O genoma foi clonado e a sua sequência demonstrou um elevado grau de similaridade com as proteínas não estruturais dos outros poliômavírus de primatas, contudo o grau de similaridade das proteínas estruturais era muito

baixo. Posteriormente este DNA foi detectado em 6 (1%) de 637 aspirados de nasofaringe e 1 em (0,5%) de amostra fecal. Esse vírus foi denominado de KI poliomavírus (KIPyV ou KIV). No mesmo ano Gaynor *et al.*, detectaram a presença de um DNA apresentando 35%, 50% e 34% de identidade com os JCV, BKV e SV-40, respectivamente, e 58% - 84% de identidade com as proteínas VP1 e VP2 do KIV. O vírus foi detectado em 43 (2%) de 2.135 aspirados de nasofaringe. Este novo poliomavírus foi denominado WU poliomavírus (WUPyV ou WUV). Finalmente, Feng e sua equipe do Centro de Câncer da Universidade de Pittsburgh, nos Estados Unidos, estudando células de carcinoma de Merkel (MCC), um tipo raro e agressivo de câncer de pele, descreveram um novo poliomavírus de humanos o qual foi denominado de MC poliomavírus (*Merkel cell*, MCPyV ou MCV). O MCV foi detectado em 8 de 10 MCCs (80%) e em 5 de 59 (8%) tecidos controles de diversas partes do corpo e em 4 de 25 (16%) de tecidos controles de pele (Feng *et al.*, 2008).

## 1.2 BIOLOGIA DOS POLIOMAVÍRUS

Os vírus da família *Polyomaviridae*, medem, entre, 40 a 45 nm de diâmetro e possuem um capsídeo icosaédrico com 72 capsômeros pentaméricos (Figura 1). O genoma viral é constituído por uma molécula de ácido desoxirribonucléico (DNA) de fita dupla, circular, superespiralizada com o peso molecular de  $3,2 \times 10^6$  daltons e 5 Kb de tamanho, a qual está associada a quatro histonas nucleossomais celulares, (H2A, H2B, H3 E H4) (Ahsan & Shah, 2002).



**Figura 1** - Esquema representativo dos 72 capsômeros pentaméricos do capsídeo dos poliomavírus (Fonte: Frisque *et al.*, 1999).

Os poliomavírus apresentam uma organização genômica similar, na qual muitas regiões são altamente conservadas, demonstrando que estes vírus provavelmente foram oriundos de um ancestral comum (Miranda *et al.*, 2003).

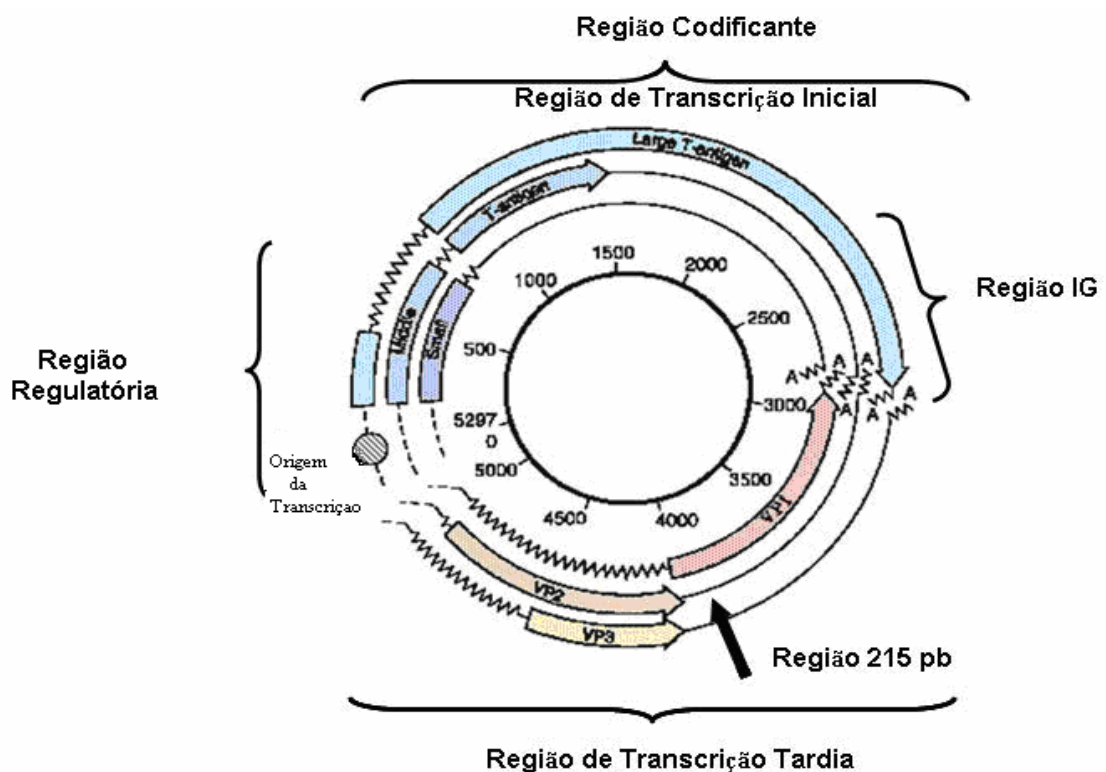
O BKV, o JCV e o SV40 mostram um alto grau de homologia em sua sequência genômica. O JCV compartilha 75% de sua sequência nucleotídica com o BKV e 69% com o SV40 (Yang & Wu, 1979; Frisque *et al.*, 1984).

O genoma dos poliomavírus divide-se em três regiões: uma região precoce (*early region*), uma região tardia (*late region*) e uma região reguladora não codificante (Seif *et al.*, 1979b; Sugimoto *et al.*, 1990). A transcrição das regiões precoce e tardia inicia-se em uma região regulatória comum (*ori*) (Cole, 1996; Imperiale, 2001).

A região precoce codifica proteínas não estruturais, denominadas de antígenos T ou antígenos de tumor, que são classificadas em: antígeno T grande (*large*), de 688 aminoácidos e o antígeno T pequeno (*small*) com 172 aminoácidos. A região tardia codifica duas classes de proteínas: as proteínas estruturais do capsídeo e a agnoproteína. As proteínas estruturais do capsídeo são a VP1 (354 aminoácidos), a VP2 (344 aminoácidos) e a VP3 (225 aminoácidos) (White & Khalili, 2004), as quais são transcritas após o início da replicação genômica (Cubitt & Stoner, 2002). A agnoproteína (71 aminoácidos) difere de todas as outras proteínas codificadas pelas regiões precoce e tardia, por se localizar primariamente, no citoplasma e na região perinuclear das células infectadas (Randhawa *et al.*, 2002). A distribuição intracelular da agnoproteína sugere que ela participa da reunião do capsídeo viral, da lise celular e da liberação do vírus da célula hospedeira (Randhawa *et al.*, 2002).

A proteína VP1 está localizada mais externamente ao capsídeo e, provavelmente, está envolvida na interação do vírus com o receptor presente na célula no momento da adsorção viral, sendo também responsável pela

capacidade hemaglutinante do vírus, *in vitro* e *in vivo*. Anticorpos anti VP1 neutralizam a infecção e previnem a hemaglutinação (Shishido-Hara & Nagashima, 2001). As proteínas VP2 e VP3 estão localizadas mais internamente ao capsídeo viral e, provavelmente, auxiliam na estrutura deste (Shishido-Hara & Nagashima, 2001; Figura 2).



**Figura 2** - Organização Genômica do JCV (Adaptado de: <http://www.mcb.uct.ac.za/cann/335/Papova1.gif>).

A região reguladora não codificante (NCCR) é o local de controle de replicação e de transcrição do DNA viral (Wilson & Sande, 2004) e situa-se entre as regiões codificantes precoce e tardia, contendo a origem de transcrição de ambas (Seif *et al.*, 1979). A região reguladora, tanto do JCV

como do BKV, é composta pela origem de replicação, pelo promotor, por locais de ligação do antígeno T grande e por locais de ligação de fatores de transcrição (Sugimoto *et al.*, 1990).

### 1.2.1 Classificação Genotípica do JCV

A determinação dos genótipos do JCV pode ser feita de três formas distintas: a) a partir da região IG: de 610 pares de base (pb), que compreende as extremidades 3' dos genes VP1 e antígeno-T; b) a partir de uma região de 215 pb, próxima à extremidade 5' do gene VP1; e c) com base na sequência de toda a região codificante do genoma de, aproximadamente, 4854 pb (Hatwell & Sharp, 2000).

A sequência genômica completa é útil para estudos filogenéticos, entretanto a região em torno de 1800-2400 pb, que compreende a região IG é a mais polimórfica e é, potencialmente, a mais informativa filogeneticamente (Hatwell & Sharp, 2000).

Baseados na sequência genômica, Sugimoto *et al.* (1997) e Jobes *et al.* (1998) classificaram o JCV em tipos e em subtipos. Os tipos 1, 2, 3, 4, 6 e 8 e os subtipos 1A, 1B, 2A, 2B, 2C, 3A e 3B são classificações feitas por Jobes *et al.* (1998), enquanto que, os tipos A, B e C e os subtipos EU, B1, MY, Af2 e Af1 seguem a nomenclatura descrita por Sugimoto *et al.* (1997). Sabe-se, também, que diferentes subtipos de JCV raramente infectam o mesmo hospedeiro humano e que, devido à cronicidade da infecção, a detecção e a

identificação desses vírus podem servir como marcadores de migração humana (Sugimoto *et al.*, 1997).

### 1.2.2 Classificação Genotípica do BKV

Por meio de métodos de genotipagem (envolvendo a amplificação de um segmento do gene VP1) e de testes sorológicos, o BKV foi classificado em quatro subtipos (de I a IV) (Jin *et al.*, 1995; Knowles, 2001). O subtipo I é o mais prevalente e é dividido em quatro subgrupos (Ia, Ib-1, Ib-2 e Ic) (Takasaka *et al.*, 2004; Ikegaya *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2007).

Cada um desses subgrupos tem uma distribuição geográfica distinta: o Ia é prevalente na África, o Ib-1 no hemisfério sul da Ásia, o Ib-2 na Europa e o Ic no hemisfério norte da Ásia, incluindo o Japão (Takasaka *et al.*, 2004; Ikegaya *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2007).

## 1.3 REPLICAÇÃO DOS POLIOMAVÍRUS

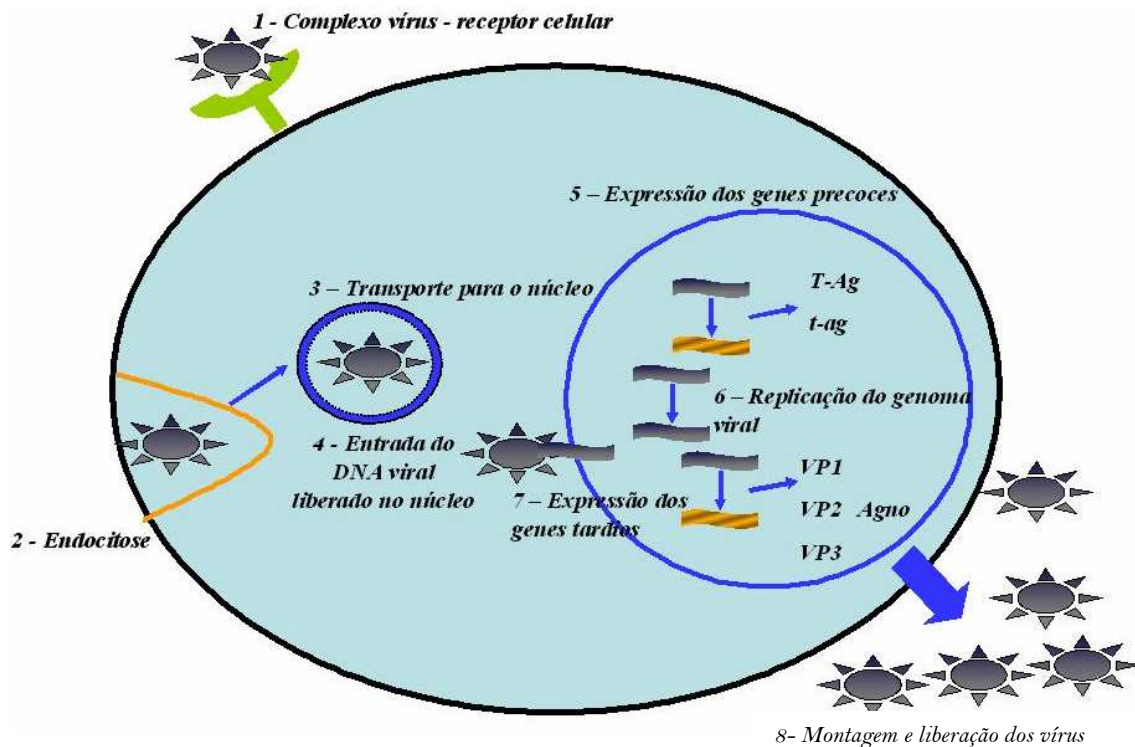
A infecção pelos poliomavírus inicia-se com a adsorção das partículas virais à superfície celular, por meio da ligação da proteína VP1 do capsídeo viral com receptores específicos presentes nas células alvo, as quais contêm glicoproteínas com ácido siálico em sua composição (Gilbert & Benjamin, 2000; Hale *et al.*, 2002). Após esta etapa, o vírus penetra na célula por endocitose mediada por receptores (Ahsan & Shah, 2002).



A acidificação dentro do complexo endossoma-lisossoma gera mudanças conformacionais nas proteínas do capsídeo, levando à liberação do ácido nucléico viral no citosol, o qual é transportado para o núcleo, onde se inicia a transcrição da região precoce do genoma viral (Anderson *et al.*, 1996).

No núcleo, ocorrerá a replicação bioquímica do DNA viral, onde ocorrerá, a síntese das proteínas precoces (funcionais ou reguladoras) e das tardias (estruturais) dos vírus (Cole, 1996).

As proteínas tardias são sintetizadas para fazerem parte do capsídeo ou serem enzimas que o vírus carregará em sua estrutura. Na sequência, ocorre a montagem das partículas virais, no núcleo das células infectadas. As proteínas estruturais associam-se, espontaneamente, para formar capsômeros, os quais agregam-se para formar capsídeos, em torno do ácido nucléico. Após a saída das partículas virais do núcleo, as vesículas citoplasmáticas englobam esses vírus e, pela fusão das membranas da vesícula à membrana plasmática, os vírus são liberados da célula (Cole, 1996; Figura 3).



**Figura 3** - Representação esquemática da replicação dos poliomavírus em uma célula permissiva (Adaptado de Eash *et al.*, 2006).

Há duas formas de infecção celular pelos poliomavírus, a depender do tipo de célula infectada por esses vírus. Existem as células permissivas, que permitem a replicação do DNA viral e o resultado é a infecção lítica com replicação viral e as células não permissivas, que são aquelas que não permitem a replicação viral e o resultado de sua entrada na célula é o debelamento da infecção ou a transformação celular - oncogênese (White & Khalili, 2004).

## 1.4 EPIDEMIOLOGIA DO JCV E DO BKV

### 1.4.1 Transmissão

Os mecanismos de transmissão e propagação dos poliomavírus e a sua interação com as células hospedeiras são pouco conhecidas. A transmissão do BKV e do JCV ocorre apenas entre os humanos e não existe nenhuma evidência da existência de um reservatório animal (Padgett & Walker, 1976).

A infecção por poliomavírus ocorre geralmente na infância por meio da via respiratória ou gastrointestinal. A maioria das vezes é assintomática, mas pode estar, eventualmente, associada a doenças dos tratos respiratório ou urinário (Goudsmit *et al.*, 1982; Sundsfjord *et al.*, 1994).

Embora o BKV raramente possa ser recuperado a partir do trato respiratório, a rápida aquisição de anticorpos nos primeiros anos de vida sugere que a transmissão ocorra por esta via (Seth *et al.*, 2003).

A transmissão dos poliomavírus também pode ocorrer pelas principais vias de exposição de fluidos corporais, tais como sêmen, sangue de doadores assintomáticos, secreções orais ou por passagem pela placenta durante a gestação (Taguchi & Saito *et al.*, 1975; Rziha *et al.*, 1978; Sundsfjord *et al.*, 1994; Monini *et al.*, 1996; Dorries, 1998; Pietropaolo *et al.*, 1998). Kato *et al.* (1997) afirmam ainda que a transmissão, quase sempre, é feita de pais para filhos, durante o longo período de coabitação destes.

Como o genoma viral é frequentemente detectado em rins saudáveis, o doador de órgãos pode ser também um importante veículo de transmissão destes vírus (Skiest, 2002).

#### **1.4.2 Distribuição geográfica**

Diferentes estudos têm demonstrado que, aproximadamente, 80% da população adulta no mundo são soropositivas para o JCV e o BKV (Khalili & Stoner, 2001; Kwak *et al.*, 2002).

A distribuição dos genótipos do JCV mostra-se heterogênea em regiões geográficas específicas. O JCV tipo 1 predomina na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA) (Sugimoto *et al.*, 1997), enquanto que o tipo 2 é encontrado na Ásia, onde o subtipo-2a predomina no nordeste da Ásia, incluindo China e o 2b, no oeste deste Continente (Jobes *et al.*, 1998). O JCV tipos 3 e 6 são mais prevalentes na Tanzânia (Agostini *et al.*, 1995) e em Gana (Guo *et al.*, 1996), respectivamente. O tipo 4, o qual é encontrado apenas nos EUA, parece ser um recombinante da maior parte do genoma do genótipo 1 com um curto segmento do gene VP1 do tipo 3 (Agostini *et al.*, 1996; 1997). O JCV tipo 5 é um resultado da recombinação entre o subtipo 2b e o tipo 6 (Hatwell & Sharp, 2000). A cepa dominante no sul da China e no sudeste da Ásia é o JCV tipo 7 que é, filogeneticamente, mais próximo do tipo 2 (Jobes *et al.*, 1998).

Em relação ao BKV, estudos sorológicos e epidemiológicos foram realizados em vários países, incluindo Inglaterra (83%; Gardner, 1973),

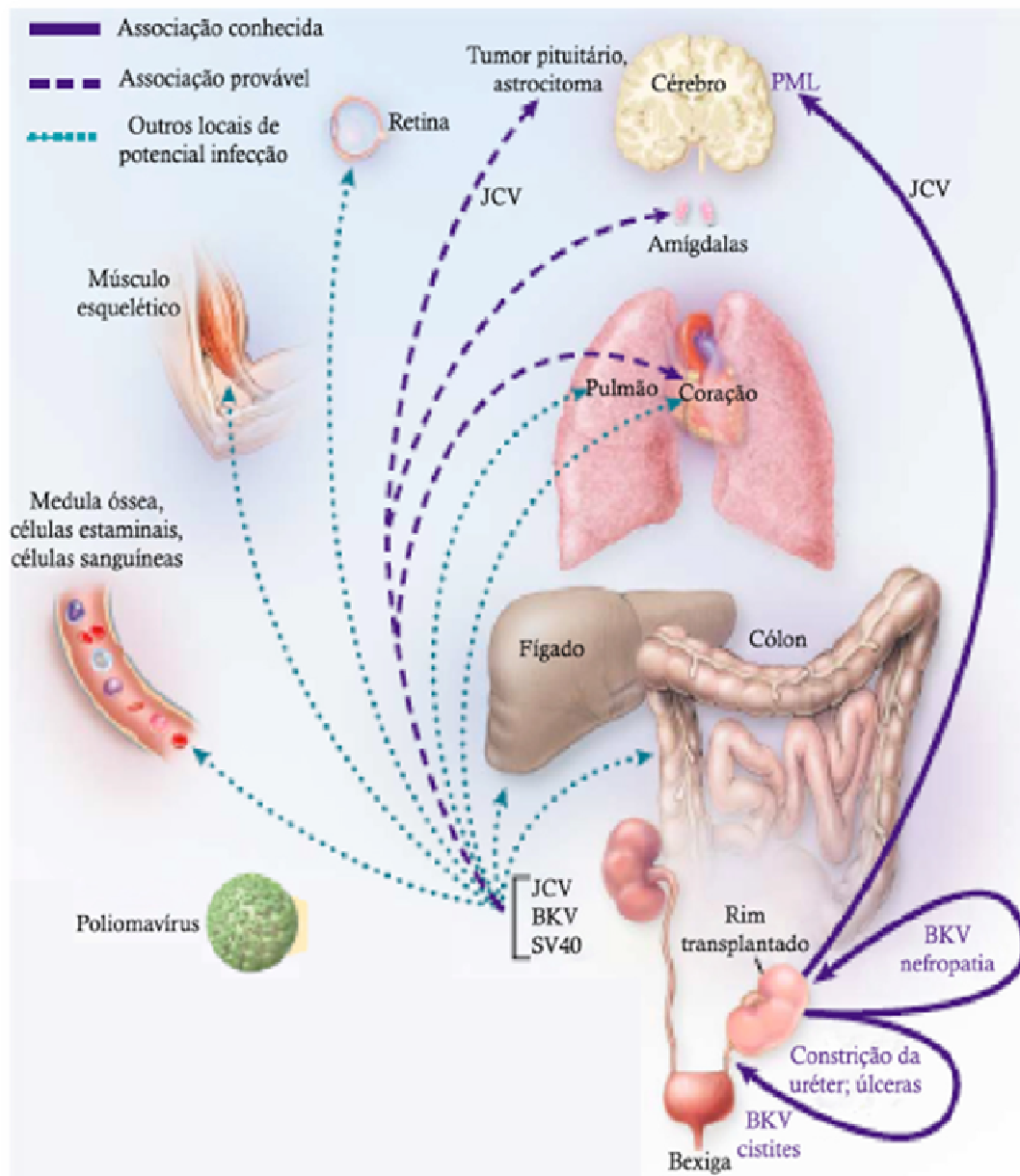
Finlândia (60%; Mantyjarvi *et al.*, 1973), Alemanha (71%; Rziha *et al.*, 1978), Itália (83%; Portolani *et al.*, 1974), e os EUA (69%, 100%; Padgett & Walker, 1973; Shah *et al.*, 1973). Diferenças na percentagem podem ser explicadas pela idade dos indivíduos testados e pelo limite do título de anticorpos, que é considerado positivo (Reploeg *et al.*, 2004).

## 1.5 PATOGENIA DA INFECÇÃO POR POLIOMAVÍRUS

Em estudos sorológicos realizados têm sido demonstrada a infecção primária durante a infância, persistindo o vírus, indefinidamente, no sistema renal (Heritage *et al.*, 1981, McCance, 1983) e no sistema nervoso central (SNC) (Elsner & Dorries, 1992; Quinlivan *et al.*, 1992). Estes vírus, também, podem infectar células do endotélio vascular, dos rins, do cérebro, do fígado, da retina, dos pulmões, do sangue, dos gânglios linfáticos, do coração e do músculo (Fishman, 2002; Figura 4).

Não se sabe com exatidão quais os fatores que controlam o equilíbrio entre a latência e a reativação dos poliomavírus (Gardner, 1977). As reativações são induzidas não somente por uma imunossupressão significativa, como ocorre com os transplantes renais (Kahan *et al.*, 1980; Hogan *et al.*, 1980; Gardner *et al.*, 1984) e de medula óssea (O'Reilly *et al.*, 1981; Arthur *et al.*, 1989), mas, também, por outros fatores, como doenças neoplásicas (Hogan *et al.*, 1983), infecção pelo *Virus da imunodeficiência humana* (HIV) (Holman *et al.*, 1998), quimioterapia imunossupresiva (Kitamura, 1992),

gravidez (Coleman *et al.*, 1980), diabetes, outras enfermidades crônicas e idade avançada (Tajima *et al.*, 1990).



**Figura 4** – Representação esquemática da infecção do JCV, do BKV e do SV40 (Fonte: Fischman, 2002).

### 1.5.1 Manifestações Clínicas

A infecção, pelo JCV está frequentemente, associada aos casos de LEMP, particularmente nos indivíduos imunocomprometidos (Berger *et al.*, 1987; Karahalios *et al.*, 1992; Seth *et al.*, 2003; Pasqualotto *et al.*, 2004).

Essa moléstia foi definida como síndrome, apenas em 1958, com a observação de três características histopatológicas: a desmielinização, a presença de oligodendrócitos com núcleos aumentados e a presença de astrócitos bizarros (Aström *et al.*, 1958). Além disso, são observados distúrbios neurológicos focais, tais como, distúrbios visuais, ataxia, hemiparesia, parestesia e mudanças comportamentais e cognitivas (Brooks & Walker, 1984). Em pacientes com grau avançado de infecção pelo HIV, a LEMP pode levar à morte após seis meses do diagnóstico (Kwark *et al.*, 2002).

Baseado na natureza multifocal das lesões desmielinizantes, é provável que o vírus alcance o cérebro por via hematogênica, sendo talvez, transportados pelos linfócitos do sangue (Pittaluga *et al.*, 1988; Tornatore *et al.*, 1992).

A infecção pelo BKV tem sido associada, principalmente, a alterações patológicas no trato urinário (Randhawa *et al.*, 1999). Sendo que a infecção primária em crianças saudáveis é, usualmente, assintomática e a infecção secundária deve-se à reativação do vírus latente ou re-infecção por uma nova linhagem (Mylonakis *et al.*, 2001).

Em receptores de órgãos, tais como coração, pulmão, fígado, pâncreas e rim, o BKV pode causar uma infecção ativa, com manifestação clínica caracterizada por diversos sintomas já relatados, tais como febre

moderada, mal-estar, vômito, doenças respiratórias, pericardite, disfunção hepática, estenose ureteral e cistite hemorrágica (Fioriti *et al.*, 2005).

Nos receptores de enxertos renais são detectados anticorpos contra o BKV, entre 55% a 73% dos indivíduos no momento do transplante (Hogan *et al.*, 1980; Andrews *et al.*, 1988). A reativação ocorre quando diminui a imunidade celular, porém outras alterações, como a isquemia do enxerto, aparentemente, exercem um papel importante na reativação (Mylonakis *et al.*, 2001).

Nos variados graus de doença renal crônica sem causa definida, pode-se encontrar virúria, em até 25% dos casos (Barber *et al.*, 2006). A viremia é menos frequente, tendo sido relatada em até 7% dos receptores de coração (Barber *et al.*, 2006).

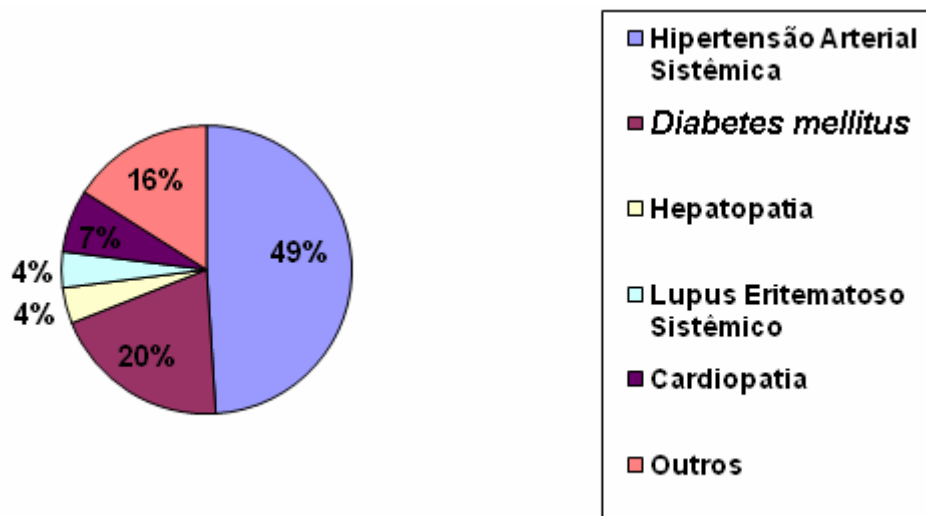
A infecção pelo BKV manifesta-se nos rins como cistite hemorrágica e não hemorrágica (Chan *et al.*, 1994), como estenose ureteral (Gardner *et al.*, 1971; Coleman *et al.*, 1978; Gardner *et al.*, 1984) e como nefrite (Vallbracht *et al.*, 1993; Pappo *et al.*, 1996; Bratt *et al.*, 1999). As doenças pulmonares que envolvem o BKV incluem pneumonia e infecção aguda do trato respiratório superior não específica (Vallbracht *et al.*, 1993; Sandler *et al.*, 1997; Cubukcu-Dimopulo *et al.*, 2000).



## 1.6 DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC)

A doença renal crônica (DRC) é definida pela filtração glomerular abaixo de 15 mL/min de forma irreversível (Romão Jr., 2004). A DRC enquadra-se nas patologias que podem apresentar diversas complicações de ordem física (Castro, 2001).

De acordo com a Figura 5, observa-se grande frequência de pacientes hipertensos (49%), o que pode estar relacionado a funções homeostáticas comprometidas, em decorrência da doença renal, seguidos de 20% com diabetes e 16% com outras patologias como artrite reumatóide, gastrite, retinopatia e depressão (Guyton & Hall, 1997).



**Figura 5** – Patologias associadas à DRC nos pacientes submetidos a transplante renal (Fonte: Sociedade Brasileira de Nefrologia, SBN, 2008).

Em fases avançadas da DRC (“clearance” de creatinina entre 15 e 5 mL/min), os sintomas urêmicos se exacerbam, havendo necessidade de se

programar tratamento dialítico e transplante renal para o paciente (Draibe, 2002). Entre as terapias, o transplante renal oferece maior sobrevida e melhor qualidade de vida (Evans *et al.*, 1985; Schnuelle *et al.*, 1998).

Os sintomas clínicos mais comuns em pacientes com DRC são: fadiga, dispnéia a pequenos esforços, edema periférico, náuseas, anorexia, vômitos, alterações do paladar, irritabilidade, incapacidade de concentração, contrações musculares, movimentação incessante das pernas, amenorréia, perda de libido, impotência sexual, dores ósseas, artrite aguda, emagrecimento, edema, hipertensão, atrito pleural ou pericárdico, sopro sistólico, cardiomegalia, retinopatia hipertensiva, hálito urêmico, aftas, depressão da função cognitiva, sonolência e pigmentação cutânea amarelo-acastanhada (Cattran *et al.*, 1995).

O tempo que um paciente portador de uma lesão renal leva para atingir fases avançadas da DRC é bastante variável, dependendo da etiologia da lesão renal, de aspectos imunogenéticos, do estado hipertensivo e de sobrecargas protéicas da dieta (Draibe, 2002).

O número crescente de portadores de DRC implica em uma quantidade insuficiente de rins doados para atender à demanda mundial, apesar de várias estratégias utilizadas, tais como aceitação mais ampla de rins de doadores vivos (Karpinski *et al.*, 2006) e não-ideais, denominados como marginais: provenientes de pessoas idosas com função moderadamente rebaixada (Jacobbi *et al.*, 1995) ou retirados após parada dos batimentos cardíacos de doador cadáver (Weber *et al.*, 2002).

A DRC impõe às pessoas uma série de modificações de atividades e de novas perspectivas de vida, impulsionando-as à adoção de um modo de vida diferente, incluindo a dependência ao tratamento ambulatorial e o auxílio de outras pessoas. Caso contrário, a falta de aderência ao tratamento será mais um complicador na qualidade de vida do portador da DRC (Dyniewicz *et al.*, 2004).

Silva *et al.* (2002) relataram sobre a questão da adesão do paciente renal crônico à Terapia Renal Substitutiva (TRS), como resultado do difícil fato de assumir sua condição crônica, no sentido de aceitá-la como parte da própria pessoa. Muitas vezes, tal aceitação não é plena, mas parece estar relacionada a uma adaptação a tal situação.

Walace (2003) salienta que, na opinião dos pacientes, o hemodialisador representa a limitação da própria vida, acrescido dos receios e das ansiedades de problemas que possam haver com a máquina, trazendo consequências ao tratamento e preocupações com a continuidade da terapia.

Tratando das repercussões da doença crônica e da qualidade de vida de adultos, percebe-se o quanto esta condição se torna uma fonte de tensão à medida que esta impõe outros desafios e novas incumbências ao indivíduo. Fazer dieta, tomar medicações e o fato da possibilidade de enfrentar desarmonias fisiológicas e restrições indesejáveis (Turra, 2001) impõem ao indivíduo limitações que extrapolam esse âmbito, afetando, também, aspectos psicológicos e sociais (Colle, 2001).

### 1.6.1 Classificação da DRC

Para efeitos clínicos, epidemiológicos, didáticos e conceituais, a DRC pode ser dividida em 6 estágios, de acordo com a função renal (SBN, 2007).

**0- Função renal normal sem lesão renal:** inclui pessoas integrantes dos chamados grupos de risco para o desenvolvimento de DRC (diabetes, hipertensão, idosos, familiares de portadores de DRC) que ainda não desenvolveram lesão renal.

**1- Lesão com função renal normal:** corresponde às fases iniciais de lesão renal (microalbuminúria, proteinúria), mas com o Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) igual ou acima de 90 mL/min.

**2- Doença renal leve:** corresponde ao início da insuficiência renal. Nesta fase, o indivíduo não apresenta sinais ou sintomas de doença renal, mas o RFG se encontra entre 60 e 89 mL/min.

**3- Doença renal moderada:** os sintomas renais podem se fazer presentes de forma branda. Geralmente o indivíduo apresenta somente queixas relacionadas a sua doença de base, como diabetes, hipertensão. O RFG se encontra entre 30 e 59 mL/min.

**4- Doença renal severa:** o paciente já se ressentir de disfunção renal, com sinais e sintomas de uremia (náuseas, vômitos, perda de apetite, emagrecimento, falta de ar, edema, palidez, etc.). O RFG se encontra entre 15 e 29 mL/min.

**5- Doença renal terminal:** os rins perdem o controle do meio interno, tornando-se este bastante alterado e incompatível com a vida.

Nesta fase, os sintomas se intensificam e as opções terapêuticas são os métodos de depuração artificial do sangue (hemodiálise ou diálise peritoneal) ou o transplante renal. O RFG se encontra abaixo de 15 mL/min.

### **1.6.2 Epidemiologia da DRC**

Atualmente, a DRC constitui um importante problema de saúde pública. Levando-se em conta os dados epidemiológicos de que para cada paciente mantido em programa de diálise crônica haveria cerca de 20 a 25 pacientes com algum grau de disfunção renal (creatinina sérica elevada), possivelmente existiria cerca de 1,3 a 1,6 milhão de brasileiros com doença renal crônica (Romão Jr., 2006).

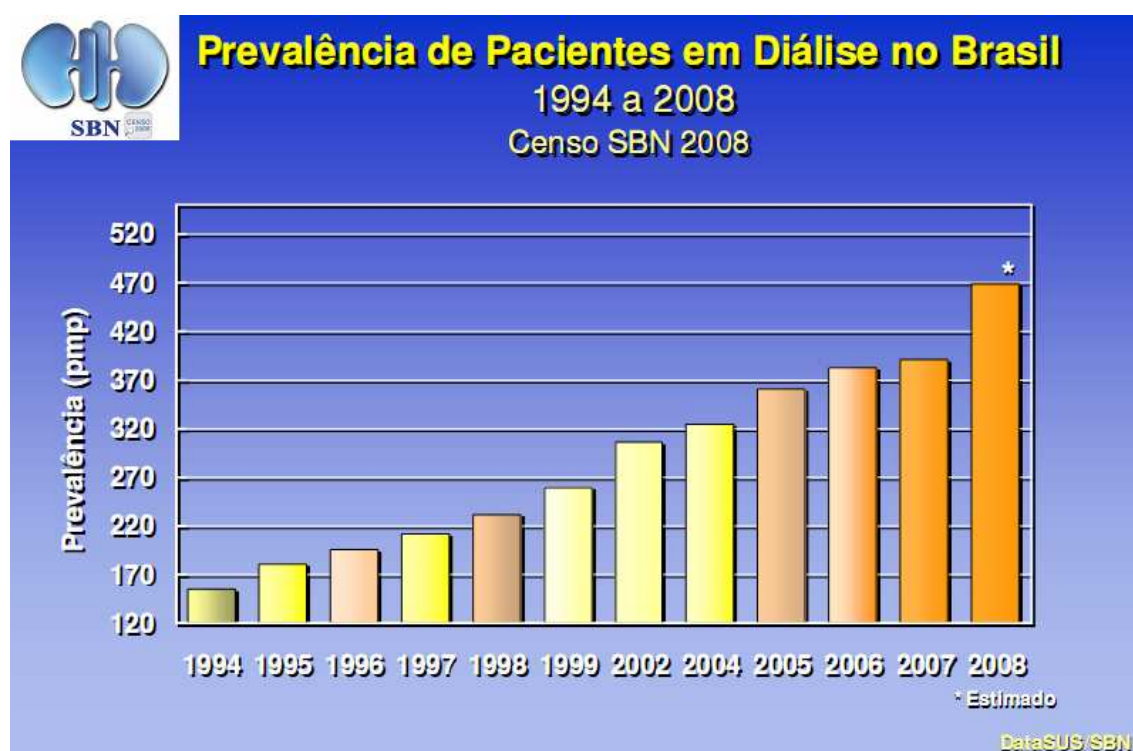
Na América Latina, o número de pacientes em programas de diálise crônica aproxima-se de 150.000, sendo, aproximadamente, 60.000 somente no Brasil. É provável, ainda, que exista uma “demanda reprimida” em relação a esses serviços, uma vez que, ainda, há limitações ao acesso à atenção médica complexa e ao diagnóstico correto da doença renal crônica (SBN, 2007).

No Brasil, mais de 70.000 pacientes são dependentes de TRS, seja diálise ou transplante renal, com gasto anual de cerca de 2,0 bilhões de reais. Com base no grande número de grupos de risco, a previsão é que esse número possa duplicar nos próximos 5 anos, ultrapassando os 125 mil casos em 2010 (SBN, 2007).

Segundo dados do relatório do censo brasileiro de diálise, das 684 unidades de diálise cadastradas na sociedade brasileira de nefrologia, em

janeiro de 2008, 327 (47,8%) responderam ao questionário informando que o número de pacientes em diálise foi de aproximadamente 87.044 que corresponde a 468 prevalências por milhão da população (pmp). Nos anos anteriores, a estimativa do número de pacientes foi de 73.605 (391 pmp) em 2007, 70.872 (383 pmp) em 2006, 65.121 (361 pmp) em 2005 e 59.154 (333 pmp) em 2004. Com relação aos transplantes, em março de 2008 o número de pacientes inscritos na fila de espera era de 37.573 (Sesso *et al.*, 2008).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Nefrologia a prevalência de pacientes em diálise no Brasil vem aumentando de forma significativa, conforme o gráfico abaixo (Figura 6).



**Figura 6** – Prevalência de pacientes em diálise no Brasil, 1994 a 2008. (Data SUS SBN: Censo 2008)

## 1.7 DRC NO PARÁ

Hoje, existem cerca de 700 portadores de doenças renais que dependem do serviço de hemodiálise no Estado do Pará. O tratamento acontece três vezes por semana e cada sessão dura quatro horas, tempo que a máquina leva para filtrar todo o sangue em circulação no corpo humano e eliminar as toxinas, trabalho que o rim combalido não consegue fazer (ARCT-PA, 2008).

Considerando os parâmetros definidos na Portaria Ministerial Nº 1101/2002, que considera que para cada 200.000 habitantes há necessidades de um serviço de TRS, o Estado do Pará necessitaria de 34 serviços, mas, atualmente existem apenas 14 em todo o Estado, dos quais sete estão implantados no município de Belém, um em Ananindeua, um em Castanhal, um em Marabá, um em Redenção, um em Altamira e dois em Santarém (SBN, 2007; Quadro 2).

**Quadro 2** – Serviços de Nefrologia existentes no Estado do Pará.

<b>Municípios</b>	<b>Serviços Existentes</b>	<b>Número de máquinas</b>	<b>Total de pacientes em hemodiálise (HD)</b>	<b>Total de pacientes em diálise peritoneal ambulatorial contínua (DAPC)</b>
Belém	07	126	756	90
Ananindeua	01	17	102	-
Altamira	01	07	42	-
Castanhal	01	23	92	-
Marabá	01	25	150	10
Redenção	01	10	60	-
Santarém	02	18	108	-
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>226</b>	<b>1310</b>	<b>100</b>

Fonte: ARCT-PA, 2009.

Segundo a ARCT-PA, é notória a necessidade de implementação dos serviços de alta complexidade em nefrologia nos pólos regionais. No pólo metropolitano seriam necessários mais quatro serviços, tendo em vista o número crescente de pacientes em lista de espera (Quadro 3), sendo que existe a previsão de apenas um, porém, será necessária adequação de estabelecimentos assistenciais de saúde, seja pública ou privada, para viabilizar a efetivação do referido serviço.



**Quadro 3** - Pacientes em lista de espera por tratamento.

<b>Municípios</b>	<b>Número de pacientes</b>
Belém	200
Ananindeua	42
Altamira	07
Castanhal	47
Marabá	12
Santarém	11
<b>Total</b>	<b>319</b>

Fonte: ARCT-PA – Referente à Julho/2009

No Estado do Pará, os avanços na oferta de serviços de TRS têm possibilitado um aumento considerável na sobrevivência do paciente renal crônico e também de sua qualidade. Contudo, ainda há um longo caminho a percorrer até atingirmos um efetivo controle da doença.

Existem 1.410 pacientes em TRS em todo o Estado. Embora esse número seja o dobro daquele existente há 05 anos, acreditamos que ainda haja pacientes inadequadamente assistidos, considerando parâmetros internacionais de prevalência. A manutenção de uma assistência adequada exige do Sistema Único de Saúde uma grande capacidade de organização da rede de serviços, desde o Planejamento até o Controle e Avaliação, além de um volume de recursos considerado alto para os nossos padrões, que inclui também a vital dispensa de medicamentos excepcionais (ARCT-PA, 2009).

O efetivo controle da DRC será alcançado com a implantação no nível da atenção básica dos programas que interfiram nas doenças que levam a uma perda progressiva dos rins, articulando essas ações com as formas de Terapia Renais Substitutivas existentes. A construção desse sistema vem se dando dentro de um longo processo de discussão e pactos entre os atores envolvidos com a atenção ao doente renal crônico no Estado (SBN, 2007).

## 1.8 TRANSPLANTE RENAL

O transplante renal é um procedimento cirúrgico no qual um rim saudável doado é transplantado para um receptor. Um transplante renal bem sucedido permite ao receptor voltar a ter um estilo de vida mais próximo dos padrões da normalidade, por não necessitar mais de hemodiálise. No entanto, para transplantar o doente renal crônico tem que ser considerado candidato potencial, o que será detectado mediante exames e avaliações, solicitados pela equipe médica (Kalil, 1996).

Todos os receptores necessitam de exames imunológicos, laboratoriais, endoscópicos e, em alguns casos, procedimentos cirúrgicos de pré-transplante, como a nefrectomia (Salomão Filho *et al.*, 2004).

O doador pode ser vivo ou cadáver. Quanto aos doadores vivos, a legislação aceita doação de cônjuges ou parentes de até quarto grau, outros possíveis doadores necessitarão de autorização judiciária. Em relação aos doadores cadáveres, é necessário o diagnóstico de morte encefálica por médico que não pertença à equipe envolvida no transplante (Gritsch *et al.*, 2001; Salomão Filho *et al.*, 2004).

A princípio, o transplante renal é indicado a todo paciente portador de DRC, porém existem contra-indicações relativas, que são situações de provável impedimento como doença cardíaca, vascular, hepática ou pulmonar avançada, sem chance de recuperação e tumores malignos sem possibilidade de tratamento e outros casos muito específicos, que podem ser discutidos na busca de alternativa mais adequada de tratamento com diálise, como sorologia

positiva para HIV, oxalose primária, doença neuropsiquiátrica grave, anormalidades urológicas importantes, obesidade mórbida e ausência de suporte familiar ou pessoal para adesão ao tratamento. Existem ainda os motivos temporários para não transplantar, como infecções bacterianas ou tuberculose não controlada, úlcera gastroduodenal em atividade, perda de enxerto por rejeição há menos de seis meses, hepatites virais ativas ou não investigadas ou transfusão sanguínea há menos de 15 dias (Luvisotto *et al.*, 2007; Ravagnani *et al.*, 2007).

O transplantado necessita fazer exames clínicos e laboratoriais semanalmente, durante os primeiros 30 dias, e depois disso duas vezes por mês. Os três primeiros meses são os mais difíceis e perigosos, porque é quando ocorre o maior número de rejeições e de complicações infecciosas. A partir do terceiro mês, iniciam-se os exames mensais por um período de seis meses. E assim, o controle vai se espaçando, conforme a evolução clínica do paciente, a rotina do serviço e a situação do enxerto renal (Castro, 2006).

Um dos principais problemas após o transplante é a rejeição. As células de defesa identificam o órgão transplantado como sendo algo diferente do resto do corpo e ameaçam destruí-lo. Para evitar a rejeição é necessário usar a medicação imunossupressora por toda a vida. É ela que causará a inibição do sistema imunológico para que este não rejeite o órgão transplantado. Nos primeiros dias após o transplante as doses são maiores, depois vão sendo diminuídas pouco a pouco. Mesmo tomando esta medicação é possível ocorrer uma rejeição aguda. Mas isto não significa que o paciente vai perder o transplante, pois existem tratamentos anti-rejeição (Castro, 2006).

Existem vários fatores que podem desencadear a rejeição, dentre eles a infecção por microrganismos, uma vez que o uso de medicamentos imunossupressores torna o receptor mais suscetível ao aparecimento de infecções. Estes quadros infecciosos podem ser de origem bacteriana, viral, fúngica ou de outros microrganismos menos frequentes. Para prevenir as infecções utilizam-se antibióticos de amplo espectro (por via endovenosa ou oral), imediatamente antes e depois da cirurgia e pelo tempo que for necessário (Castro, 2006).

No caso das infecções, em especial as causadas por vírus, os que mais frequentemente acometem o transplantado renal são citomegalovírus (CMV), que tem sido associado ao vírus herpes simplex (HSV) (Anton *et al.*, 2008) e poliomavírus BK (Egli *et al.*, 2007).

Os avanços no entendimento dos fenômenos da rejeição, no manuseio das drogas imunossupressoras e na prevenção ou no diagnóstico precoce, com tratamento efetivo das infecções, contribuem para uma maior sobrevida do enxerto e do paciente (Croker *et al.*, 1995; Lemström *et al.*, 1995).

## 1.9 POLIOMAVÍRUS NA DRC E NO TRANSPLANTE RENAL

Apesar de ter sido descrita há muitos anos, a nefropatia por poliomavírus não havia sido clinicamente observada até a metade da última década. Porém, nos últimos anos, houve um aumento da incidência dos casos de nefropatia por poliomavírus, aumento este atribuído à melhora das técnicas diagnósticas e, principalmente, pela potencialidade cada vez maior da imunossupressão (Kwak *et al.*, 2002).

A maioria dos casos de doença renal é produzida por BKV e em alguns poucos casos se encontra JCV, usualmente, associado ao BKV, uma vez que pelo que, aparentemente, o JCV não é um patógeno relevante no transplante renal (Arias *et al.*, 2004).

Nos pacientes transplantados renais saudáveis, pode-se encontrar poliomavírus na urina, em porcentagem de até 20% dos casos, enquanto essa incidência cai para menos de 10% em outros enxertos (coração, pâncreas) e para valores inferiores a 3% na população geral (em especial gestantes ou diabéticos), mostrando tratar-se de reativação transitória e assintomática de infecção primária ocorrida na infância (Drachenberg *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2005; Ahsan *et al.*, 2005).

Em pacientes submetidos a transplante renal pode ocorrer o desenvolvimento de hematúria e de nefrite intersticial, entre outras complicações no trato urinário, das quais, podem de alguma forma, contribuir para a falência do transplante (Binet *et al.*, 1999; Nickeleit *et al.*, 1999; Mylonakis *et al.*, 2001).

Na literatura estão descritos valores muito variáveis para a porcentagem de excreção do BKV e do JCV na urina. Em indivíduos com doença oncológica, submetidos a transplante de medula óssea e com infecção por HIV, a porcentagem de excreção do BKV na urina varia de 20 a 90% e a do JCV de 16 a 67% (Arthur *et al.*, 1989). Na urina de grávidas, a excreção do JCV e do BKV é de 7% (Markowitz *et al.*, 1993) e de 15 a 47%, respectivamente e em pacientes submetidos a transplante renal, a incidência

na urina para ambos os vírus varia de 14 a 65% (Cotterill *et al.*, 1992; Priftakis *et al.*, 2000).

A maioria dos casos de infecção pelo poliomavírus ocorre no primeiro ano pós-transplante e está confinada ao trato urinário. O vírus tem tropismo pelos epitélios transicional, tubular e parietal da cápsula de Bowman, aparecendo como inclusões intranucleares nessas células epiteliais. O diagnóstico correto da nefrite por poliomavírus pode ser feito pelo uso combinado de citologia urinária, de biópsia renal e de quantificação, por reação em cadeia da polimerase (PCR), das cargas virais sanguínea e urinária (Drachenberg *et al.*, 2005).

O grupo de risco mais comumente afetado pelo BKV é de pacientes transplantados, incluindo os transplantados renais e de medula óssea. Um estudo prospectivo com pacientes transplantados mostrou que, aproximadamente, 45% destes pacientes tiveram evidências sorológicas de reativação do BKV, mas somente 2,5 a 5% dos pacientes desenvolveram doenças sintomáticas e nefrite tubular intersticial (Randhawa *et al.*, 2001).

## 1.10 OBJETIVOS

### **1.10.1 Objetivo Geral**

Investigar a presença da infecção do JCV e BKV em indivíduos portadores de doença renal crônica e transplantados renais no Estado do Pará, Brasil.

### **1.10.2 Objetivos Específicos**

i) Descrever a prevalência da infecção pelo JCV e pelo BKV em pacientes com doença renal crônica terminal;

ii) Descrever a prevalência da infecção pelo JCV e pelo BKV em pacientes transplantados;

iii) Descrever a prevalência da infecção pelo JCV e pelo BKV em um grupo assintomático de indivíduos sem doença renal crônica.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 POPULAÇÕES EXAMINADAS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS**

#### **2.1.1 População Assintomática**

Foram coletadas, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009, 134 amostras de urina de indivíduos assintomáticos, sendo 42 homens e 92 mulheres, voluntários, residentes em Belém, capital do Estado do Pará, Brasil, não portadores de queixa de distúrbio urinário sugestivo de doença renal (aguda ou crônica), com idade igual ou superior a 18 anos. As amostras biológicas coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, para investigação molecular. Todos os indivíduos concordaram em assinar ao termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1)

#### **2.1.2 População de Pacientes com DRC**

As amostras de urina de 102 pacientes, sendo 54 homens e 48 mulheres, apresentando quadro clínico definido de doença renal crônica terminal, que realizam hemodiálise no Centro Cirurgia Integrada, CCI-Nefro na cidade de Belém, capital do Estado do Pará, Brasil foram coletadas, no período de dezembro de 2007 a janeiro de 2008 e, em seguida, avaliadas quanto à presença de infecção pelo JCV e pelo BKV no Laboratório de Virologia do



Instituto de Ciências Biológicas. Todos os indivíduos concordaram em assinar ao termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

### **2.1.3 Transplantados**

O grupo de transplantados foi composto de 59 pacientes, sendo 42 homens e 17 mulheres, submetidos a transplante renal, internados no Hospital Ophir Loyola na cidade de Belém, capital Pará, Brasil, cujas amostras foram coletadas, no período de março 2008 a junho de 2009 e, posteriormente, encaminhadas ao Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas, para análise da infecção por JCV e BKV.

Os critérios de inclusão adotados foram pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, transplantados, que concordaram em assinar ao termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

### **2.1.4 Aspectos Éticos**

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, protocolo nº 090/06, em obediência às resoluções 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde, as quais tratam das diretrizes e normas regulamentares da pesquisa envolvendo seres humanos (Anexo 2).

## **2.1.5 Coleta das Amostras**

### 2.1.5.1 Amostras de urina

As amostras de urina (10 a 50 mL) foram coletadas em frascos estéreis e, em seguida, encaminhadas ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará, onde foram mantidas no freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até o momento do uso.

## 2.2 EXTRAÇÃO DO DNA

Após lavagem das amostras de urina utilizou-se o método de extração de DNA, seguindo o protocolo de extração de ácido nucléico viral, usando-se o kit da *Pure Link Viral RNA/DNA* (Invitrogen, CA, USA).

### 2.3 REAÇÃO EM CADEIA MEDIADA PELA POLIMERASE (PCR)

Para investigação da presença do JCV e do BKV foi efetuada a PCR para a amplificação de um fragmento de 173 pb do gene que codifica o antígeno T de ambos os vírus.

As reações foram executadas em um volume de 50  $\mu$ L, contendo 5  $\mu$ L de DNA extraído, 200 mM de cada dNTP, 0,5  $\mu$ M de cada iniciador (KCl<sub>2</sub> 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, DMSO 1,0  $\mu$ L, Tris-HCl pH 8,3 10 mM e 1 U de *Taq* DNA polimerase). O par de iniciadores envolvidos nesta reação foi (JC/BK Fw)- 5'-AGTCTTTAGGGTCTTCTACC-3' e (JC/BK Rev) 5'-GGTGCCAACCTATGGAACAG-3' (Arthur *et al.*, 1989).

O DNA alvo foi amplificado usando 40 ciclos de 94°C por 2 minutos, 94°C por 1 minuto, 55°C por 45 segundos, 72°C por 1 minuto e 30 segundos, seguidos por uma extensão final de 10 minutos. O produto da amplificação foi visualizado, após eletroforese (100V/45minutos), em gel de agarose a 3 %, em tampão TAE1 x (TAE 40 x estoque- Tris Base 1,6 M, acetato de Na 0,8M e EDTA- Na<sub>2</sub> 40mM/ 1000mL água desionizada), contendo 5  $\mu$ L de brometo de etídio (10 mg/mL), mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

## 2.4 DIGESTÃO ENZIMÁTICA

A diferenciação entre as infecções por JCV e por BKV foi realizada por meio da digestão enzimática do produto amplificado, usando-se a endonuclease de restrição *BamHI* (Invitrogen, CA,USA) que cliva o produto amplificado do JCV em um fragmento de 120 pb e em outro de 53 pb; não clivando o produto amplificado do BKV. O produto da digestão foi visualizado após eletroforese em gel de agarose a 3 % em tampão TAE1 x (TAE 40 x estoque- Tris Base 1,6 M, acetato de Na 0,8M e EDTA-Na<sub>2</sub> 40 mM/1000 mL água desionizada), contendo 5 µL de brometo de etídio (10 mg/mL) e mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultravioleta.

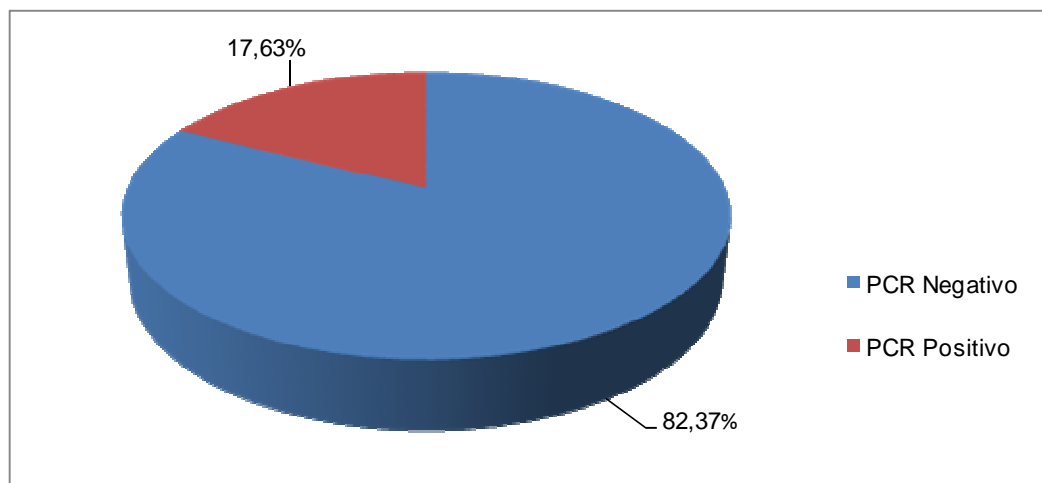
## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação das prevalências de infecção pelo JCV e pelo BKV nas amostras de pacientes com doença renal crônica, em transplantados e nas do grupo controle, foi efetuada pelos testes qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e Exato de Fisher. A avaliação da chance de desenvolver a DRC entre os expostos à infecção, comparada ao grupo controle, foi determinada pelo valor de Razão de Chance (RC) *Odds Ratio* (OR). As análises estatísticas foram efetuadas usando o programa BioEstat 5.0v (Ayres *et al.*, 2008).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR POLIOMAVÍRUS

Das 295 amostras de urina analisadas, 17,6% (52/295) apresentaram PCR positivo para *Polyomavirus*, com amplificação para a região T (Figura 7).



**Figura 7** – Resultado da PCR para detecção de *Polyomavirus* na amostra analisada no presente estudo.

Na distribuição da prevalência da infecção por poliomavírus detectou-se 3,9% (4/102) de positividade nos doentes renais crônicos, 30,5% de (18/59) nos transplantados e 22,4% (30/134) nos assintomáticos, sendo estas diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ; Tabela 1).

**Tabela 1** – Distribuição da prevalência da infecção por *Polyomavirus*.

N: Número de indivíduos analisados.

<i>Polyomavirus</i>	DRC	Transplantados	Assintomáticos
	N (%)	N (%)	N (%)
Positivo	4 (3,9)	18 (30,5)	30 (22,4)
Negativo	98 (96,1)	41 (69,5)	104 (77,6)
<b>Total</b>	<b>102 (100)</b>	<b>59 (100)</b>	<b>134 (100)</b>

Comparando-se os grupos de doentes renais crônicos e assintomáticos, observou-se que as diferenças nas frequências foram estatisticamente significantes ( $\chi^2$ : 14,554;  $p < 0,0001$ ).

A comparação da prevalência do poliomavírus entre transplantados (30,5%) e assintomáticos (22,4%) não revelou diferença estatisticamente significativa ( $\chi^2$ : 1,446;  $p = 0,3070$ ).

### 3.2 PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR JCV E BKV

A prevalência geral do JCV foi de 3,9% (4/102) no grupo de doentes renais crônicos, 3,4% (2/59) nos transplantados e de 20% (27/134) entre os assintomáticos. O BKV foi ausente no grupo de doentes renais crônicos e apresentou frequência de 27% (16/59) nos transplantados e de 2,2% (3/134) nos assintomáticos. Considerando a somatória dos três grupos, o JCV teve prevalência de 11,2% (33/295) e o BKV de 6,4% (19/295).

Dentre as amostras positivas para poliomavírus a frequência das infecções por JCV foi de 100% e 0% entre os doentes renais crônicos e de 90% e 10% entre os assintomáticos, respectivamente, não sendo observada diferença estatística significativa (Teste Exato de Fisher;  $p=0,6785$ ). Com relação à prevalência entre os transplantados 88,9% (16/18) das amostras positivas eram infectadas por BKV e 11,1% (2/18) por JCV (Tabela 2).

**Tabela 2** – Distribuição dos *Polyomavirus JC* e *BK* entre os grupos analisados.

<i>Polyomavirus</i>	DRC	Transplantados	Assintomáticos
	N (%)	N (%)	N (%)
JCV	4 (100,0)	2 (11,1)	27 (90,0)
BKV	0 (0,0)	16 (88,9)	3 (10,0)
<b>Total</b>	<b>4 (100,0)</b>	<b>18 (100,00)</b>	<b>30 (100,0)</b>

N: Número de indivíduos analisados.

Entre os assintomáticos, 90% (27/30) das amostras positivas pertencem a espécie JCV e 10% (3/30) a espécie BKV. A frequência das duas espécies virais apresentou-se de forma diferenciada quando comparado este grupo e o de transplantados, sendo a diferença observada considerada altamente significativa ( $\chi^2$ : 29,276;  $p<0,0001$ ).

Foi observado ainda, na análise de *Odds Ratio*, que o risco de infecção por BKV é 72 vezes maior na população de transplantados em relação à população assintomática (OR=72,000; 10,84<95%<478,06;  $p<0,0001$ ).

Na definição de espécies de *Polyomavirus* entre DRC e Transplantados, a prevalência de JCV foi de 100% e 11,11%, respectivamente, enquanto que o BKV apresentou-se com prevalências de 0,00% e 88,89%, respectivamente, o que revelou, por meio do Teste Exato de Fischer, uma distribuição com diferença estatística significativa ( $p=0,0021$ ).



## 4 DISCUSSÃO

A prevalência da infecção por poliomavírus observada neste estudo apresentou-se de maneira semelhante com outros estudos descritos na literatura que empregaram a mesma metodologia (Rodrigues *et al.*, 2007; Cayres-Vallinoto, 2008), com exceção da população de DRC.

Rodrigues *et al.* (2007), ao analisarem, por meio da técnica de PCR, a excreção de poliomavírus na urina de indivíduos portugueses, detectaram uma prevalência de 25,7%, o que concorda com os achados do presente estudo, no qual os assintomáticos apresentaram prevalência de 22,39%, conforme previamente observado para o JCV na população de Belém, Pará, Brasil, o qual apresentou prevalência de 33% (Cayres-Vallinoto, 2008).

A análise da distribuição das espécies entre assintomáticos e transplantados revelou uma diferença estatística altamente significativa, devido à maior prevalência de JCV em assintomáticos e BKV em transplantados. Na amostra de assintomáticos foi observada, uma maior prevalência de JCV (90%) em relação ao BKV (10%), quando considerado as amostras positivas para poliomavírus. Estes dados, juntamente com outros estudos descritos na literatura, sugerem que quando os poliomavírus estão presentes na urina de indivíduos imunocompetentes, o JCV é tipicamente mais prevalente que o BKV (Kitamura *et al.*, 1990; Markowitz *et al.*, 1993; Rodrigues *et al.*, 2007). No entanto, este achado diverge da análise considerando os pacientes transplantados, que apresentaram uma prevalência de 30,51% de positividade para poliomavírus, dos quais 88,89% eram da espécie BKV e 11,11% de JCV,

resultado similar ao descrito previamente na literatura (Randhawa & Brennan, 2006; Novotná & Viklický, 2008; McIntyre & Stewart, 2009).

A excreção de JCV e de BKV na urina de pacientes receptores de transplante é bastante variável, sendo relatado valores que variam de 20% a 90% (Arthur *et al.*, 1986; Coterril *et al.*, 1992; Priftakis *et al.*, 2000). Sabe-se que o status imune do hospedeiro tem papel fundamental na excreção dos poliomavírus, especialmente para o BKV (Sugimoto *et al.*, 1989; Chang *et al.*, 1996; Tsai *et al.*, 1997; Behbahani *et al.*, 2004), o que justifica os achados do presente estudo, uma vez que os pacientes receptores de transplante são submetidos a terapia imunossupressora.

A análise de *Odds Ratio* revelou que o risco de infecção por BKV é 72 vezes maior em pacientes transplantados do que em assintomáticos, possivelmente devido ao tratamento com drogas imunossupressoras a qual estes pacientes são rotineiramente submetidos (Medeiros *et al.*, 2008).

A análise da infecção em doentes renais apresentou resultados muito abaixo do esperado em comparação aos demais grupos do estudo. A baixa prevalência de 3,92%, possivelmente, é reflexo de resultados falsos negativos, o que pode ter ocorrido devido a fatores intrínsecos e extrínsecos na metodologia aplicada.

Um fator que pode ser levado em consideração é a excreção aumentada de uréia na urina de doentes renais crônicos (Romão Jr, 2006), uma vez que a uréia tem sido sugerida como um importante inibidor da reação de PCR (Khan *et al.*, 1991), além de ter sido observado em outro estudo a

inibição da amplificação de segmentos genômicos do BKV decorrente da presença de elevados níveis de uréia na urina (Behzadbehbahani *et al.*, 1997).

Após a coleta de novas amostras de urina dos doentes renais crônicos, que já haviam sido testadas e que foram conduzidas imediatamente ao Laboratório de Virologia para verificação do pH da urina, observou-se que a maioria apresentava pH acima de 7,0, algumas amostras, chegando a pH10,0. Fato este que pode estar relacionado com a alta taxa de excreção de uréia pelos pacientes. Para fazer a correção do pH da urina foi adicionado ácido acético, até atingir o pH ideal, isto é, na faixa entre 5,5 a 6,0. Logo em seguida, foi feita a lavagem da urina e extração de DNA para realização da PCR. Após este procedimento de teste e correção do pH, algumas amostras cujo resultado eram negativos, amplificaram, o que provavelmente justifica a baixa positividade na população dos doentes renais crônicos.

Assim sugere-se que, para investigar a prevalência e o impacto da infecção por poliomavírus em doentes renais crônicos, sejam desenvolvidos novos estudos com alternativas para reduzir o possível potencial inibidor da uréia, como, por exemplo, a correção de pH e a realização da extração de DNA realizada, imediatamente, após a coleta da urina, o que não foi possível no presente estudo em todas as amostras analisadas.

Somado aos possíveis altos níveis de uréia excretados pelos pacientes, o baixo volume urinário e a baixa densidade urinária, podem ser outros dois fatores contribuintes para a ausência de amplificação, uma vez que esses aspectos clínicos estão associados à diminuição de células de escamação na urina, fato que pode traduzir em uma baixa carga viral presente

nas amostras. Métodos moleculares com maior sensibilidade, como a PCR em tempo real, podem ser escolhidos como metodologia para a resolução deste problema.

A significância estatística observada nas distribuições das prevalências entre os três grupos analisados, provavelmente, ocorreu devido à baixa prevalência de poliomavírus encontrada no grupo dos doentes renais crônicos, somado à dificuldade de coletar novas amostras devido à anúria e oligúria dos pacientes.

Os resultados do presente estudo revelam que em transplantados renais a excreção de BKV é maior em relação à do JCV. Além disso, já foi demonstrado que na infecção por BKV, quando presente em pacientes receptores de transplante renal, pode ocorrer o desenvolvimento de hematúria e de nefrite intersticial, entre outras complicações no trato urinário, das quais, podem de alguma forma, contribuir para a falência do transplante (Binet *et al.*, 1999; Nickleit *et al.*, 1999; Mylonakis *et al.*, 2001).

Desta forma, pode-se concluir que é necessária a implantação de programas de investigação da infecção por poliomavírus, em caráter de rotina, em todos os pacientes em estágio de pré e pós-transplante, assim como nos doadores de órgãos, a fim de se tomar medidas que evitem complicações após o transplante, uma vez que a infecção por poliomavírus, especialmente o BKV, tem sido fortemente associada com rejeição de enxerto em transplante de rins (Loeches *et al.*, 2009).

Por fim, investigações acerca dos poliomavirus que permitam melhor conhecer o ciclo biológico, as vias de transmissão, a patogenia e o ambiente

celular que propicia os mecanismos de reativação, são necessários para que as medidas profiláticas e terapêuticas sejam tomadas, a fim de evitar as manifestações clínicas como, por exemplo, a LEMP, principalmente em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), a estenose ureteral em pós-transplantado renal e a cistite hemorrágica em pós-transplantado de medula óssea.

## 5 CONCLUSÕES

(i) A prevalência da infecção por poliomavírus observadas neste estudo foi semelhante a outros estudos realizados.

(ii) O JCV foi mais prevalente nos indivíduos assintomáticos e o BKV entre os pacientes transplantados renais.

(iii) O risco de infecção por BKV foi determinada ser 72 vezes maior em pacientes transplantados do que em assintomáticos.

(iv) Sugere-se que o baixo volume urinário, a baixa densidade urinária e o elevado nível do pH na urina, podem ser fatores contribuintes para a ausência de amplificação nos pacientes com doença renal crônica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI, H.T., BRUBAKER, G.R., SHAO, J., LEVIN, A., RYSCHKEWITSCH, C.F., BLATTNER, W..A., STONER, G.L. BK virus and a new type of JC virus excreted by HIV-1 positive patients in rural Tanzania. **Archives of Virology**, **140**: 1919–1934, 1995.
- AGOSTINI, H.T., RYSCHKEWITSCH, C.F., STONER, G.L. Genotype profile of human polyomavirus JC excreted in urine of immunocompetent individuals. **Journal of Clinical Microbiology**, **34**: 159–164, 1996.
- AGOSTINI, H.T., RYSCHKEWITSCH, C.F., MORY, R., SINGER, E.J., STONER, G.L. JC virus (JCV) genotypes in brain tissue from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) and in urine from controls without PML: increased frequency of JCV type 2 in PML. **American Journal of Infectious Diseases**, **176**: 1–8, 1997.
- AGOSTINI, H.T., YANAGIHARA, R., DAVIS, V., RYSCHKEWITSCH, C.F., STONER, G.L. Asian genotypes of JC virus in Native Americans and in a Pacific Island population: markers of viral evolution and human migration. Proceedings of the **National Academy of Sciences of the USA**, **94**: 14542-14546, 1997.
- AHSAN, N., SHAH, K.V. Polyomaviruses: an overview. **Graft**, **5**: S9-18, 2002.
- AHSAN, N., SHAH, K.V. Polyomaviruses and human diseases. **Eurekah Bioscience**, **1**, **4**: 374-384, 2005.
- ALLANDER, T., ANDREASSON, K., GUPTA, S., BJERKNER, A., BOGDANOVIC, G., PERSSON, M.A., DALIANIS, T., RAMQVIST, T.,

- ANDERSSON, B. Identification of a third human polyomavirus. **Journal of Virology**, **81**: 4130-4136, 2007.
- ANDERSON, H.A., CHEN, Y., NORKIN, L.C. Bound simian virus 40 translocates to caveolin-enriched membrane domains, and its entry is inhibited by drugs that selectively disrupt caveolae. **Molecular Biology of the Cell**, **7**: 1825 – 1834, 1996.
- ANDREWS, C.A., SHAH, K.V., DANIEL, R.W., HIRSCH, M.S., RUBIN, R.H. A serological investigation of BK virus and JC virus infections in recipients of renal allografts. **Journal of Infectious Disease**, **158**: 176-181, 1988.
- ANTÓN, A., CERVERA, C., PUMAROLA, T., MORENO, A., BENITO, N., LINARES, L., ESTEVA, C., COFÁN, F., JIMÉNEZ DE ANTA, M. T., MARCOS, M.A. Human herpesvirus 7 primary infection in kidney transplant recipients. **Transplantation**, **85**: 298-302, 2008.
- ARIAS, L.F., ALVAREZ, T., GONZÁLEZ, L., SANZ, J., SÁNCHEZ-FRUCTUOSO, A., MARQUÉS, M., PRATS, D., SAIZ-PARDO, M., SÁEZ, M.C, HERNÁNDEZ, S., BARRIENTOS, A., BLANCO, J. BK virus in kidney allografts: a search for histologic evidence of the infection. **Nefrologia**, **24**: 480-485, 2004.
- ARTHUR, R.R., DAGOSTIN, S., SHAH, K.V. Detection of BK virus and JC virus in urine and brain tissue by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, **27**: 1174, 1989.
- ARTHUR, R.R., SHAH, K.V., BAUST, S.J., SANTOS, G.W., SARAL, R. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. **England Journal of Medicine**, **15**: 230-234, 1986.



ASSOCIAÇÃO DOS RENAIIS CRÔNICOS E TRANSPLANTADOS DO PARÁ

(ARCT-PA) Disponível em <http://www.arctpa.com.br/> >acesso em 22/03/08.

ASTRÖM, K.E., MANCALL, E.L., RICHARDSON, E.P., JR. Progressive multifocal leukoencephalopathy: a hitherto unrecognized complication of chronic lymphocytic leukemia and lymphoma. **Brain**, **81**: 93-111, 1958.

AYRES, M., AYRES Jr., M., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. BioEstat 5.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. **Belém, Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq**, 2008.

BARBER, C.E., HEWLETT, T.J., GELDENHUYS, L., KIBERD, B.A., ACOTT, P.D., HATCHETTE, T.F. BK virus nephropathy in a heart transplant recipient: case report and review of the literature. **Transplant Infectious Disease**, **8**: 113-121, 2006.

BEHZADBEHBAHANI, A., KLAPPER, P.E., VALLELY, P.J. Detection of BK virus and JC virus DNA in urine samples from immunocompromised (HIV-infected) and immunocompetent (HIV-non-infected) patients using polymerase chain reaction and microplate hybridization. **J Clin Virol**, **9**: 224-9, 2004.

BEHZADBEHBAHANI, A., KLAPPER, P.E., VALLELY, P.J., CLEATOR, G.M. Detection of BK virus in urine by polymerase chain reaction: a comparison of DNA extraction methods. **Journal of Virology Methods**, **67**: 161-166, 1997.

BERGER, J.R., KASZOVITZ, B., POST, M.J., DICKINSON, G. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with human immunodeficiency virus infection. A review of the literature with a report of sixteen cases. **Annals of Internal Medicine**, **107**: 78-87, 1987.

- BINET, I., NICKELEIT, V., HIRSCH, H.H., PRINCE, O., DALQUEN, P., GUDAT, F., MIHATSCH, M.J., AND THIEL, G. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. **Transplantation**, **67**: 918-922, 1999.
- BRATT, G., HAMMARIN, A.L., GRANDIEN, M., HEDQUIST, B.G., NENNESMO, I., SUNDELIN, B., SEREGARD, S. BK virus as the cause of meningoencephalitis, retinitis, and nephritis in patient with **AIDS**, **13**: 1071–1075, 1999.
- BROOKS, B.R., WALKER, D.L. Progressive multifocal leukoencephalopathy. **Neurological Clinic**, **2**: 299-313, 1984.
- CASTRO, M.C. Manual de Atualização em diálise: complicações agudas hemodiálise. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, **23**: 108-113, 2001.
- CASTRO, M.C.R. **Manual de Transplante Renal – Período pós transplante**. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, 2006.
- CATTRAN, D.C., GREENWOOD, C. RITCHIE, S. BERNSTEIN, K. CHURCHILL, D.N., CLARK, W.F., MORRIN, P.A., LAVOIE, S. A controlled trial of cyclosporine in patients with progressive membranous nephropathy. **Canadian Glomerulonephritis Study Group**, **47**: 1130-1135, 1995.
- CAYRES-VALLINOTO, I.M.V. **Epidemiologia molecular do poliomavírus humano JC em populações da Amazônia brasileira: um marcador biológico das migrações humanas**. Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2008, 134p.

- CHAN, P.K, IP, K.W., SHIU, S.Y., CHIU, E.K., WONG, M.P., YUEN, K.Y.  
Association between polyomaviruria and microscopic hematuria in bone marrow transplant recipients. **Journal of Infection**, **29**: 139–146, 1994.
- CHANG, D. ,WANG, M., OU, W.C., LEE, M.S., HO, H.N., TSAI, R.T. Genotypes of human polyomaviruses in urine samples of pregnant women in Taiwan. **The Journal of Medical Virology**, **48**: 95–101, 1996.
- CHESTERS, P.M., HERITAGE, J., MCCANCE, D.J. Persistence of DNA sequences of BK virus and JC virus in normal human tissues and in diseased tissues. **The Journal of Infectious Diseases**, **676-684**, 1983.
- COLE, C.N. Polyomavirinae: the viruses and their replication. Chapter 28. In: *Fundamental Virology*, 3a edição, Editores FIELDS, B.N., KNIPE, D.M., HOWLEY P.M., *et al.*, **Lippincott-Raven**, Philadelphia, 1996.
- COLEMAN, D.V., MACKENZIE, E.F.D., GARDNER, S.D., POULDING, J.M., AMER, B., RUSSELL, W.J. Human polioma vírus (BK) infection and ureteric stenosis in renal allograft recipients. **Journal of Clinical Pathology**, **31**:338–47, 1978.
- COLEMAN, D.V., WOLFENDALE, M.R., DANIEL, R.A., DHANJAL, N.K., GARDNER, S.D., GIBSON, P.E.. A prospective study of human polyomavirus infection in pregnancy. **American Journal of Infectious Diseases**, **142**: 1-8, 1980.
- COLLE, R. O. – Atendimento psicológico no setor de diálise. *Boletim Paulista de Psicossomática*, (2):10, 2001.

- COTTERILL, H.A., MACAULAY, M.E., WONG, V. Reactivation of polioma vírus in bone marrow transplant recipients. **Journal of Clinical Pathology**, **45**: 445, 1992.
- CROKER, B.P., RAMOS, E.L. Pathology of the renal allograft In: Tisher CC, Brenner BM, ed. Renal Pathology with clinical and functional correlations Philadelphia, Lippincott, 1994. 1591-1640. LEMSTRÖM K, Koskinen P, Häyry. Molecular mechanisms of chronic renal allograft rejection. **Kidney International** **48** (Suppl 52): S-2-S-10,1995.
- CUBITT, C.L., STONER, G.L. Molecular genetics of the BK virus. **Graft.**, **5**: S28-S35, 2002.
- CUBUKCU-DIMOPULO, O., GRECO, A., KUMAR, A. BK virus infection in AIDS. **The American Journal of Surgical Pathology**, **24**: 145–9, 2000.
- DORRIES, K. Molecular biology and pathogenesis of human polioma vírus infections. **Developments in Biological Standardization**, **94**: 71-79, 1998.
- DRAIBE, S. A. Insuficiência renal crônica. In: AJZEN, H.; SCHOR, N. **Nefrologia**: guia de medicina ambulatorial. São Paulo: Manole, p.339-343, 2002.
- DRACHENBERG, C. B., HIRSCH, H. H., RAMOS, E., PAPADIMITRIOU, J.C. Polyomavirus disease in renal transplantation. Review of pathological findings and diagnostic methods. **Human Pathology**, **36**: 1245-1255, 2005.
- DYNIWICZ, A. M., ZANELLA, E., KOBUS, L. S. G. - Narrativa de uma cliente com insuficiência renal crônica: a história oral como estratégia de pesquisa. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 06, n. 02, p. 199-212, 2004.

- EASH, S., MANLEY, K., GASPAROVIC, M., QUERBES, W. AND ATWOOD, W.J. The human polyomaviruses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, **63** (7-8): 865-876, 2006.
- EGLI, A., BINGGELI, S., BODAGHI, S., DUMOULIN, A., FUNK, G. A., KHANNA, N., LEUENBERGER, D., GOSERT, R. E HIRSCH, H. H. Cytomegalovirus and polyomavirus BK posttransplant. **Nephrology Dialysis Transplantation**, **22**: viii72-viii82, 2007.
- ELSNER, C., DORRIES, K. Evidence of human polyomavirus BK and JC infection in normal brain tissue. **Virology**, **191**: 72-80, 1992.
- EVANS, R.W., MANNINEN, D.L., GARRISON, L.P., The quality of life of patients with end-stage renal disease. **The New England Journal of Medicine**, **312**: 553-559, 1985.
- FENG, H., SHUDA, M., CHANG, Y., MOORE, P.S. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. **Science**, **319**: 1096–1100, 2008.
- FERRANTE, P., CALDARELLI-STEFANO, R., OMODEO-ZORINI, E., VAGO, L., BOLDORINI, R. AND COSTANZI, G. PCR detection of JC virus DNA in brain tissue from patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. **Journal of Medical Virology**, **47**: 219-225, 1995.
- FIORITI, D., VIDETTA, M., MISCHITELLI, M., DECENER, A.M., RUSSO, G., GIORDANO, A. Human polyomavirus BK: potential role in cancer. **Journal of Cellular Physiology**, **204**: 402-406, 2005.
- FISHMAN, J.A. BK virus nephropathy-polyomavirus adding insult to injury. **The New England Journal of Medicine**, **347**: 527-530, 2002.

- FRISQUE, R.J. "JC and BK viruses (*Papovaviridae*)". In: **Encyclopedia of Virology**, vol. 2. GRANOFF, A.G. & WEBSTER, R.G. (ed.). Academic Press, 1999. p. 876-883.
- FRISQUE, R.J., BREM, G.L. AND CANNELLA, M.T. Human polyomavirus JC virus genome. **Journal of Virology**, **51**: 458-469, 1984.
- FRISQUE, R.J., WHITE, F.A. III: The molecular biology of JCV, causative agent of progressive multifocal leukoencephalopathy. In: RP Roos (ed). *Molecular Neurovirology*, (1992); Humana Press, Totowa, NJ, pp 25- 158 **Lancet**, **1** (7712): 1253, 1971.
- GARDNER, S.D., FIELD, A.M., COLEMAN, D.V., HULME, B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. **Lancet**, **1**: 1253–1257, 1971.
- GARDNER, S. D. Prevalence in England of antibody to human polioma virus (B.K.). **British Medical Journal**, **1**: 77–78, 1973.
- GARDNER, S. D. Implication of papovaviruses in human diseases. En: Kurstak E, editor. Comparative diagnosis of viral diseases. Vol 1. Human and related viruses (parte A). Nueva York: **Academic Press**, **41-84**, 1977.
- GARDNER, S.D., MACKENZIE, E.F.D., SMITH, C. A prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. **Journal of Clinical Pathology**, **37**: 578–586, 1984.
- GAYNOR, A.M., NISSEN, M.D., WHILEY, D.M., MACKAY, I.M., LAMBERT, S.B., WU, G., BRENNAN, D.C., STORCH, G.A., SLOOTS, T.P., WANG, D. Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. **Plos Pathogens**, **3**: 595-604, 2007.

- GILBERT, J.M., BENJAMIN, T.L. Early steps of Polyomavirus entry into cells. **Journal of Virology**, **74**: 8582-8588, 2000.
- GOUDSMIT, J., WERTHEIM-VAN DILLEN, P., VAN STREIN, A., VAN DER NOORDAA, J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. **Journal of Medical Virology**, **10**: 91-99, 1982.
- GRITSCH, H.A., ROSENTHAL, T., DANOVIATCH, G.M. Living and cadaveric kidney donation. In: DANOVIATCH GM. Handbook of kidney transplantation. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.111-129.
- GUO, J., KITAMURA, T., EBIHARA, H., SUGIMOTO, C., KUNITAKE, T., TAKEHISA, J., NA, Y. Q., AL-AHDAL, M. N., HALLIN, A., KAWABE, K., TAGUCHI, F. & YOGO, Y, Geographical distribution of the human polyomavirus JC virus types A and B and isolation of a new type from Ghana. **Journal of General Virology** **77**, 919 - 927, 1996.
- GUYTON, A.C., HALL, J. E. Fisiologia humana e mecanismos das doenças. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p. 191-212.
- HALE, A.D., BARTKEVIOIUTE, D., DARGEVIOIUTE, A., JIN, L., KNOWLES, J., BROWN, D.W.G., SASNAUSKAS, K. Expression and antigenic characterization of the major capsid proteins of human polyomaviruses BK e JC in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Virological Methods**, **104**: 93-98, 2002.
- HALLERVORDEN, J. Eigennartige und nicht rubriziebare Prozesse. In Bumke O (ed). Handbuch der Geisteskrankheiten: Vol. 2. Die **Anatomie der Psychosen**. Berlin: Springer, 1930.

- HATWELL, J.N., SHARP, P.M. Evolution of human polyomavirus. **Journal of General Virology**, **81**: 1191-1200, 2000.
- HERITAGE, J., CHESTERS, P.M., MCCANCE, D.J. The persistence of papovavirus BK DNA sequences in normal human renal tissue. **Journal of Medical Virology**; **8**: 143-150, 1981.
- HOGAN, T.F., BORDEN, E.C., MC BAIN, J.A., PADGETT, B.L., WALKER, D.L. Human polyomavirus infections with JC virus and BK virus in renal transplant patients. **Annals of Internal Medicine**, **92**: 373-378, 1980.
- HOGAN, T.F., PADGETT, B.L., WALKER, D.L, BORDEN, E.C, FRIAS, Z. Survey of human polyomavirus (JCV,BKV) infections in 139 patients with lung cancer, breast cancer, melanoma, or lymphoma. **Progress in Clinical and Biological Research**, **105**: 311-324, 1983.
- HOLMAN, R.C., TOROK, T.J., BELAY, E.D., JANSSEN, R.S., SCHONBERGER, L.B. Progressive multifocal leukoencephalopathy in the United States, 1979-1994: increased mortality associated with HIV infection. **Neuroepidemiology**, **17**: 303-309, 1998.
- ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTVdB - The Universal Virus Database, 2006. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>>. Acesso em 09/04/2008.
- IKEGAYA, H. P. J., SAUKKO, R., TERTTI, K. P., METSÄRINNE, M. J., CARR, B., CROWLEY, K., SAKURADA, H.Z., ZHENG, T., KITAMURA, YOGO, Y. Identification of a genomic subgroup of BK polyomavirus spread in



- European populations. **The Journal of General Virology**, **87**: 3201-3208, 2006.
- IMPERIALE, M.J. "The Human Polyomaviruses: an overview". *In* Khalili, K. and STONER, G.L. (ed.), Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical *Perspective*. **Wiley- Liss**, New York, p. 53-7, 2001.
- IMPERIALE, M. J., MAJOR, E. O. Polyomaviruses. pp.2263 – 2298. *In*: D. M. KNIPE, P. M. HOWLEY, D. E. GRIFFIN, R. A. LAMB, M. A. MARTIN, B. ROIZMAN, S. E. STRAUS (ed). **Fields Virology**, 5<sup>th</sup> ed, vol 2, Philadelphia: Wolters Kluwer Health / Lippincott, Williams and Wilkins, 2007.
- JACOBBI, L.M., MCBRIDE, V.A., ETHEREDGE, E. E. The risks, benefits, and costs of expanding donor criteria: a collaborative prospective three-year study. **Transplantation**, **60**: 1491-1496, 1995.
- JIN, L., PIETROPAOLO, V., BOOTH, J.C., WARD, K.H., BROWN, D.W. Prevalence and distribution of BK virus subtype sin healthy people and immunocompromised patients detected by PCR restriction enzyme **Clinical and Diagnostic Virology**, **3**: 285-295,1995.
- JOBES, D.V., CHIMA, S.C., RYSCHKEWITSCH, C.F., STONER, G.L. Phylogenetic analysis of the human polyomavirus JC virus. **Journal of General Virology**, **79**: 2491-2498, 1998.
- KAHAN, A., COLEMAN, D., KOSS, L. Activation of human polyomavirus infection detection by cytologic technics. **American Journal of Clinical Pathology**, **74**: 326-332, 1980.

- KALIL, J. Imunologia do Transplante Renal. In RIELLA, M.C. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, p. 646-656
- KATO, A., KITAMURA, T., SUGIMOTO, C., OGAWA, Y., NAKAZATO, K., NAGASHIMA, K., HALL, W.W., KAWABE, K., YOGO, Y. Lack of evidence for the transmission of JC polyomavirus between human populations. **Archives of Virology**, **142**: 875-882, 1997.
- KARAHALIOS, D., BREIT, R., DAL CANTO, M.C., LEVY, R.M., Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with HIV infection: lack of impact of early diagnosis by stereotactic brain biopsy. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **10**: 1030-1038, 1992.
- KARPINSKI, M., KNOLI, G., COHN, A., YANG, R., GARG, A., STORSLEY, L. The impact of accepting living kidney donors with mild hypertension or proteinuria on transplantation rates. **American Journal of kidney Diseases**, **47**: 317-23, 2006.
- KHALILI, K., STONER, G.L. Human polyomaviruses: molecular and clinical perspectives. 1<sup>st</sup> ed. New York: Wiley-Liss, 2001.
- KHAN, G., KANGRO, H.O., COATES, P.J., HEATH, R.B. Inhibitory effects of urine on the polymerase chain reaction for cytomegalovirus DNA. **Journal of Clinical Pathology**, **44**: 360-365, 1991.
- KITAMURA, T. Detection of urinary JCV and BKV DNA during immunosuppressive therapy. **Nippon-Rinsho**, **50**: 211-215, 1992.

- KITAMURA, T., ASO, Y., KUNIYOSHI, N., HARA, K., YOGO, Y. High incidence of urinary JC virus excretion in nonimmunosuppressed older patients. **The Journal of Infectious Disease**, **161**: 1128-1133, 1990.
- KNOWLES, W.A. Propagation and assay of BK virus. **Methods in Molecular Biology**, **165**: 19 -31, 2001.
- KUMAR, S., TAMURA, K., NEI, M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, **5**:150-163, 2004.
- KWAK, E.J., VILCHEZ, A.R., RANDHAWA, P., SHAPIRO, R., BUTEL, J.S., KUSNE, S. Pathogenesis and management of polyomavirus infection in transplant recipients. **Clinical Infectious Diseases**, **35**:1081-1087, 2002.
- LAGHI, L., RANDOLPH, E., CHAUHAN, D.P., MARRA, G., MAJOR, E.O., NEEL, J.V., BOLAND, C.R. JC virus DNA is present in the mucosa of the human colon and in colorectal cancers. **Medical Sciences**, **96**: 7484–7489, 1999.
- LEMSTRÖM, K., KOSKINEN, P., HÄYRY, P. Molecular mechanisms of chronic renal allograft rejection. **Kidney Int Suppl.**, **52**: 2-10, 1995.
- LOECHES, B., VALERIO, M., PÉREZ, M., BAÑARES, R., LEDESMA, J., FOGEDA, M., SALCEDO, M., RINCÓN, D., BOUZA, E., MUÑOZ, P. BK virus in liver transplant recipients: a prospective study. **Trasplantation Proceedings**, **41**: 1033-1037, 2009.
- LUVISOTTO, M. M., DE CARVALHO, R., GOLDEANO, L. E. Transplante Renal: diagnóstico e intervenções de enfermagem em pacientes no pós-operatório imediato. **Einstein**, **5**: 117-122, 2007.

MANUAL DE TRANSPLANTE RENAL – Período Pós Transplante - disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/sangue/simbravisa/Manual> - acesso:30.08.09

MANTYJARVI, R.A., MEURMAN, O.H., VIHMA L., BERGLUND, B. A human papovavirus (B.K), biological properties and seroepidemiology. **Annals of Clinical Research**, **5**: 283–287, 1973.

MARKOWITZ, R.B., THOMPSON, H.C., MUELLER, J.F., COHEN, J.A., DYNAN, W.S. Incidence of BK virus and JC virus viruria in human immunodeficiency virus infected and uninfected subjects. **American Journal of Infectious Diseases**, **167**: 13-20, 1993.

MCCANCE, D. Persistence of animal and human papovaviruses in renal nervous tissues. En: Sever J. L., Madden D.L. Polyomaviruses and human neurological disease. New York: **Alan R. Liss**, 343-357, 1983.

MCINTYRE, P. G; STEWART, G. BK virus infection in a renal transplant recipient. **Journal of Clinical Virology**, **45**: vi, 2009.

MEDEIROS, M., ALBERÚ, J., GARCIA, G. R., FUENTES, Y., VELASQUEZ, L. Vírus polioma em transplante renal. **Nefrologia**, **2**: 203-211, 2008.

MIRANDA, J.J., SUGIMOTO, C., PARAGUISON, R., TAKASAKA, T., ZHENG, H., YOGO, Y. Genetic diversity of JC virus in the modern filipio population: implications for the peopling of the Philippines. **American Journal of Physical Anthropology**, **120**: 125-132, 2003.

MONACO, M.C., ATWOOD, W.J., GRAVELL, M., TORNATORE, C.S., MAJOR, E.O. JC Virus infection of hematopoietic progenitor cells, primary B-lymphocytes, and tonsillar stromal cells: implications for viral latency. **Journal of Virology**, **70**: 7004-7012, 1996.

- MONINI, P., ROTOLA, A., DE LELLIS, L., CORALLINI, A., SECCHIERO, P., ALBINI, A., BENELLI, R., PARRAVICINI, C., BARBANTI-BRODANO, G. AND CASSAI, E. Latent BK virus infection and Kaposi's sarcoma pathogenesis. **International journal of Câncer**, **66**: 717-722, 1996.
- MYLONAKIS, E., GOES, N., RUBIN, R.H., COSIMI, A.B., COLVIN, R.B., FISHMAN, J.A: BK virus in solid organ transplant recipients: An emerging syndrome. **Transplantation**, **72**: 1587-1592, 2001.
- NICKELEIT, V., HIRSCH, H.H., ISABELLE, B.F. Polyomavirus infection of renal allograft recipients: from latent infection to manifest disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, **10**: 1080-1089, 1999.
- NOVOTNÁ E; VIKLICKÝ, O. BK viral infection after renal transplantation. **VNITR LEK**, **54**: 835-841, 2008.
- O'REILLY, R.J., LEE, F.K., GROSSBARD, E., KAPOOR, N., KIRKPATRICK, D., DINSMORE, R. Papovavirus excretion following marrow transplantation: incidence and association with hepatic dysfunction. **Transplantation proceedings**, **13**: 262-266, 1981.
- PADGETT, B.L., WALKER, D.L., ZURHEIN, G.M., ECKROADE, R.J., DESSEL, B.H. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. **Lancet**, **1**: 1257-1260, 1971.
- PADGETT, B.L., WALKER, D.L. Prevalence of antibodies in human sera against JC virus, an isolate from a case of progressive multifocal leucoencephalopathy. **Journal of Infectious Diseases**, **127**: 467-470, 1973.

- PADGETT, B.L., WALKER, D.L. New human papovaviruses. **Progress in Medical Virology**, **22**: 1-35, 1976.
- PAPPO, O., DEMETRIS, A.J., RAIKOW, R.B. Human polyoma virus infection of renal allografts: histopathologic diagnosis, clinical significance, and literature review. **Modern Pathology**, **9**: 105–109, 1996.
- PASQUALOTTO, A.C., DE MATTOS, A.J., ROCHA, M.M. Progressive multifocal leukoencephalopathy confirmed by PCR for JC virus in cerebrospinal fluid: case report. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, **62**: 550-554, 2004.
- PIETROPAOLO, V., DI TARANTO, C., DEGENER, A.M., JIN, L., SINIBALDI, L., BAIOCCHINI, A., MELIS, M., ORSI, N. Transplacental transmission of human polyomavirus BK. **Journal of Medical Virology**, **56**: 372-376, 1998.
- PITTALUGA, S., ROBERTS, J.R., GITT, J., SAINI, N., LUX, W. Involvement of JC virus infected mononuclear cells from the bone marrow and spleen in the pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy. **The New England Journal of Medicine**, **318**: 301-305, 1988.
- PORTOLANI, M., MARZOCCHI, A., BARBANTI-BRODANO, G., LA PLACA, M. Prevalence in Italy of antibodies to a new human papovavirus (BK Virus). **Journal of Medical Microbiology**, **7**: 543–546, 1974.
- PRIFTAKIS, P., BOGDANOVIC, G., TYDEN, G., DALIANIS, T. Polyomaviruria in renal transplant patients is not correlated to the cold ischemia period or to rejection episodes. **Journal of Clinical Microbiology**, **38**: 406-407, 2000.

- QUINLIVAN, E.B., NORRIS, M., BOULDIN T.W., Subclinical Central Nervous System Infection with JC Virus in Patients with AIDS. **The Journal of Infectious Diseases**, **166**: 80-85, 1992.
- RANDHAWA, P., BAKSH, F., AOKI, N., TSCHIRHART, D., FINKELSTEIN, S. JC virus infection in allograft kidneys: analysis by polymerase chain reaction and immunohistochemistry. **Transplantation**, **71**: 1300-1303, 2001.
- RANDHAWA, P., BRENNAN, D. C. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. **American Journal of Transplantation**, **6**: 2000-2005, 2006.
- RANDHAWA, P., FINKELSTEIN, S., SCANTLEBURY, V., SHAPIRO, R., VIVAS, C., JORDAN, M., PICKEN, M. M., DEMETRIS, A. J. Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney. **Transplantation**, **67**: 103-109, 1999.
- RANDHAWA, P., VATS, A., SHAPIRO, R., WECK, K., SCANTLEBURY, V. BK virus: discovery, epidemiology, and biology. **Graft**, **5**: S19-S27, 2002.
- RAVAGNANI, L.M.B.; DOMINGOS, N.A.M., MIYAZAKI, M.C.O.S. Qualidade de vida e estratégias de enfrentamento em pacientes submetidos a transplante renal. **Estudos de psicologia**, **12**: 177-184, 2007.
- REPLOEG, M.D., STORCH, G.A., CLIFFORD, D.B., Bk virus: a clinical review. **Clinical Infectious Diseases**, **10**: 640–644, 2004.
- RICCIARDIELLO, L., CHANG, D.K., LAGHI, L., GOEL, A., CHANG, C.L., BOLAND, C.R. Mad-1 is the exclusive JC virus strain present in the human colon, and its transcriptional control region has a deleted 98-base-pair sequence in colon cancer tissues. **Journal of Virology**; **75**: 1996-2001.

- RIELLA, M. C., PECOITS-FILHO, R. Insuficiência Renal Crônica: Fisiopatologia da Uremia. *In*:RIELLA, M. C. **Princípios da Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrolíticos**.4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,. p.661-689, 2003.
- RODRIGUES, C., PINTO, D., MEDEIROS, R. Molecular epidemiology characterization of the urinary excretion of polyomavirus in healthy individuals from Portugal a Southern European population. **Journal of Medical Virology**, **79**: 1194-1198, 2007.
- ROMÃO JÚNIOR, J. E., Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. **Jornal Brasileiro de Neurologia**, **26**:1-3, 2004.
- ROMÃO JÚNIOR, J. E. Nefrologia: in: **Insuficiência Renal Crônica**, 2ed São Paulo: Sarvier, p248, 2006.
- RZIHA, H., BORNKAMM, G.W., ZUR HAUSEN, H. BK virus: I. Seroepidemiologic studies and serologic response to viral infection. **Medical Microbiology and Immunology**, **165**: 73–81, 1978.
- SAITOU, N., NEI, M. The neighbor joining method. A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology Evolutionary**, **4**: 406-425, 1987.
- SALOMÃO FILHO, A, FERREIRA, S. R. C., CÂMARA, F. P., PONTES, D. S., MACHADO, D. Transplante renal. In: Pereira WA. **Manual de transplante de órgãos e tecidos**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 268-297.



- SANGER, F., NICHLEN, S., COULSON, A.R., DNA sequences with chain termination inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **74**: 5463-5468, 1977.
- SANDLER, E.S., AQUINO, V.M., GOSS-SHOHET, E., HINRICHS, S., KRISHER, K. BK papovavirus pneumonia following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, **20**: 163–165, 1997.
- SCHNEIDER, E.M., DORRIES, K. High frequency of polyomavirus infection in lymphoid cell preparations after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation Proceedings*, **25**: 1271-1273, 1993.
- SCHNUELLE, P., LORENZ, D., TREDE, M., VAN DER WOUDE, F.J. Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during longterm follow-up. *Journal of the American Society of Nephrology*, **9**: 2135-41, 1998.
- SEIF, I., KHOURY, G., DHAR, R. BKV splice sequences based on analysis of preferred donor and acceptor sites. *Nucleic Acids Research*, **6**: 3387-3398, 1979a.
- SEIF, I., KHOURY, G., DHAR, R. The genome of human papovavirus BKV. *Cell*, **18**: 963-977, 1979.
- SESSO, R., LOPES, A. A., SALDANHA, T. F., BEVILACQUA, J. L., ROMÃO-JUNIOR, J. E., LUGON, J. Relatório do Censo Brasileiro de Diálise, 2008. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, **30**: 233-238, 2008.

- SETH, P., DIAZ, F., MAJOR, E.O. Advances in the biology of JC virus and induction of progressive multifocal leukoencephalopathy. **Journal of Neurovirology**, **9**: 236-246, 2003.
- SINGH, H. K. Urine cytology findings of polyomavirus infections. In: AHSAN, N. *et al.* Polyomavirus and human diseases. New York: **Springer**, 2005. p. 201-12.
- SHAH, K.V., DANIEL, R.W., WARSZAWSKI, R.M. High prevalence of antibodies to BK virus, and SV-40 related papovavirus, in residents in Maryland. **American Journal of Infectious Diseases**, **128**: 784–787, 1973.
- SHISHIDO-HARA, Y., HARA, Y., LARSON, T., YASUI, K., NAGASHIMA, K., STONER, G.L. Analysis of capsid formation of human polyomavirus JC (Tokyo-1 strain) by a eukaryotic expression system: splicing of late RNAs, translation and nuclear transport of major capsid protein VP1, and capsid assembly. **Journal of Virology**, **74**: 1840-1853, 2000.
- SHISHIDO-HARA, Y., K. NAGASHIMA. Synthesis and assembly of polyomavirus virions, p. 149-177. In KHALILI, K., STONER, G.L. (ed.), **Human polyomaviruses**: molecular and clinical perspectives. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y. 2001.
- SILVA, D.M.G.V., VIEIRA, R.M., KOSCHNIK, Z, AZEVEDO, M., SOUZA, S.S. Qualidade de vida de pessoas com insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico. **Revista Brasileira Enfermagem**, **55**, n.5, p. 562-567, 2002.

- SKIEST, D.J. Focal neurological disease in patients with acquired immunodeficiency syndrome. **Clinical Infectious Diseases**, **34**: 103-115, 2002.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SNB). **O Rim e suas Doenças**. ROMÃO JÚNIOR E. J., Disponível em <http://www.snb.org.br>.> Acesso em 22/03/08.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, Departamento de informática. Biênio 1997-98. **Registro Brasileiro de Diálise**, 1997, Disponível em: <http://www.epm.br/medicina/registro/97/rghd97.htm>> Acesso em 22/03/2008
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SBN). **Censo 2007** Disponível em <http://www.snb.org.br>.> Acesso em 22/03/08.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SBN). **Censo 2008** Disponível em <http://www.snb.org.br>.> Acesso em 30/08/09.
- STEWART, A.R., LEDNICKY, J.A., BUTEL, J.S. Sequence analyses of human-tumor associated SV40 DNAs and SV40 viral isolates from monkeys and humans. **Journal of Neurovirology**, **4**: 182-193, 1998.
- STONER, G.L., JOBES, D.V., COBO, M.F., AGOSTINI, H.T., CHIMA, S.C., RYSCHKEWITSCH, C.F. JC virus as a marker of human migration to the Americas. **Microbes and Infection**, **2**: 1905-1911, 2000.
- SUGIMOTO, C., HARA, K., TAGUCHI, F., YOGO, Y. Growth efficiency of naturally occurring BK virus variants in vivo and in vitro. **The Journal of Virology**, **63**: 3195–3199, 1989.

- SUGIMOTO, C., HARA, K., TAGUCHI, F. AND YOGO, Y. Regulatory DNA sequence conserved in the course of BK virus evolution. **Journal of Molecular Evolution**, **31**: 485-492, 1990.
- SUGIMOTO, C., KITAMURA, T., GUO, J., AL-AHDAL, M.N., SHCHELKUNOV, S.N., OTOVA, B., ONDREJKA, P., CHOLLET, J-Y., EL-SAFI, S., ETTAYEBI, M., GRÉSENGUET, G., KOCAGÖZ, T., CHAIYARASAMEE, S., THANT, K.Z., THEIN, S., MOE, K., KOBAYASHI, N., TAGUCHI, F., YOGO, Y. Typing of urinary JC virus DNA offers a novel means of tracing human migrations. Proceedings of the National **Academy of Sciences of the USA**, **94**: 9191-9196, 1997.
- SUNDSFJORD, A., SPEIN, A.R., LUCHT, E., FLAEGSTAD, T., SETERNES, O.M., TRAAVIK, T. Detection of BK virus DNA in nasopharyngeal aspirates from children with respiratory infections but not in saliva from immunodeficient and immunocompetent adult patients. **Journal of Clinical Microbiology**, **32**: 1390-1394, 1994.
- TAGUCHI, F., NAGAKI, D., SAITO, M., HARUYAMA, C. & IWASAKI, K, Transplacental transmission of BK virus in human. *Jpn J Microbiol* **19**, 395–398, 1975.
- TAJIMA, M., TAKEDA, F., MORI, M., SHIMADA, H. Prevalence of the antibody against human polyomaviruses (JCV and BKV) in aged persons. **Kausenshogakn-Zasshi**, **64**: 1507-1513, 1990.
- TAKASAKA, T. N., GOYA, T., TOKUMOTO, K., TANABE, H., TOMA, Y., OGAWA, S., HOKAMA, A., MOMOSE, T., FUNYU, T., FUJIOKA, S., OMORI, H., AKIYAMA, Q., CHEN, H.Y., ZHENG, N., OHTA, T., KITAMURA,

- YOGO, Y. Subtypes of BK virus prevalent in Japan and variation in their transcriptional control region. **The Journal of General Virology**, **85**: 2821-2827, 2004.
- THOMPSON, J.D., GIBSON, T.J., PLEWNIAK, F., JEANMOUGIN, F., HIGGINS, D.G. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, **24**: 4876-4882, 1997.
- TORNATORE, C., BERGER, J.R., HOUFF, S.A., CURFMAN, B., MEYERS, K., WINFIELD, D., MAJOR, E.O. Detection of JC virus DNA in peripheral lymphocytes from patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. **Annals of Neurology**, **31**: 456-462, 1992.
- TSAI, R.T., WANG, M., OU, W.C., LEE, Y.L., LI, S.Y., FUNG, C.Y., HUANG, Y.L., TZENG, T.Y., CHEN, Y., CHANG, D. Incidence of JC viruria is higher than that of BK viruria in Taiwan. **The Journal of Medical Virology**, **52**: 253–257, 1997.
- TURRA, K. As repercussões da doença cardiovascular na qualidade de vida de adultos: relato de experiência. **Cogitare Enfermagem**, **v.6**, n.1, p32-36, 2001.
- Informativo UNESP**. Disponível em <<http://proex.reitoria.unesp.br/informativo/WebHelp/2004/imagens/hemodialise01.jpg>>. Acesso em 02/05/2008.
- University of Cape Town, Department of Molecular and Biology Cell. Papovaviruses**. Disponível em <<http://www.mcb.uct.ac.za/cann/335/Papova1.gif>>. Acesso em 02/05/2008.

- VALLBRACHT, A., LÖHLER, J., GOSSMANN, J., GLÜCK, T., PETERSEN, D., GERTH, H.J., GENCIC, M., DÖRRIES, K. Disseminated BK type polyomavirus infection in an AIDS patient associated with central nervous system disease. **The American Journal of Pathology**, **143**: 29-39, 1993.
- VOLTER, C., HAUSEN, H., ALBER, D., DE VILLIERS, E.M. Screening human tumor samples with a broad-spectrum polymerase chain reaction method for the detection of polyomaviruses. **Virology**, **237**: 389-396, 1997.
- WALACE, M.C.P. *Psicologia – renais crônicos*. [on line]. Disponível <[www.intermega.com.br/intermega/index.php](http://www.intermega.com.br/intermega/index.php)> Acesso em 24/02/03.
- WEBER, M., DINDO, D., DEMARTINES, N., AMBUHL, P.M., CLAVIEN, P.A. Kidney Transplantation from donors without a heartbeat. **New England Journal of Medicine**, **347**: 248-255, 2002.
- WEI, G., LIU, C.K., ATWOOD, W.J. JC virus binds to primary human glial cells, tonsillar stromal cells, and B-lymphocytes, but not to T lymphocytes. **Journal of Neurovirology**, **6**: 127-136, 2000.
- WHITE, M.K., KHALILI, K. Polyomaviruses and human cancer: molecular mechanism underlying patterns of tumorigenesis. **Virology**, **32**: 1-16, 2004.
- WILSON, W.R., SANDE, M.A., *Doenças infecciosas: diagnóstico e tratamento*. Porto Alegre: **Artmed**, 2004.
- YANG, R.C., WU, R. BK virus DNA: complete nucleotide sequence of a human tumor virus. **Science**, **206**: 456-462, 1979.
- ZHENG, H.Y., NISHIMOTO Y., CHEN Q., HASEGAWA M., ZHONG S., IKEGAYA H., OHNO N., SUGIMOTO C., TAKASAKA T. Relationships

between BK virus lineages and human populations. **Microbes Infect** **9**, 204–213, 2007.

ZHENG, H.Y., NISHIMOTO Y., CHEN Q., HASEGAWA M., ZHONG S., IKEGAYA H., OHNO N., SUGIMOTO C., TAKASAKA T., KITAMURA, T., ZUR HAUSEN, H. Novel human polyomaviruses re-emergence of a well known virus family as possible human carcinogens, **International Journal of Cancer**, 123: 247-250, 2008.



## **ANEXO 01**

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Estou sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa sobre a *caracterização epidemiológica e molecular da infecção pelos Vírus JC (JCV) e Vírus BK (BKV) infectando pacientes com doença renal crônica*, que está sendo desenvolvida no Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

Para que eu decidisse ou não em participar da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:

1. O título do projeto é: **Epidemiologia molecular da infecção do Poliomavírus JCV em Pacientes com Insuficiência Renal Crônica.**
2. O pesquisador responsável é o Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto, Biomédico, Professor Adjunto IV da Universidade Federal do Pará, com a colaboração da Dra. Denise de Melo Alves, Dra Cristina Viegas Bernardino e Dra. Silvia Regina Cruz Migone.
3. O objetivo da pesquisa é a avaliação da possível associação da infecção pelo *Vírus JC* em pacientes com insuficiência renal crônica.
4. Essa pesquisa não oferece riscos, porque as práticas são de uso rotineiro. Contudo, é possível o surgimento de uma pequena área arroxeadada e dolorosa no local da coleta de sangue.
5. Uma pequena quantidade de urina (10 a 50 mL) e de sangue (5mL) será coletada e posteriormente estocadas a -20°C no Laboratório de Virologia da UFPA para pesquisas futuras.
6. Toda nova pesquisa a ser feita com o material estocado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição.
7. Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como qualquer pessoa poderá deixar a pesquisa no momento que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.
8. Não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa, assim como não haverá nenhuma forma de pagamento para participação.
9. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, é possibilitar uma melhor fundamentação do conhecimento da prevalência e do perfil da infecção pelo JCV na região e auxiliar no estabelecimento de futuras condutas diagnósticas e de seguimento clínico-terapêutico mais adequadas.
10. A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.

Assinatura do Pesquisador Responsável

**CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido(a) acerca do conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura da participante

Prontuário: \_\_\_\_\_

Protocolo: \_\_\_\_\_

**LABORATÓRIO DE VIROLOGIA**

Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia,  
Tel./fax: (91) 3201-7587, e-mails: [vallinoto@ufpa.br](mailto:vallinoto@ufpa.br)

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA CEP-CCS/UFPA.** Universidade Federal do Pará – Complexo de Aulas/CCS – Sala 14 – Campus Universitário do Guamá, 66075-110 – Belém, Pará, Tel.: (91) 3201-8028, e-mail: [cepccs@ufpa.br](mailto:cepccs@ufpa.br)



**ANEXO 2**

Universidade Federal do Pará



CEP-CCS/UFPA

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO CENTRO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**

Ao: Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto.

Carta: 078/06 CEP-CCS/UFPA.

Belém, 31 de agosto de 2006.

Senhor Pesquisador, temos a satisfação de informar que seu projeto de pesquisa intitulado "Investigação molecular da infecção pelo poliomavírus JCV em pacientes com Insuficiência Renal Crônica" sob o protocolo nº: 090/06 CEP-CCS/UFPA, foi apreciado e aprovado na reunião do dia 31 de agosto de 2006. Você tem como compromisso a entrega do relatório até o dia 30 de Dezembro de 2006 no CEP-CCS/UFPA situado no Campus universitário do Guamá no Complexo de sala de aula do CCS – sala 13 (Altos), (em frente ao estacionamento do Curso de Odontologia).

Atenciosamente,

**Prof. M. Sc. Wallace Raimundo Araújo dos Santos**  
Coordenador do CEP-CCS/UFPA

*Prof. M.Sc. Wallace Raimundo A. dos Santos*  
Coordenador do CEP-CCS-UFPA

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará (CEP-CCS/UFPA) - Complexo de Sala de Aula/ CCS – Sala 14 - Campus Universitário, nº 01, Guamá – CEP: 66675-110 - Belém-Pará. Tel./Fax: 3201-8028 E-mail: cepccs@ufpa.br