















Diagnóstico de Citomegalovírus no Transplante Pulmonar: Validação de um Ponto de Corte de qPCR em um Centro de Referência em Transplantes no Brasil

Ana Carolina Gonçalves Castelo¹ , Lorena Maria de Oliveira Barbosa¹ , Douglas Zaione Nascimento² ,
Camila Bertoldo Pinheiro² , Maria Fernanda Aquino Severini² , Marisa Gutjahr Kayser² , Aline Fossá² ,
Rafaela Ingrassia² , Karina Faccio Mello² , Luana Moro² , Pamela Toniolo Coutinho² ,
Nathalia Pereira dos Santos² , Priscila Lamb Wink² , Alessandro Comarú Pasqualotto^{1,2,3,*} 

1.Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre  – Departamento de Medicina Clínica – Porto Alegre (RS) – Brasil.

2.Santa Casa de Porto Alegre  – Porto Alegre (RS) – Brasil.

3.University of Minnesota  – Department of Medicine – Minneapolis (MN) – Estados Unidos

*Autor correspondente: pasqualotto@ufcspa.edu.br

Editora de Seção: Ilka de Fátima Santana F. Boin 

Recebido: Out. 28, 2025 | Aprovado: Mar. 9, 2026

RESUMO

Objetivos: A infecção por citomegalovírus (CMV) é uma complicação significativa em receptores de transplante de pulmão. Embora a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) seja recomendada internacionalmente para o monitoramento do CMV, a antigenemia pp65 permanece amplamente utilizada no Brasil devido a restrições econômicas e estruturais no sistema público de saúde. Estabelecer um ponto de corte (*cutoff*) de qPCR validado localmente e alinhado com a prática institucional atual é essencial para apoiar uma transição segura e sustentável para o diagnóstico molecular neste cenário. **Métodos:** Este estudo retrospectivo incluiu 80 receptores adultos de transplante de pulmão na Santa Casa de Porto Alegre, um importante centro de transplantes no sul do Brasil, de abril a dezembro de 2023. Todos os pacientes foram submetidos tanto à antigenemia pp65 quanto ao teste de qPCR. A análise da curva ROC (*receiver operating characteristic*) foi realizada utilizando a antigenemia (> 3 células/100.000 granulócitos) como método de referência para determinar o ponto de corte ideal da qPCR. **Resultados:** A análise ROC identificou um ponto de corte ideal de qPCR de 3,75 log UI/mL (\approx 3.162 UI/mL), com uma área sob a curva de 0,91, sensibilidade de 100% e especificidade de 82,6%. O limiar proposto demonstrou excelente desempenho discriminatório para a detecção de CMV nesta população. **Conclusão:** O ponto de corte definido localmente de 3,75 log UI/mL fornece uma referência objetiva para interpretar os resultados de qPCR em programas brasileiros de transplante de pulmão onde a antigenemia permanece em uso rotineiro. Esses achados oferecem evidências práticas do mundo real para orientar as estratégias institucionais de vigilância do CMV e apoiar a integração gradual e economicamente sustentável do monitoramento molecular no contexto de países em desenvolvimento.

Descritores: Citomegalovírus; Transplante de Pulmão; PCR Quantitativo; Antigenemia; Brasil.

Cytomegalovirus Diagnosis in Lung Transplantation: Validation of a qPCR Cutoff in a Reference Transplant Center in Brazil

ABSTRACT

Objectives: Cytomegalovirus (CMV) infection is a significant complication in lung transplant recipients. Although quantitative polymerase chain reaction (qPCR) is internationally recommended for CMV monitoring, pp65 antigenemia remains widely used in Brazil due to economic and structural constraints within the public healthcare system. Establishing a locally validated qPCR cutoff aligned with current institutional practice is essential to support a safe and sustainable transition to molecular diagnostics in this setting. **Methods:** This retrospective study included 80 adult lung transplant recipients at Santa Casa de Porto Alegre, a major transplant center in southern Brazil, from April to December 2023. All patients underwent both pp65 antigenemia and qPCR testing. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed using antigenemia (> 3 cells/100,000

granulocytes) as the reference method to determine the optimal qPCR cutoff for positivity. Results: ROC analysis identified an optimal qPCR cutoff of 3.75 log IU/mL (\approx 3,162 IU/mL), with an area under the curve of 0.91, 100% sensitivity, and 82.6% specificity. The proposed threshold demonstrated excellent discriminatory performance for CMV detection in this population. Conclusion: The locally defined cutoff of 3.75 log IU/mL provides an objective reference for interpreting qPCR results in Brazilian lung transplant programs where antigenemia remains in use in many centers. These findings offer practical, real-world evidence to guide institutional CMV surveillance strategies and support the gradual and economically sustainable integration of molecular monitoring in low- and middle-income countries.

Descriptors: Cytomegalovirus; Lung Transplantation; Quantitative PCR; Antigenemia; Brazil.

INTRODUÇÃO

A infecção por citomegalovírus (CMV) é uma complicação significativa em pacientes imunocomprometidos, especialmente em receptores de transplante de pulmão.^{1,2} O diagnóstico precoce e preciso é crucial para uma intervenção oportuna.³ Historicamente, a antigenemia pp65 tem sido o padrão diagnóstico, detectando antígenos CMV em leucócitos sanguíneos.⁴ No entanto, esse método está sendo substituído pela reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), que oferece maior sensibilidade e resultados mais rápidos.⁵ Apesar de ser o padrão internacional, a adoção generalizada da qPCR ainda é limitada em muitos países em desenvolvimento devido a restrições financeiras e infraestruturais. Como resultado, a antigenemia pp65 continua em uso rotineiro no Brasil e em outros contextos com recursos limitados, não devido à superior precisão diagnóstica, mas devido aos custos de implementação mais baixos, infraestrutura laboratorial existente e limitações de reembolso dentro do sistema público de saúde. Nesse contexto, a antigenemia representa uma estratégia pragmática e estruturalmente enraizada em programas de transplante que operam sob restrições financeiras. Portanto, estabelecer evidências locais para definir valores de corte confiáveis para qPCR torna-se essencial para orientar a tomada de decisões clínicas e apoiar uma transição gradual e economicamente sustentável para o diagnóstico molecular.

MÉTODOS

Este estudo retrospectivo foi realizado na Santa Casa de Porto Alegre, um dos principais centros de transplantes do sul do Brasil. Receptores adultos de transplante pulmonar (> 18 anos) que passaram por testes de antigenemia CMV durante o período do estudo foram incluídos consecutivamente, especialmente aqueles nos primeiros seis meses após o transplante ou que necessitaram de imunossupressão intensificada. O tempo mediano entre o transplante e a primeira suspeita de infecção foi de 45 dias (intervalo interquartil: 30-60 dias), refletindo o período crítico de risco. A infecção por CMV foi definida como antigenemia > 3 células/100.000 granulócitos, enquanto a doença por CMV exigiu replicação viral e sintomas. A antigenemia foi o teste diagnóstico padrão para infecção por CMV no centro. Para determinar o ponto de corte da qPCR, todos os pacientes incluídos passaram por antigenemia pp65 e qPCR durante o período do estudo.

Procedimentos

Dados clínicos e laboratoriais foram coletados retrospectivamente de prontuários eletrônicos e bancos de dados institucionais de laboratórios. As variáveis incluíram idade, sexo, tipo de transplante, episódios de rejeição aguda, sorostatus doador-receptor do CMV, uso de terapia antiviral e sobrevivência em 90 dias.

A antigenemia pp65 foi realizada usando imunofluorescência indireta (CMV Brite Turbo Kit, IQ Products), com um ponto de corte institucional pré-definido de > 3 células por 100.000 granulócitos considerados positivos. Esse limiar representa a referência padrão para iniciar o manejo clínico no centro de transplantes, local do estudo.

O teste qPCR foi realizado em amostras de sangue total usando controles recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), reagentes xPrimer/probe CMV (ThermoFisher Scientific) e TaqMan™ Comprehensive Microbiota Control (Applied Biosystems). A amplificação foi realizada em um termociclador PCR em tempo real, e os resultados foram validados de acordo com valores de limiar de ciclo e curvas padrão de amplificação. Os valores da carga viral foram inicialmente expressos em cópias/mL e convertidos para IU/mL usando um fator de correção de 1,69 derivado de comparações com o Padrão Internacional da OMS para CMV.

A vigilância do CMV seguiu práticas institucionais adaptadas às realidades logísticas de um centro público brasileiro de transplantes que atende pacientes de múltiplas regiões do país. A prevenção do CMV baseou-se predominantemente em uma estratégia estratificada pelo risco. Profilaxia universal por pelo menos 6 meses foi aplicada a pacientes com desajuste sorológico doador-receptor (D+/R-). Para receptores soropositivos (R+), foi adotada uma estratégia preemptiva, e o monitoramento laboratorial do CMV foi tipicamente realizado semanalmente durante o primeiro mês pós-transplante, quinzenal até 4 meses, bimestral até 1 ano e trimestralmente durante o segundo ano. A terapia antiviral foi iniciada após a detecção de replicação viral significativa segundo critérios institucionais (antigenemia > 3 células por 100.000 granulócitos) ou na presença de doença

sintomática. O ganciclovir intravenoso foi administrado conforme a prática institucional, com dosagem ajustada para função renal e resposta clínica. Em pacientes tratados com uma estratégia preventiva que exigiu imunossupressão aumentada, como a pulsoterapia com corticosteroides, ganciclovir foi administrado por 8 semanas. Broncoscopia de vigilância de rotina não é realizada sistematicamente em nosso centro. Em casos de suspeita invasiva de tecidos, são realizadas avaliações imunohistoquímicas e histológicas a partir de biópsia transbrônquica.

Regimes imunossupressores de manutenção refletiram protocolos institucionais e nacionais, bem como a disponibilidade de medicamentos durante o período do estudo. Embora os regimes baseados em tacrolimus sejam frequentemente preferidos internacionalmente devido à menor incidência de rejeição celular aguda e síndrome da bronquiolite obliterante (SBO), ciclosporina e azatioprina são os principais medicamentos fornecidos pelo sistema de saúde pública brasileiro. Portanto, inicialmente foi preferido um regime baseado em ciclosporina em nosso centro. No entanto, o tacrolimus foi priorizado para pacientes com maior risco imunológico (por exemplo, anticorpos específicos do doador) ou para aqueles que desenvolveram rejeição aguda recorrente ou sinais precoces de SBO. Quanto ao monitoramento terapêutico, durante os primeiros 6 meses após o transplante, os níveis de ciclosporina C0 foram mantidos entre 250-350 ng/mL, com ajustes de dose individualizados conforme o *status* clínico.

Apesar das barreiras geográficas e socioeconômicas, o monitoramento laboratorial do CMV foi consistentemente integrado ao cuidado rotineiro pós-transplante.

Análise estatística

Variáveis qualitativas foram analisadas usando o qui-quadrado ou teste exato de Fisher, enquanto variáveis quantitativas foram comparadas usando o teste *t* de Student ou o teste Mann-Whitney U, conforme apropriado. A regressão logística foi usada para avaliar associações entre variáveis e complicações. A comparação entre qPCR e antigenemia foi realizada usando uma curva de características operacionais do receptor (ROC), considerando a antigenemia > 3 células/100.000 granulócitos como positiva. A antigenemia foi considerada o método de referência segundo a prática institucional durante o período do estudo. As análises foram realizadas usando o *software* SPSS versão 22.0.

Aprovação ética e consentimento para participar

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Porto Alegre (protocolo nº 6.780.371), tendo sido dispensada a obtenção do consentimento informado devido à natureza retrospectiva do estudo, e os dados dos pacientes foram mantidos em anonimato em todos os momentos para garantir a confidencialidade.

RESULTADOS

Durante o período do estudo, 80 receptores de transplante pulmonar foram analisados. As características demográficas e clínicas de base são resumidas na Tabela 1. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (60%), com idade média de 49,0 ± 16,9 anos. O transplante bilateral foi realizado em 73,7% dos casos. Rejeição aguda ocorreu em 35 pacientes (45%), enquanto nenhum caso de rejeição crônica foi registrado.

Tabela 1. Características basais dos receptores de transplante pulmonar (n =80).

Características	
Idade, anos (média ± DP)	49,0 ± 16,9
Sexo masculino, n (%)	48 (60,0)
Características do transplante	
Transplante de pulmão bilateral, n (%)	59 (73,7)
Rejeição aguda, n (%)	35 (45,0)
Rejeição crônica, n (%)	0 (0,0)
CMV serostatus (doador/receptor), n (%)	
D+/R+	37 (46,3)
D-/R+	34 (42,5)
D-/R-	7 (8,8)
D+/R-	2 (2,5)
Doenças subjacentes, n (%)	
Fibrose pulmonar	28 (35,0)
DPOC	25 (31,3)
Fibrose cística	15 (18,8)
Linfangioleiomiomatose	4 (5,0)
Bronquiectasia	4 (5,0)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Características	
Doenças subjacentes, n (%)	
Pneumonia por hipersensibilidade	2 (2,5)
Doença pulmonar intersticial infantil	1 (1,3)
Bronquiolite obliterativa	1 (1,3)
Regimes imunossupressores, n (%)	
Ciclosporina + prednisona + azatioprina	64 (80,0)
Tacrolimus + prednisona + azatioprina	7 (8,8)
Tacrolimus + prednisona + micofenolato	5 (6,3)
Ciclosporina + prednisona + micofenolato	4 (5,0)

Fonte: Elaborada pelos autores. COPD = doença pulmonar obstrutiva crônica; D = doador; R = receptor; DP = desvio-padrão.

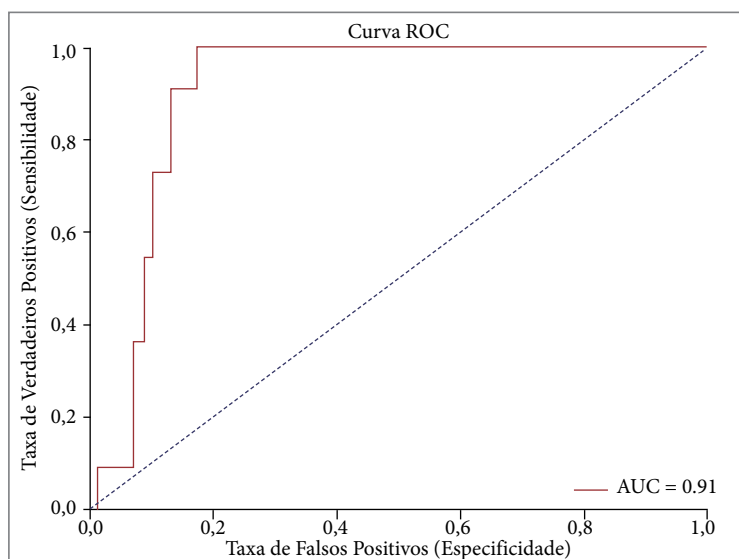
A sorologia pré-transplante mostrou que 90% dos doadores eram positivos para CMV IgG. Quanto ao uso de ganciclovir, 80% dos pacientes estavam sob terapia preventiva, 3,7% receberam para infecção diagnosticada por CMV e 15% estavam sob vigilância sem terapia antiviral. A taxa de sobrevivência em 90 dias foi de 97,5%.

O desempenho diagnóstico da qPCR em comparação com antigenemia é apresentado na Tabela 2. A análise da curva ROC (Fig. 1) identificou um ponto de corte ótimo de qPCR de 3,75 log IU/mL (\approx 3.162 IU/mL ou 5.344,25 cópias/mL) com 100% de sensibilidade e 82,6% de especificidade (área sob a curva [AUC] = 0,91).

Tabela 2. Desempenho diagnóstico da qPCR para detecção de CMV usando a antigenemia pp65 como referência (corte: 3,75 log IU/mL).

Parâmetro	Valor (%)
Sensibilidade	100,00
Especificidade	82,60
Valor preditivo positivo	47,80
Valor preditivo negativo	100,00
AUC	0,91

Fonte: Elaborada pelos autores. A antigenemia pp65 (>3 células/100.000 granulócitos) foi considerada o método de referência.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Figura 1. Curva ROC de qPCR para a detecção de CMV em receptores de transplante pulmonar usando antigenemia pp65 como método de referência (AUC = 0,91).

DISCUSSÃO

Este estudo contribui para o crescente corpo de evidências que apoia a qPCR como uma ferramenta diagnóstica valiosa para infecção por CMV em receptores de transplante, especialmente em transplante pulmonar.^{3,4} Em nossa coorte, a qPCR demonstrou excelente desempenho discriminatório para a detecção do CMV, com uma área sob a curva ROC (AUC) de 0,91 e um corte ótimo de 3,75 log IU/mL. Esses achados apoiam a alta sensibilidade analítica da qPCR para detectar DNA viral circulante e reforçam seu papel nas estratégias de vigilância do CMV.

Embora a antigenemia pp65 tenha sido historicamente amplamente utilizada para monitoramento do CMV, limitações metodológicas importantes devem ser consideradas. A antigenemia depende da detecção de proteínas virais dentro dos leucócitos circulantes, ligando inerentemente seu desempenho diagnóstico à contagem periférica de leucócitos sanguíneos. Em pacientes com leucopenia ou neutropenia, condições comuns entre receptores de transplante pulmonar que recebem terapia imunossupressora ou antiviral intensiva, a sensibilidade à antigenemia pode ser reduzida.^{6,7} Em contraste, ensaios moleculares como a qPCR quantificam o DNA viral circulante e são menos dependentes da contagem de leucócitos, proporcionando desempenho mais consistente em pacientes citopênicos.⁷

Além disso, a antigenemia pode ter sensibilidade reduzida em casos de doença CMV invasiva em tecidos, especialmente envolvimento gastrointestinal, onde a replicação viral pode permanecer predominantemente localizada com disseminação periférica limitada.^{7,8} Nesses cenários, testes baseados em sangue podem subestimar a extensão do envolvimento dos órgãos, e o diagnóstico frequentemente requer confirmação histopatológica. Essas considerações biológicas e técnicas reforçam ainda mais a crescente preferência pelo monitoramento molecular em populações transplantadas.

Apesar dessas limitações, a antigenemia continua em uso em vários ambientes de baixa e média renda devido aos custos diretos mais baixos e à familiaridade estabelecida com laboratórios. Nesse contexto, nossas descobertas são particularmente relevantes. Ao estabelecer um corte de qPCR validado localmente, alinhado com a padronização internacional em IU/mL, este estudo fornece dados objetivos que podem informar protocolos institucionais de monitoramento do CMV em centros de transplante brasileiros, bem como em outros países de baixa e média renda.⁶ Em vez de propor uma transição metodológica abrupta, nossos resultados apoiam a integração gradual de estratégias padronizadas de monitoramento molecular em contextos onde a antigenemia continua a ser empregada.

Em conjunto, nossos dados demonstram a aplicabilidade prática da qPCR em um programa público real de transplante e contribuem com evidências de origem local para um campo amplamente informado por estudos de países de alta renda. Esses achados podem ajudar os centros de transplante a otimizar estratégias de vigilância do CMV de acordo com os recursos disponíveis, mantendo alinhamento com as recomendações internacionais.

Este estudo tem limitações que devem ser consideradas. Foi realizado em um único centro com tamanho de amostra relativamente limitado, o que pode restringir a generalização do corte proposto para outras populações transplantadas. Além disso, a análise focou no desempenho diagnóstico laboratorial e não avaliou desfechos clínicos como gravidade da doença por CMV ou sobrevivência do enxerto. Por fim, a ausência de correlação histopatológica sistemática limita a avaliação abrangente da possível discordância entre ensaios sanguíneos e doenças invasivas de tecidos.

CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que a qPCR apresenta excelente desempenho discriminatório para a detecção de CMV em receptores de transplante pulmonar, com um corte ótimo de 3,75 log IU/mL. Embora o monitoramento molecular seja internacionalmente estabelecido, a antigenemia pp65 continua sendo amplamente utilizada no Brasil devido a restrições econômicas e estruturais dentro do sistema público de saúde. Nesse contexto, o corte validado localmente fornece evidências práticas e reais para apoiar uma transição gradual e economicamente sustentável da antigenemia para o diagnóstico molecular padronizado em centros de transplante brasileiros. Em vez de propor uma substituição abrupta, nossos achados contribuem com dados objetivos para orientar os protocolos institucionais em sistemas de saúde de renda média, onde a modernização deve estar alinhada com a viabilidade financeira. Estudos adicionais avaliando desfechos clínicos e custo-efetividade são necessários para otimizar as estratégias de vigilância do CMV no Brasil e em contextos comparáveis.

CONFLITOS DE INTERESSE

O autor A.C. Pasqualotto recebeu bolsas de pesquisa da Gilead, Pfizer, MSD, Mundipharma, IMMY e MiraVista. Ele já prestou consultoria e/ou ministrou palestras remuneradas em nome da Gilead, Knight (United Medical), Pfizer, MSD, PAHO, IMMY, Mundipharma, Sandoz, bioMérieux, Teva, Sanofi, Astra-Zeneca e Astellas Pharma. Todos os outros autores declaram não haver conflitos de interesse.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Contribuições científicas e intelectuais substantivas para o estudo: Pasqualotto AC, Nascimento DZ. **Concepção e design:** Pasqualotto AC. **Análise e interpretação de dados:** Castelo ACG, Barbosa LMO, Nascimento DZ, Pinheiro CB. **Redação do artigo:** Castelo ACG, Barbosa LMO, Pinheiro CB, Nascimento DZ e Pasqualotto AC. **Revisão crítica:** Nascimento DZ e Pasqualotto AC. **Aprovação final:** Pasqualotto AC.

DISPONIBILIDADE DE DADOS DE PESQUISA

Todos os dados gerados ou analisados durante este estudo estão incluídos neste artigo publicado.

FINANCIAMENTO

Não aplicável.

DECLARAÇÃO DE USO DE FERRAMENTAS DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Ferramentas de inteligência artificial foram utilizadas apenas para revisão linguística.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Santa Casa de Porto Alegre e a toda sua equipe pelo apoio e colaboração no desenvolvimento deste estudo. Também agradecemos a todos os profissionais envolvidos que contribuíram para as validações laboratoriais e a análise dos dados clínicos.

REFERÊNCIAS

1. He X, Dai HP, Chen QR, Miao JB, Sun B, Bao N, et al. Pneumonia relevant to lung transplantation and pathogen distribution. *Chin Med J*. 2013 [acessado em 2026 Março 13]; 126(17): 3209-14. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20143052317>
2. Mendrone Junior A. Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 2010 Feb; 32(1): 7-8. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010000100004>
3. Kotton CN, Bohl DL, Akins R. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*, 2018; 102: 900-31. <https://doi.org/10.1097/tp.0000000000002191>
4. Guiver M, Raposa AJ, Carneiro K, Mogulkoc N, Egan J. Evaluation of CMV viral load using quantitative CMV TaqMan™ PCR and comparison with CMV antigenemia in heart and lung transplant recipients. *Transplantation*, 2001; 71(11): 1609-15. <https://doi.org/10.1097/00007890-200106150-00021>
5. Görzer I, Kundi M, Zoufaly A, Jaksch P, Klepetko W, Puchhammer-Stöckl E. A prospective study comparing antigenemia, DNAemia, and RNAemia of cytomegalovirus for guiding preemptive therapy in thoracic organ transplant recipients. *Transpl Int*, 2006; 19(4): 308-15. <https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2005.00226.x>
6. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, Josephson F, Lundgren J, Nichols G, et al. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials. *Transplantation*, 2017; 101(6): e194-205. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw668>
7. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*, 2013; 26(4): 703-27. <https://doi.org/10.1128/CMR.00015-13>
8. Eid AJ, Arthurs SK, Deziel PJ, Wilhelm MP, Razonable RR. Clinical predictors of relapse after treatment of primary gastrointestinal cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*, 2010; 51(2): 189-95. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02861.x>